



# CITOGENÉTICA HUMANA

excelência desde 1956



# THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

By JOE HIN TJIO and ALBERT LEVAN

ESTACION EXPERIMENTAL DE ACLA DEL, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN

WHILE staying last summer at the Sloan-Kettering Institute, New York, one of us tried out some modifications of HSU's technique (1952) on various human tissue cultures carried in serial *in vitro* cultivation at that institute. The results were promising inasmuch as some fairly satisfactory chromosome analyses were obtained in cultures both of tissues of normal origin and of tumours (LEVAN, 1956).

Later on both authors, working in cooperation at Lund, have tried still further to improve the technique. We had access to tissue cultures of human embryonic lung fibroblasts, grown in bovine amniotic fluid; these were very kindly supplied to us by Dr. RUNE GRUBB of the Virus Laboratory, Institute of Bacteriology, Lund. All cultures were primary explants taken from human embryos obtained after legal abortions. The embryos were 10–25 cm in length. The chromosomes were studied a few days after the *in vitro* explantation had been made.

In our opinion the hypotonic pre-treatment introduced by HSU, although a very significant improvement especially for spreading the chromosomes, has a tendency to make the chromosome outlines somewhat blurred and vague. We consequently tried to abbreviate the hypotonic treatment to a minimum, hoping to induce the scattering of the chromosomes without unfavourable effects on the chromosome surface. Pre-treatment with hypotonic solution for only one or two minutes gave good results. In addition, we gave a colchicine dose to the culture medium 12–20 hours before fixation, making the medium  $50 \times 10^{-7}$  mol/l for the drug. The colchicine effected a considerable accumulation of mitoses and a varying degree of chromosome contraction. Fixation followed in 60% acetic acid, twice exchanged in order to wash out the salts left from the culture medium and from the hypotonic solution that would otherwise have caused precipitation with the orcein. Ordinary squash preparations were made in 1% acetic orcein. For chromosome counts the squashing was made very mild in order to keep the chromosomes in the metaphase groups. For idiogram studies a more thorough squashing was preferable. In many cases single cells were squashed



Fig. 2. Four idiogram analyses of human embryonic lung fibroblasts grown *in vitro*. The chromosomes have been grouped in three classes: M (top row), S (bottom row), and T (in between, except in *b*, where T is at the end of the S row). Within each class the chromosomes have been roughly arranged in diminishing order of size. —  $\times 2400$ .

# Nomenclatura Citogenética

Conferência de Denver em 1960

Conferência de Londres: grupos

Conferência de Chicago: form. curta

Conferência de Paris\* em 1971

24 pares e rearranjos estruturais

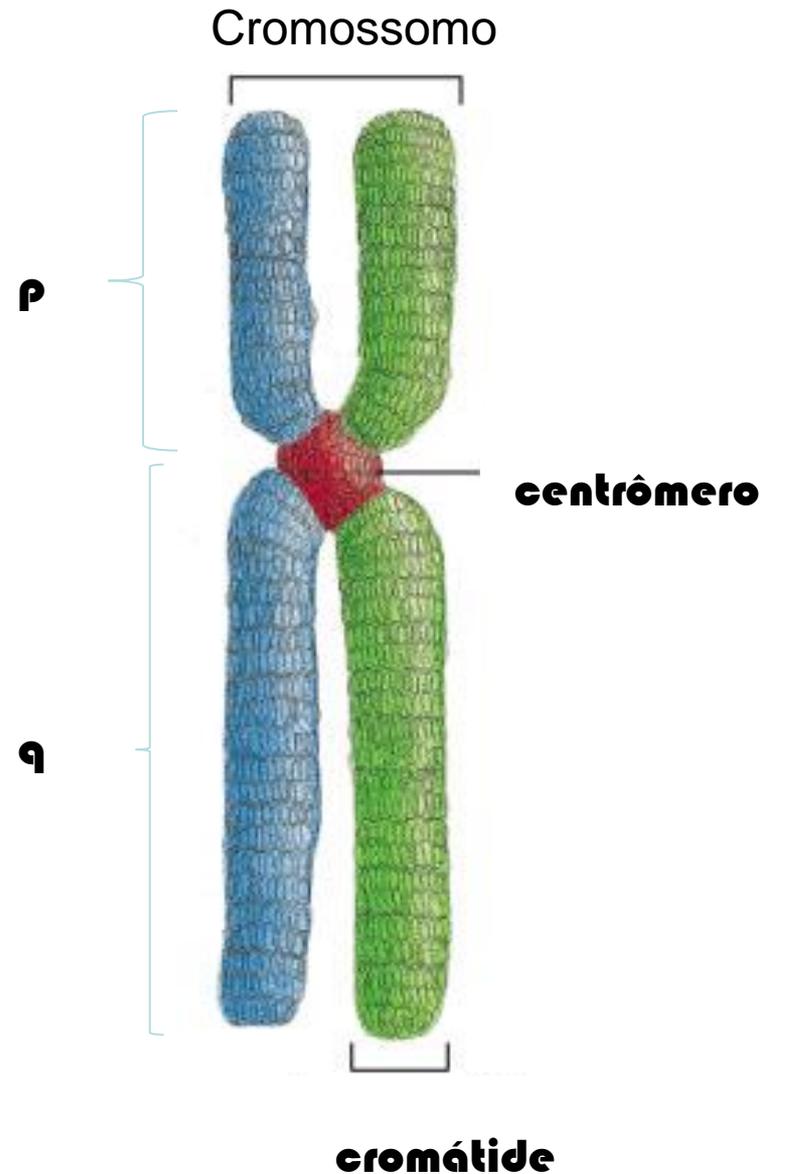
ISCN: 1978 – 1981 – 1985

ISCN 1995: FISH + cancer

ISCN 2005\*: resolução 300-700 bandas

FISH; CGH

**ISCN 2009: aCGH e citogenômica**

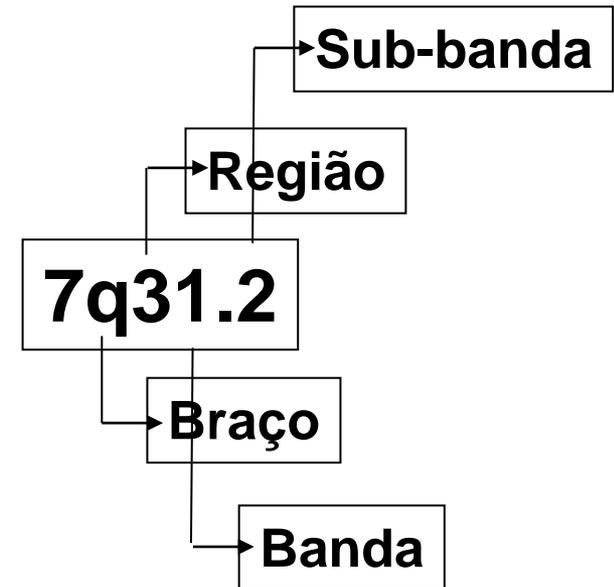
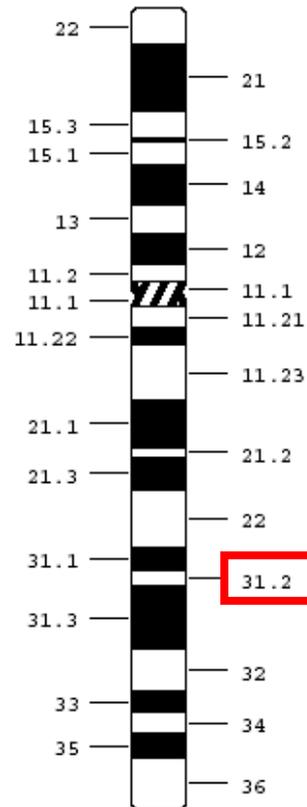


# Citogenética Clássica

*Nomenclatura ISCN*

CHROMOSOME 7

550

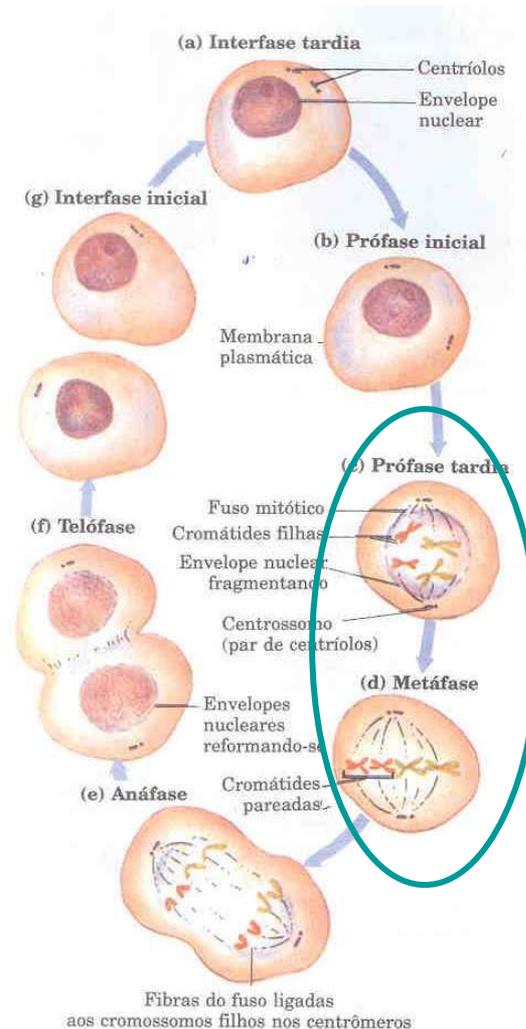


# AMOSTRAS para Análise Cromossômica

1. Sangue Periférico \*\*\*
2. Medula Óssea : Neoplasias Hematológicas
3. Fragmento de Pele : Fibroblastos
4. Líquido Amniótico : Amniócitos
5. Vilosidade Coriônica
6. Tumores
7. Outros tecidos

# Diagnóstico de Cromossomopatias

## Análise Citogenética



Cariótipo de Sangue Periférico





# Citogenética Clássica

- **Cultura Temporária (Medula óssea e Sangue periférico)**
  - Direta (Medula óssea);
  - 24 horas (Medula óssea);
  - 48 horas (Medula óssea e sangue periférico);
  - 72 horas (Sangue periférico).
- **Cultura de tumores sólidos**
  - Tempo de cultura variável.
- **Bandamento GTG (G-bands by Trypsin using Giemsa);**
- **Análise**
  - Resolução 400 bandas = CARIÓTIPO

# Técnicas de Citogenética clássica

Metáfase corada por Giemsa



Bandamento GTG



Bandamento CBG



Bandamento NOR



# Técnicas de Bandamento Cromossômico

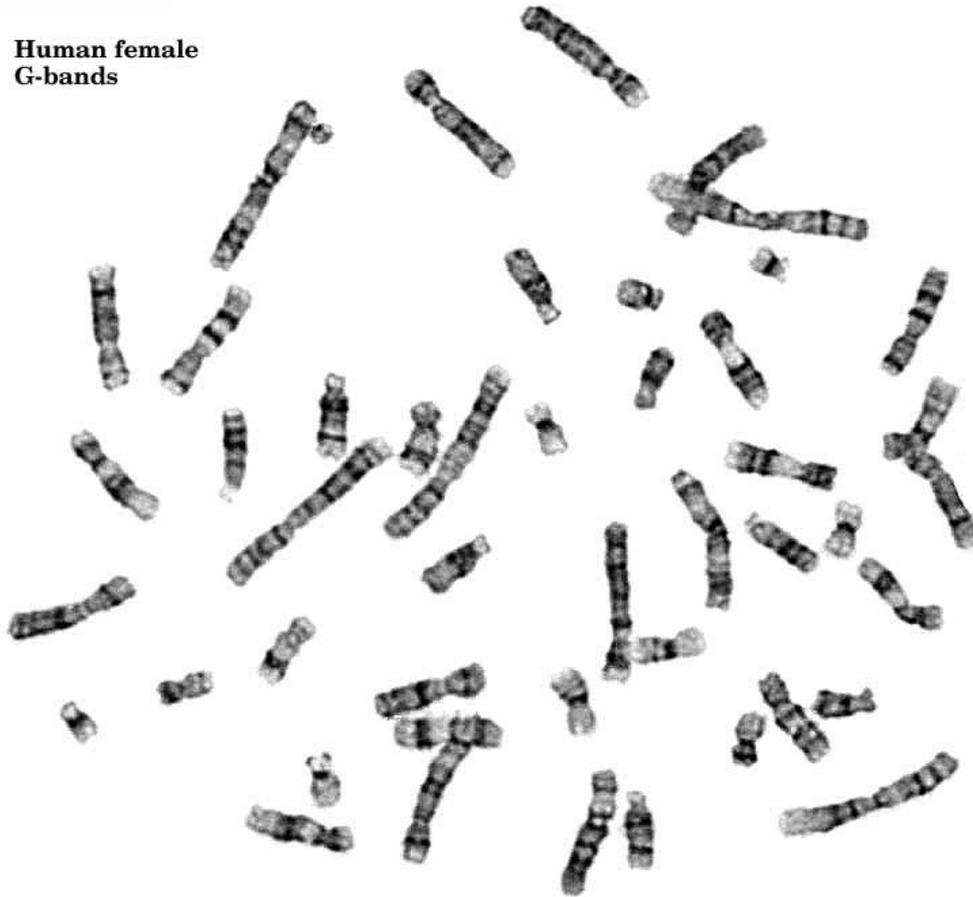
- **GTG** → Alterações Numéricas e Estruturais
- **CBG** → Centrômeros e Heterocromatina (1q;9q;16q;Y)
- **NOR** → Cromossomos acrocêntricos  
13, 14, 15, 21,22

Padrão de Bandas de Alta Resolução : Pró metáfase.

De 550 a 850 bandas

# ***Bandas G***

**Human female  
G-bands**



# Ideograma

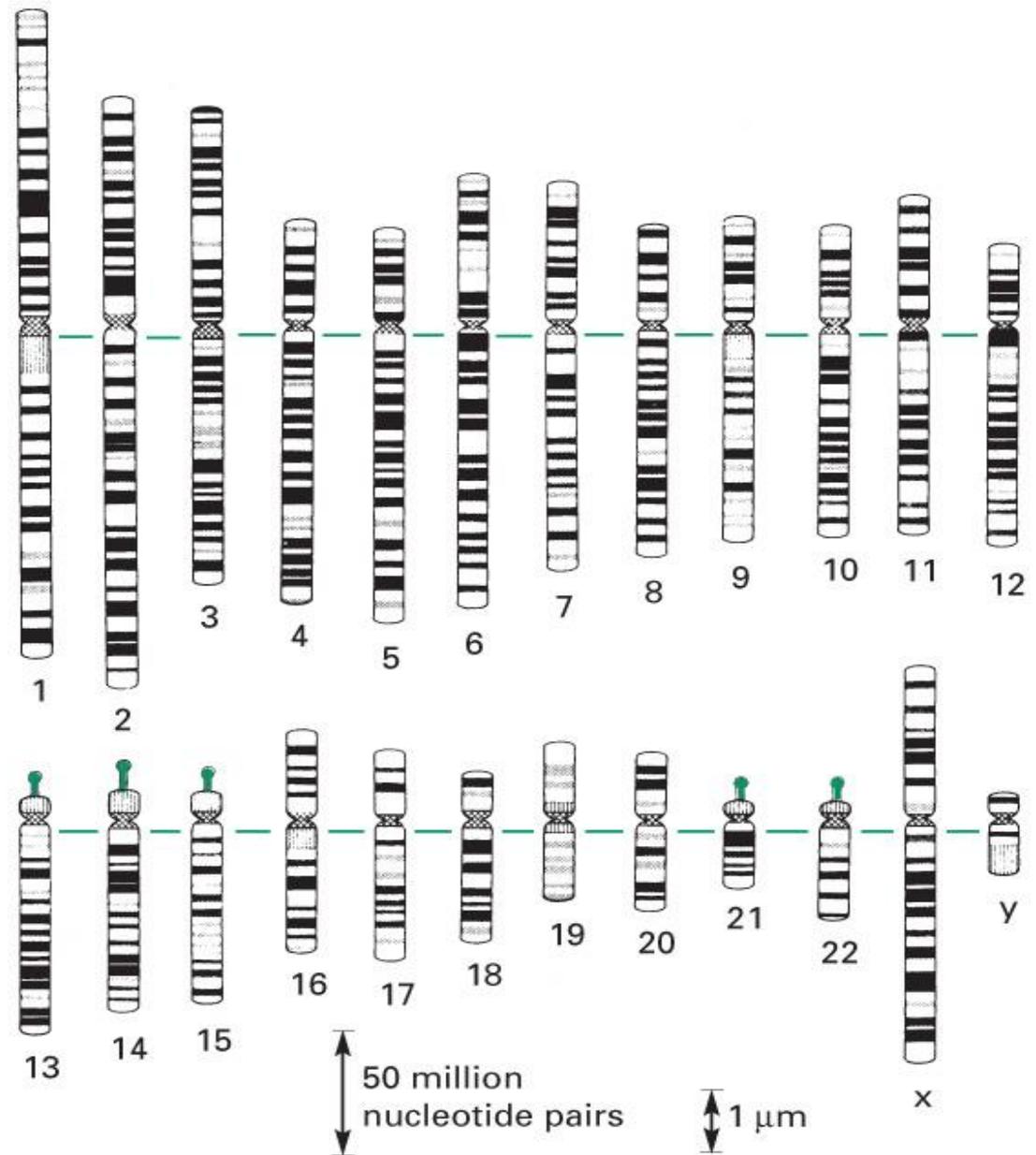
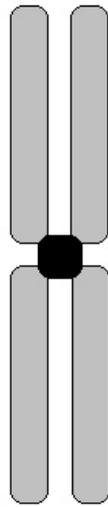


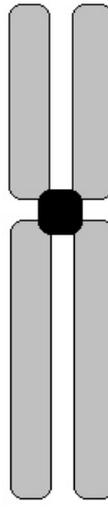
Figure 4-

lar Biology of the Cell, 4th Edition.

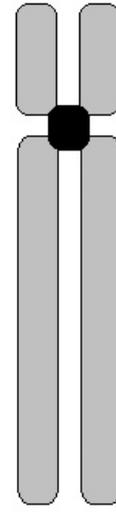
# Cariótipo: Montando e Classificando os Cromossomos



METACENTRIC

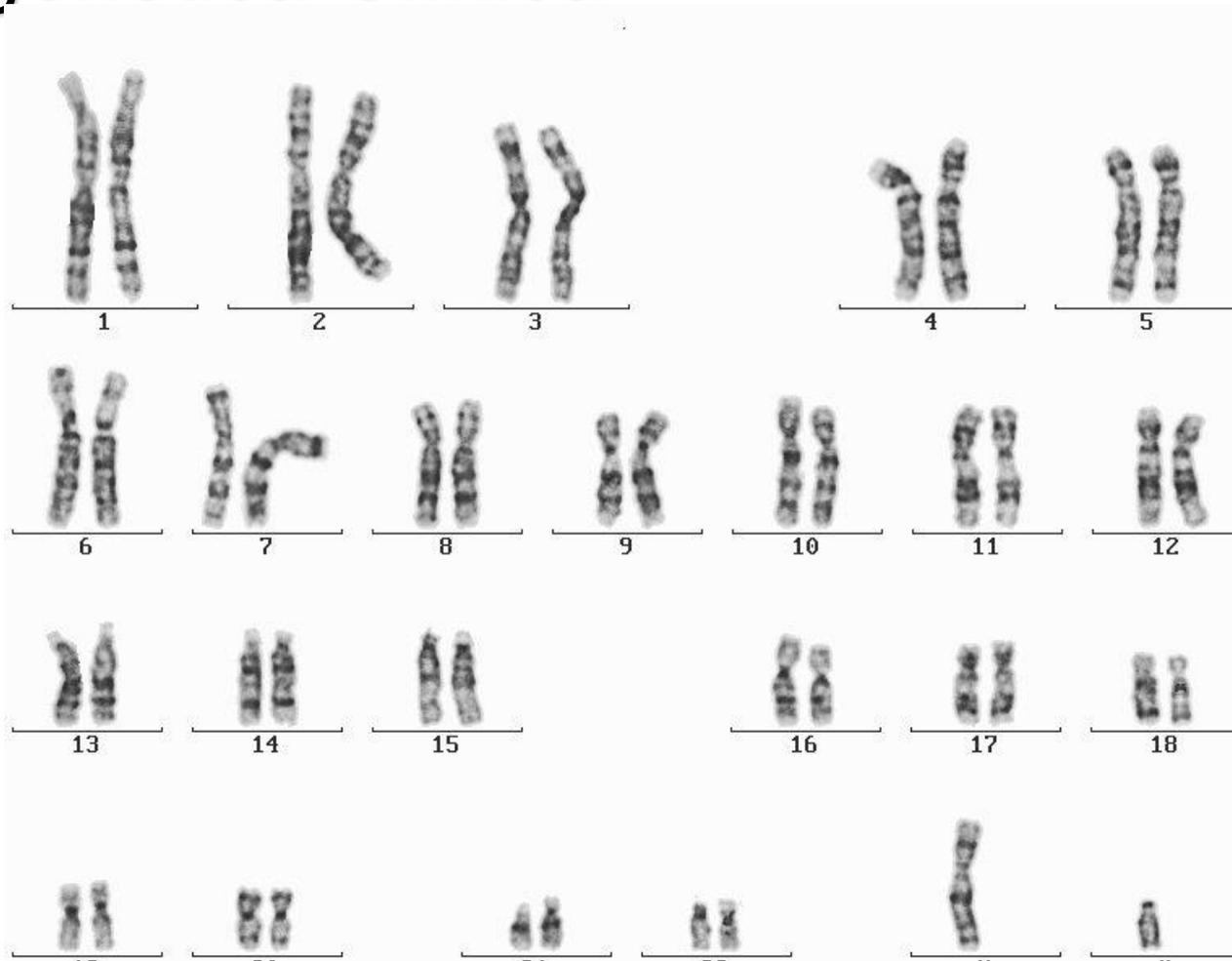


SUBMETACENTRIC



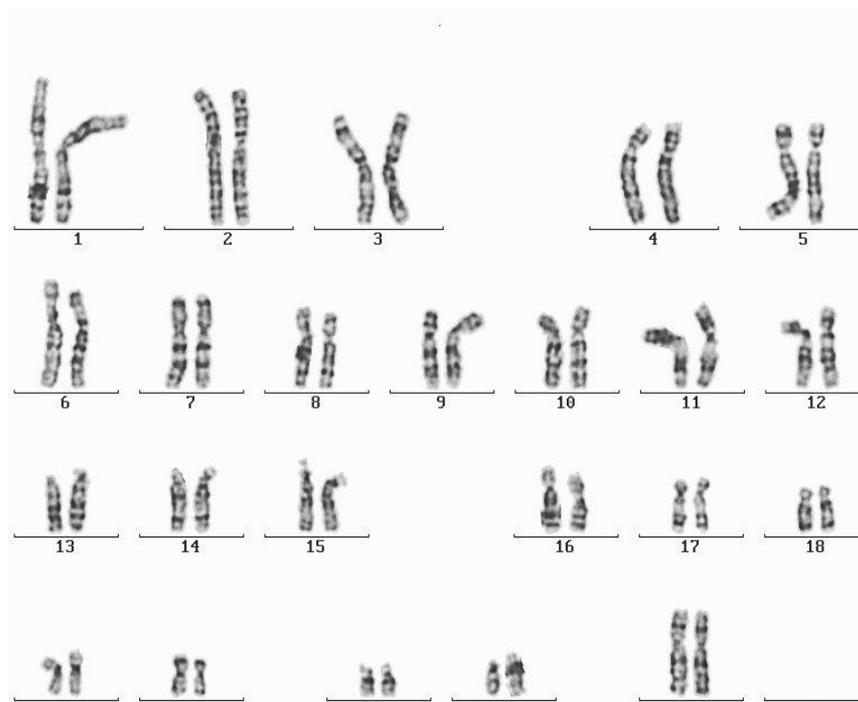
ACROCENTRIC

# Citogenética Clínica



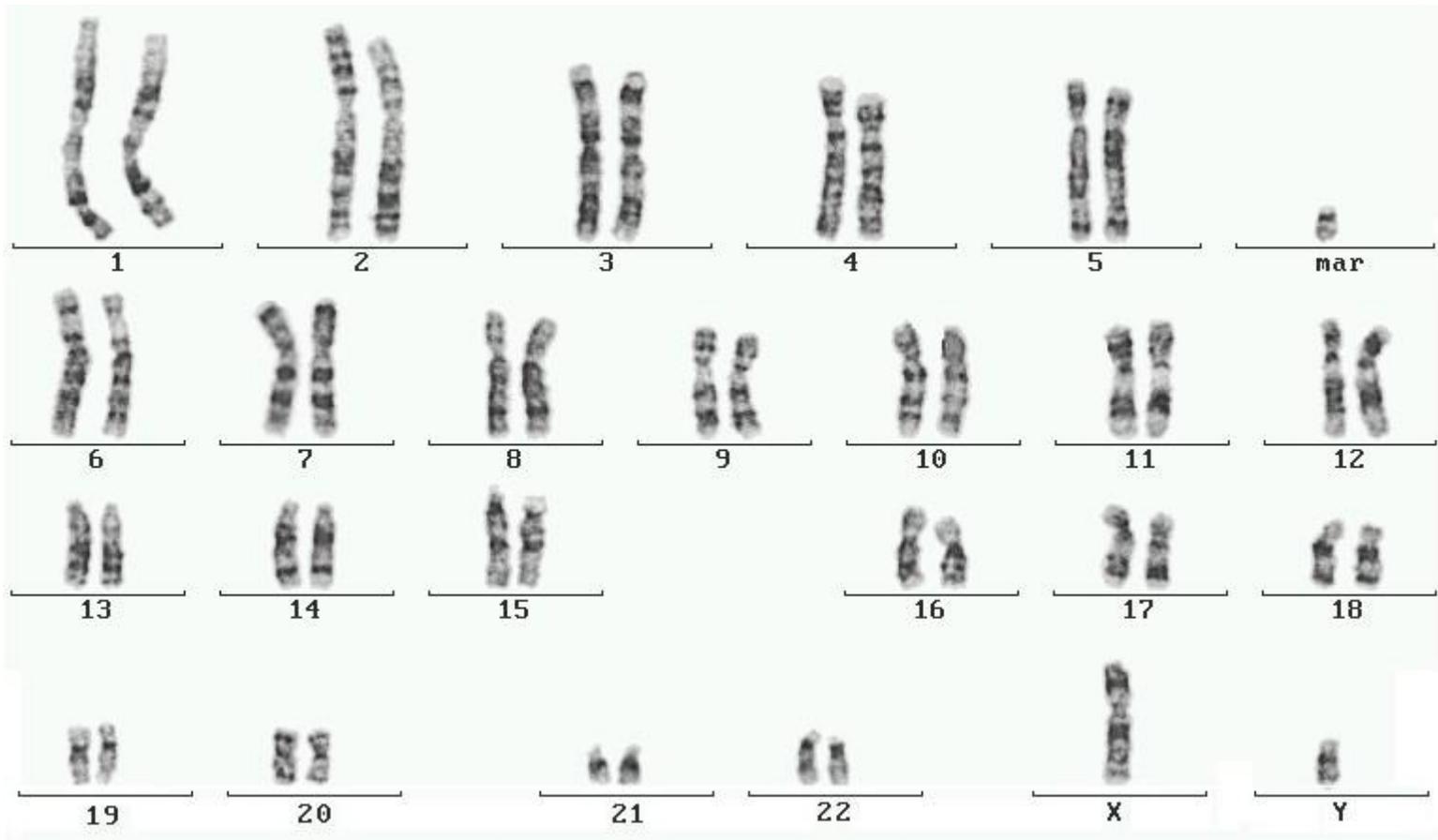
**Bandamento GTG:** Cariótipo de homem normal 46, XY.  
Banco de dados do Departamento de Genética da FMRP - USP

# Citogenética Clínica

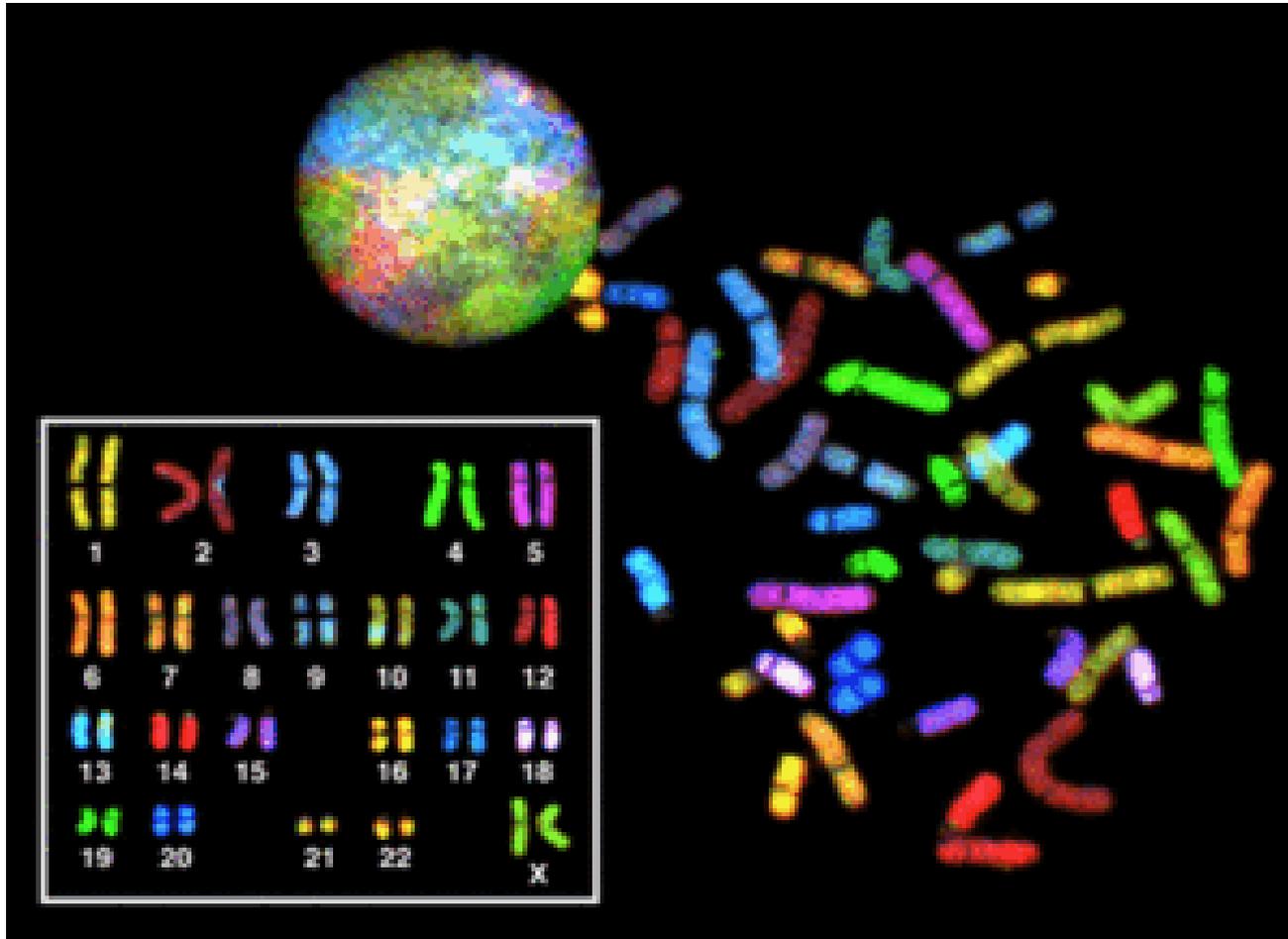


**Bandamento GTG:** Cariótipo de mulher normal 46, XX.  
Banco de dados do Departamento de Genética da FMRP - USP

# Cariótipo 47,XY,+mar



# Citogenética Molecular

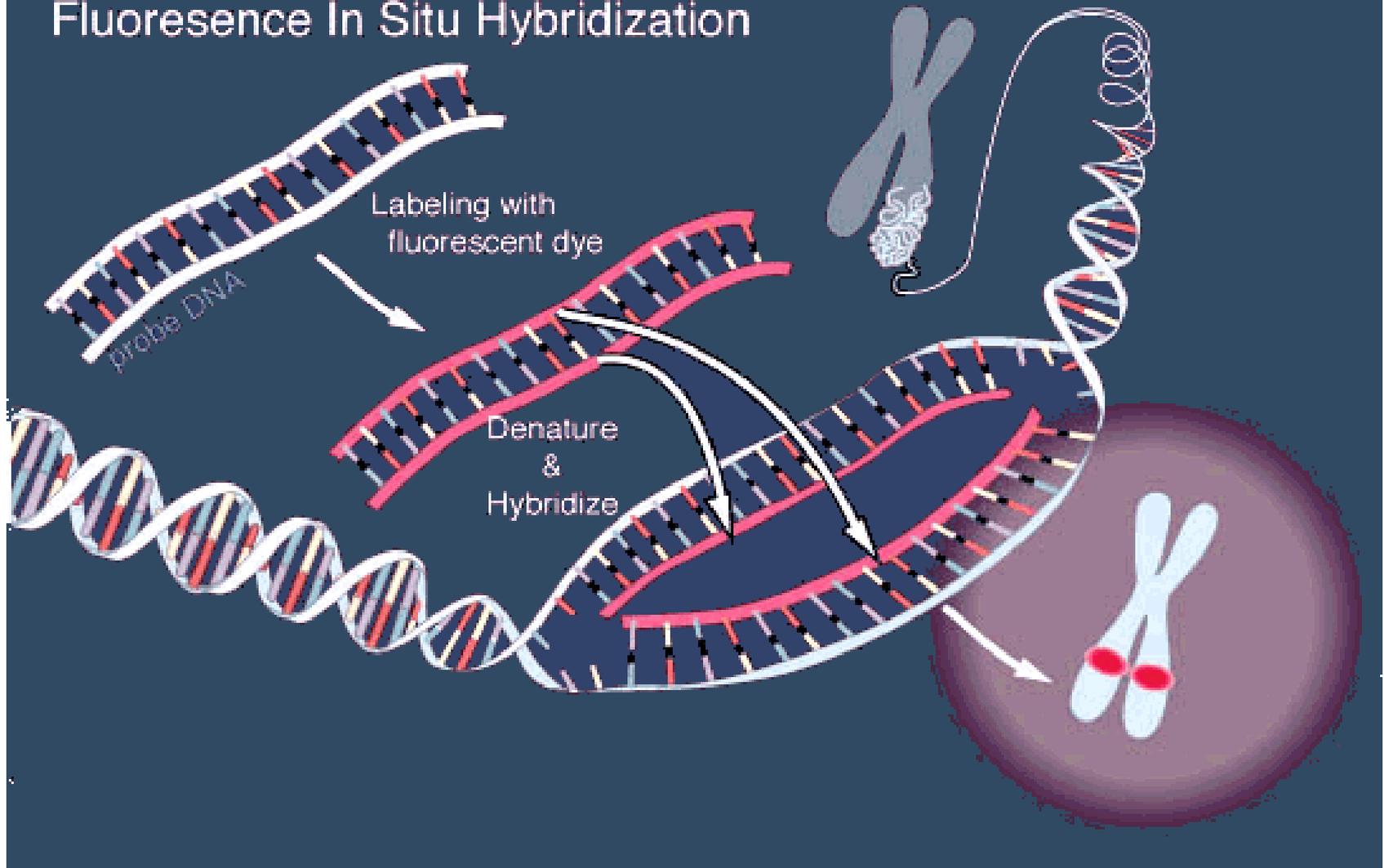


# Citogenética Molecular

## I. FISH

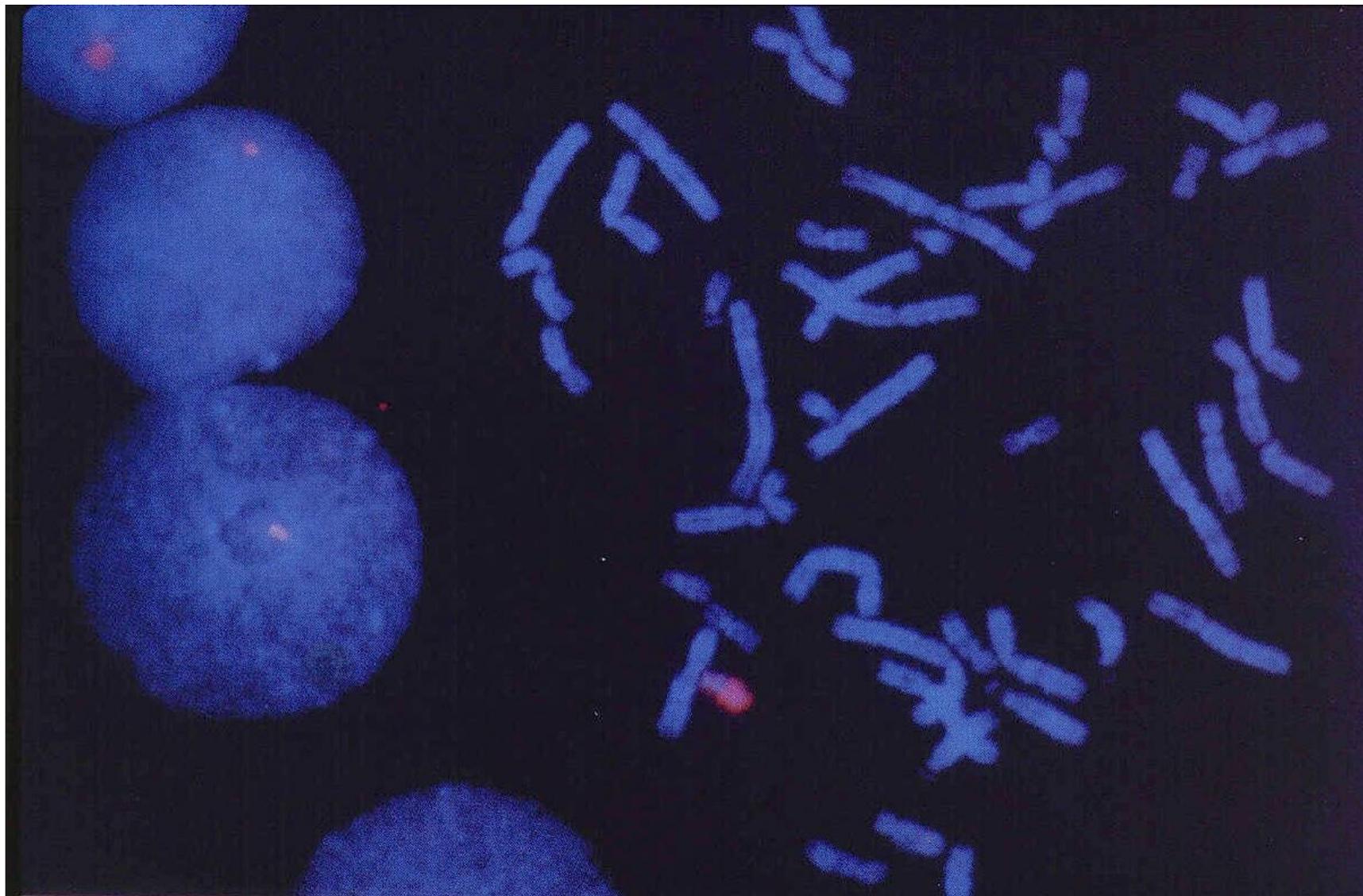
- **FISH (Fluorescence *in situ* hybridization):**
  - **Determinar/Validar a presença ou ausência de seqüências específicas de DNA ou RNA;**
  - **Confirmar alterações cromossômicas observadas pela citogenética clássica, citogenética molecular e citogenômica ;**
  - **Detectar alterações crípticas e submicroscópicas.**
- **Condições básicas:**
  - **Especificidade da sonda pela região de interesse;**
  - **Marcação fluorescente da sonda que permita a detecção;**
  - **Qualidade de preservação do material biológico.**

# Fluorescence In Situ Hybridization



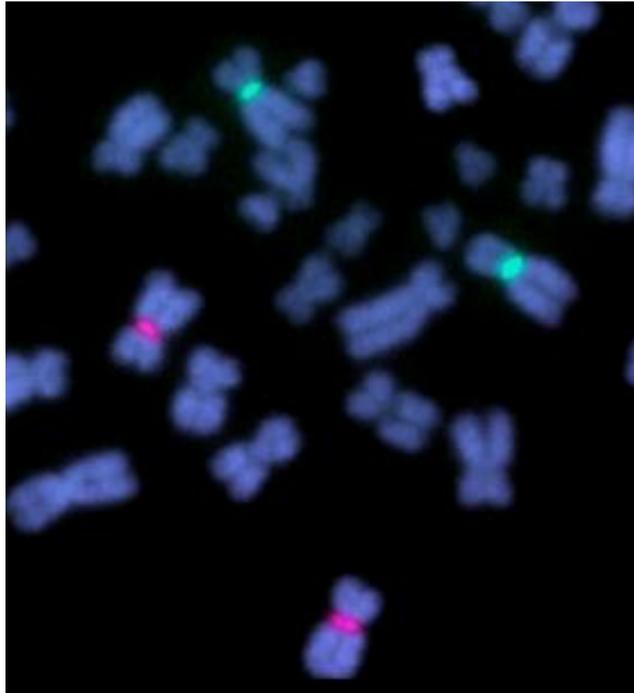
**FISH**

**Sonda Yq marcada com biotina**

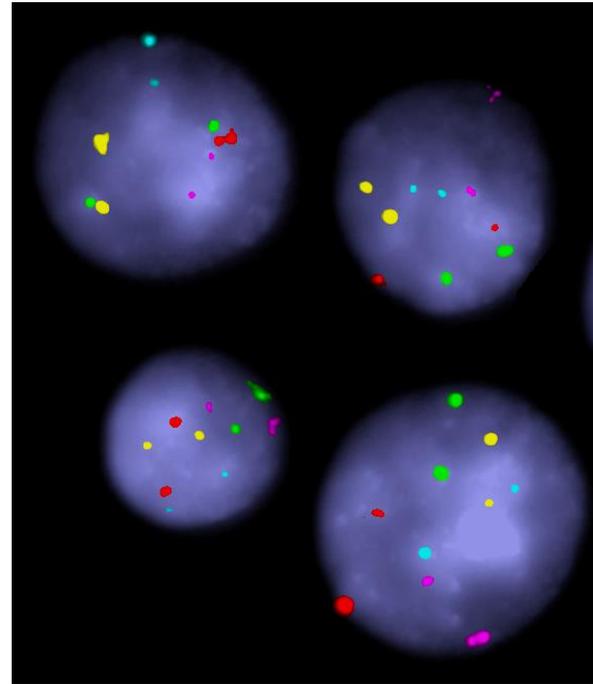


# Fluorescence *in situ* hybridization - FISH

## Sondas centroméricas

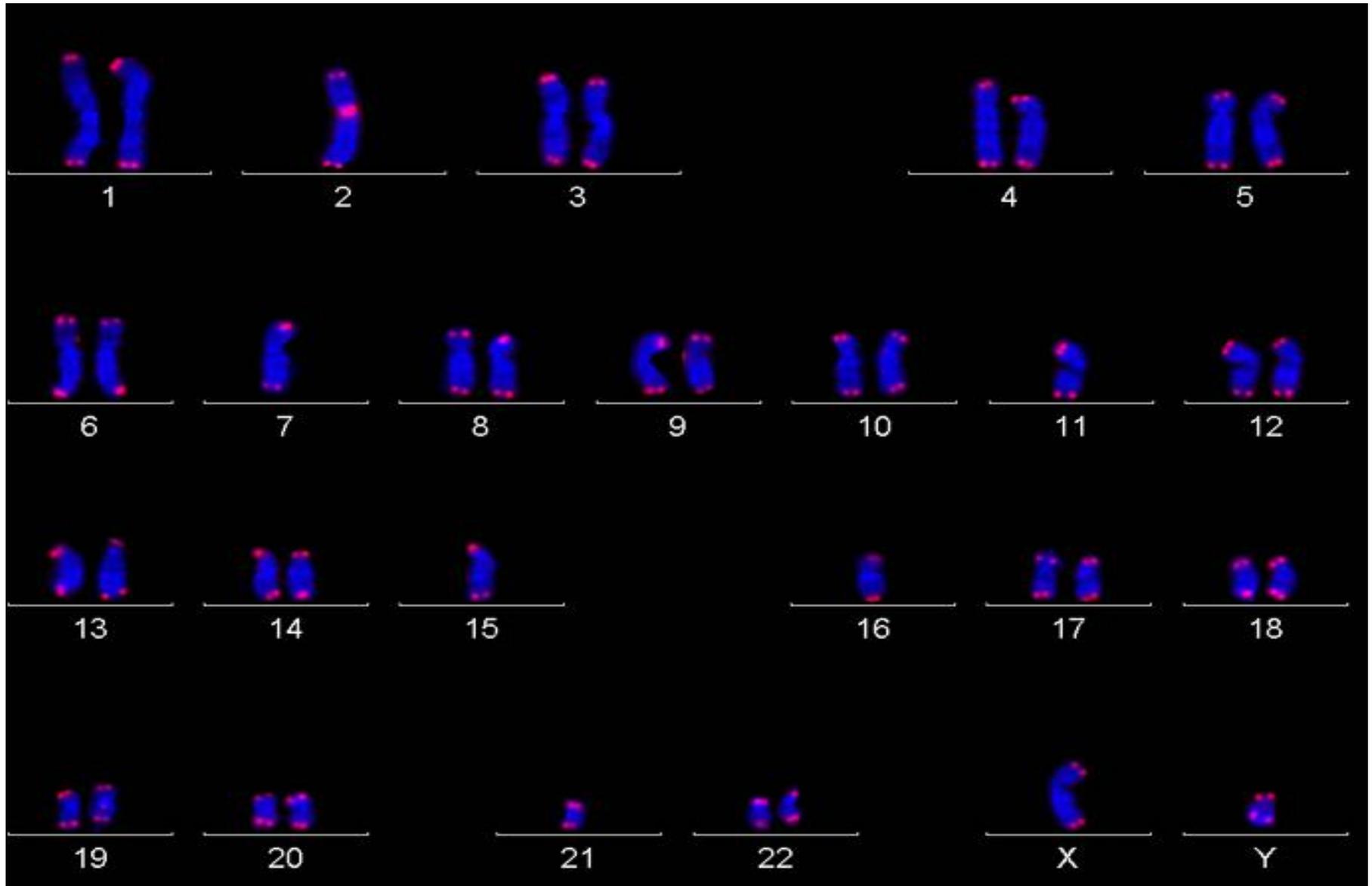


Marcação diferencial dos centrômeros dos cromossomos 6 (verde) e 7 (vermelho)



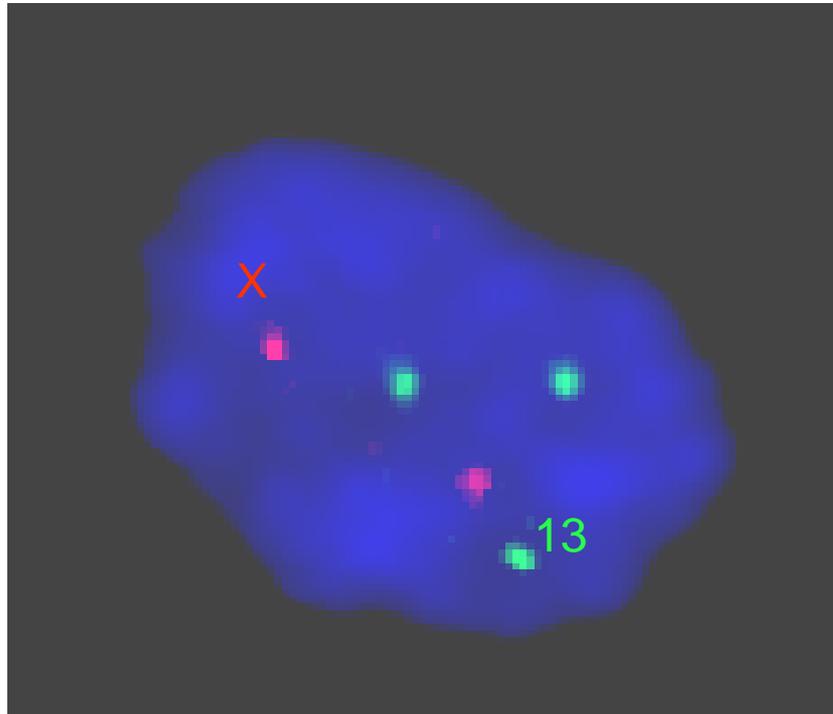
5 diferentes sondas centroméricas específicas hibridadas em núcleo interfásico.

# Sondas teloméricas



# Fluorescence in situ hybridization – FISH

## Citogenética Interfásica

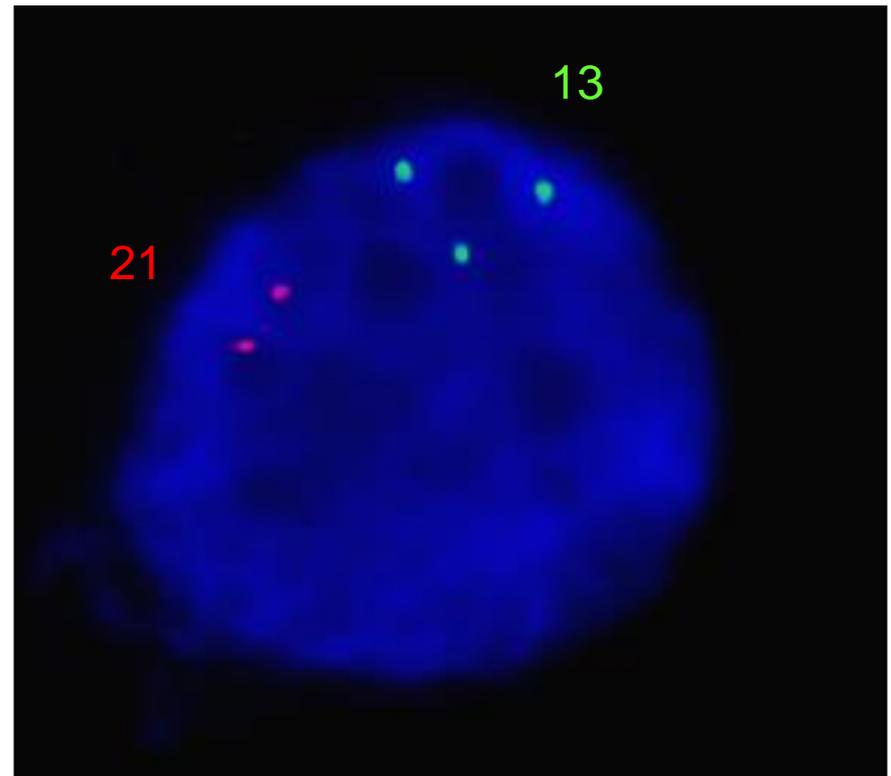
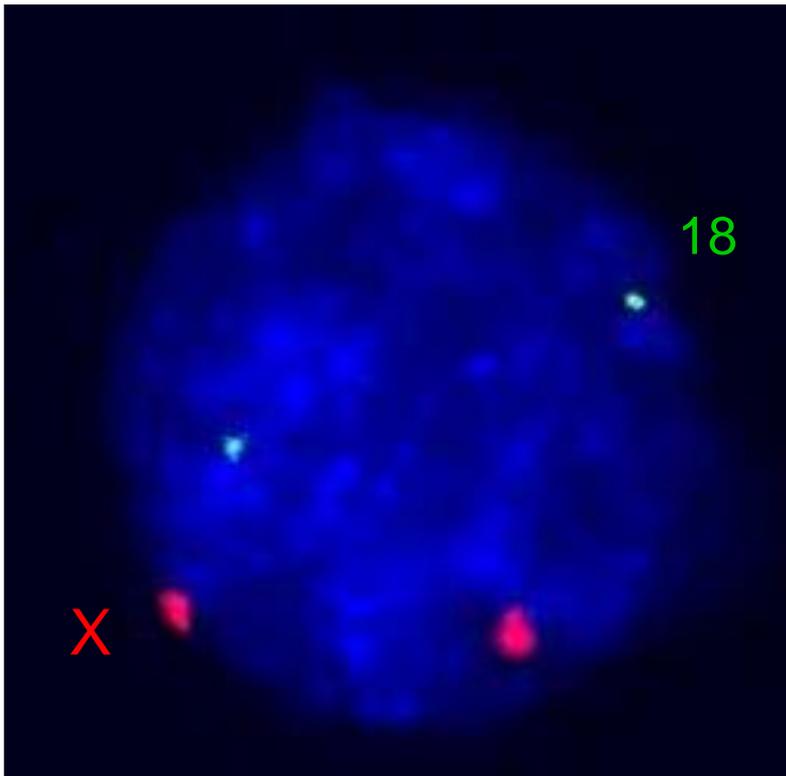


Síndrome de Edwards

Trissomia 13

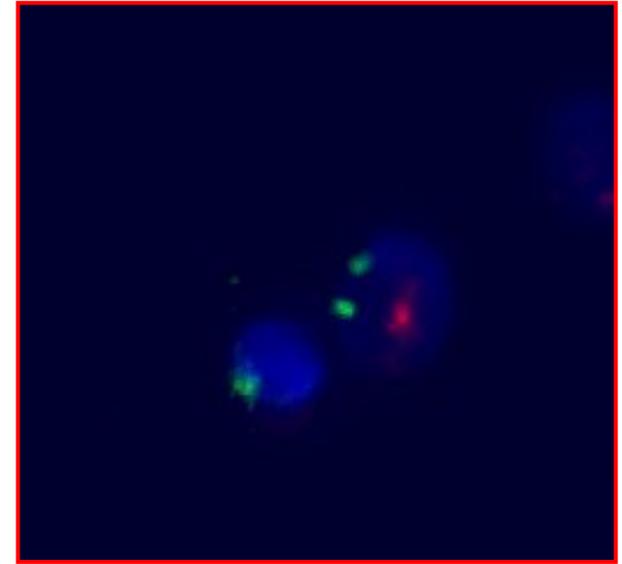
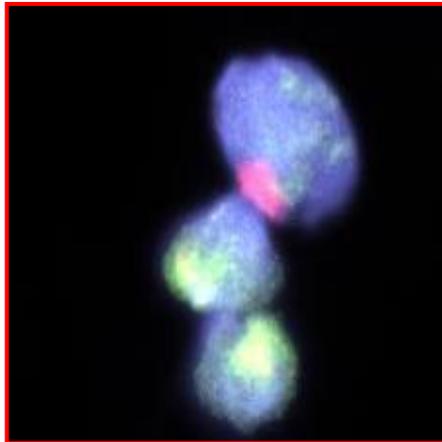
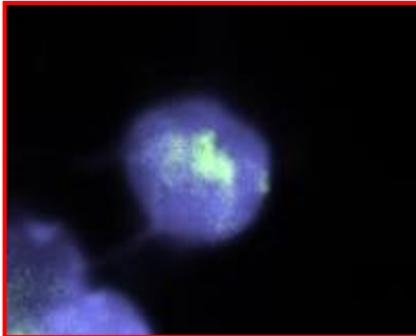
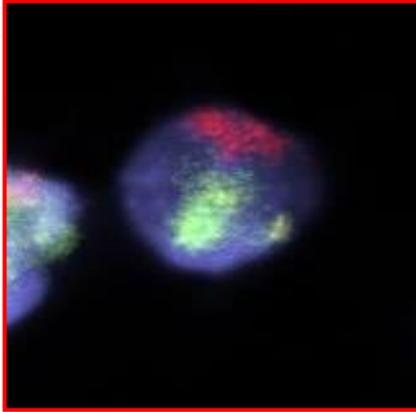
Feto do sexo feminino

# FISH em Blastômero para Diagnóstico Pré Implantacional



# FISH com sondas dos cromossomos 13 e 14

WCP

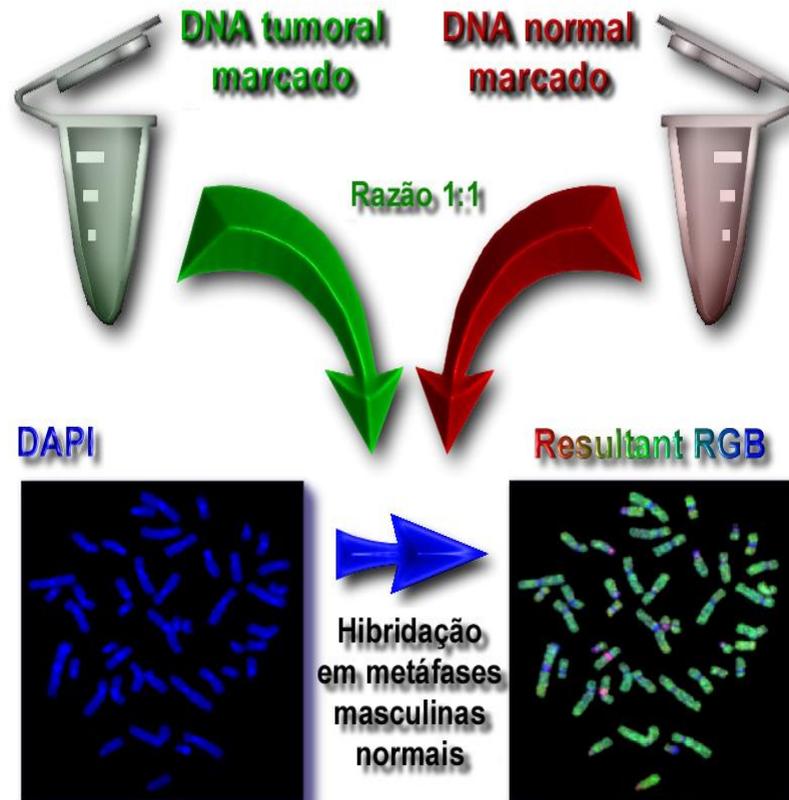


LSI

# Citogenética Molecular

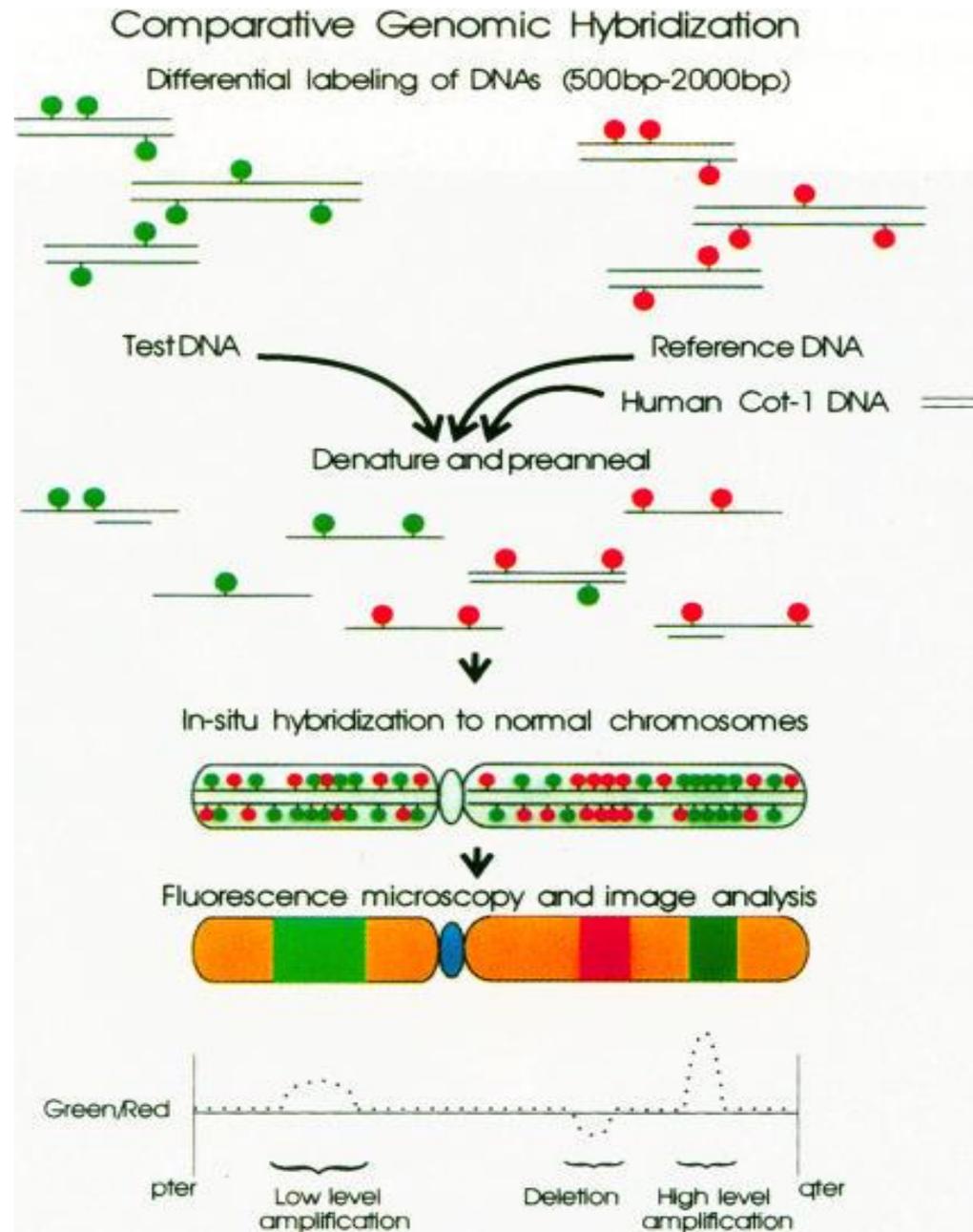
## II. CGH (Comparative Genomic Hybridization)

DNA teste hibridado com DNA de referência normal em uma cél.metafásica

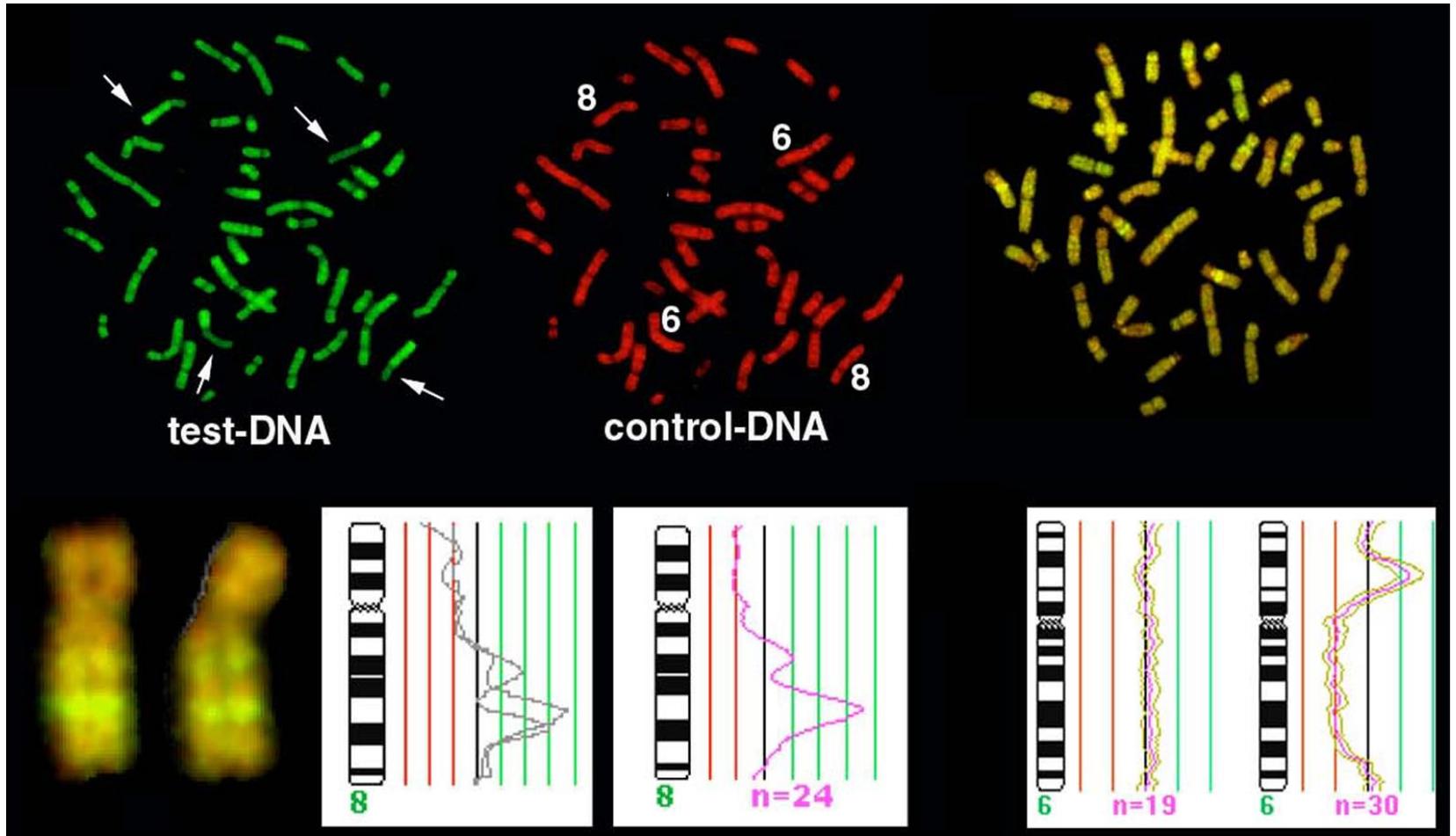


# CGH

## Metafásica



# CGH Metafásica (Comparative Genomic Hybridization)



# Aplicações da técnica de CGH

- **Determinação de regiões de perda e/ou ganho de material genético**
  - **Tecido fresco;**
  - **Tecido arquivado em parafina.**
- **Identificação de pequenos marcadores;**

# **CITOGENÉTICA MÉDICA**

# CITOGENÉTICA MÉDICA

- Estudo dos cromossomos, sua estrutura e herança, aplicado à prática da genética médica.

Mecanismos responsáveis por *fenótipo anormal*:

- (a) Efeito de dose, por falta (deleção) ou excesso (duplicação) de material cromossômico;
- (b) Efeito direto da aberração, com disrupção de um ou mais genes no ponto de quebra de um rearranjo;
- (3) Efeito causado por origem parental de um cromossomo ou segmento cromossômico, caracterizando o *imprinting* genômico;
- (4) Efeito de posição, relacionado à função inadequada de um gene.

# Principais INDICAÇÕES para CARIÓTIPO

## 1. Alterações de Crescimento e Desenvolvimento:

Atraso no DNPM

Facies dismórfica

Malformações

Baixa Estatura

Deficiência Mental

Genitália Ambigua

# INDICAÇÕES para CARIÓTIPO

2. Natimortos e Óbito neonatal
3. Infertilidade ou Abortos Recorrentes
4. Neoplasia (cariótipo de tecidos)
5. História Familiar Positiva de Cromossomopatia
6. Gestação em mulher com idade elevada (>35anos)

# Protocolos

# Citogenética Clínica

## 1. Exclusão de Mosaicismo

Sangue periférico: análise de 100 metáfases, nível de 3% (cl=95%).

ID: S.Turner, S. Klinefelter; genitália ambígua, infertilidade(??)

## 2. Cromossomo Marcador/Anel:

GTG; 100 células; cariótipo parental; CBG; Ag-NOR; SKY; FISH.

## 3. Heteromorfismos Cromossômicos:

Cariótipo dos pais; CBG; AR (inv); FISH (CEP).

## 4. X-Frágil

DM ligada ao X: cariótipo 46,Y,fra(X)(q27.3)

# CITOGENÉTICA CLÁSSICA CITOGENÉTICA MOLECULAR CITOGENÔMICA

RESOLUÇÃO na citogenética contemporânea:

Bandeamento cromossômico de 5 a 8Mb

Técnica de FISH pode atingir 0,5kb

SKY entre 2-3Mb

CGH varia entre 3-10Mb

*arrays*-CGH de 1 kb a 1 Mb.

# **Cromossomopatias**

---

**Doenças Humanas Causadas  
por Alterações  
Cromossômicas**

# Importância/Relevância

<b>Cariótipo anormal</b>	<b>Abortos de 1º Trimestre</b>	<b>Fetos de mães &gt; 35 anos</b>	<b>Nativos</b>
Incidência total	1/2	1/50	1/160
Percentagem das anormalidades			
Numéricas	96%	85%	60%
Estruturais Balanceadas	-	10%	30%
Estruturais não balanceadas	4%	5%	10%

# Classificação

## □ Anomalias Numéricas

- **Euploidias**
  - **Triploidias**
  - **Tetraploidias**
- **Aneuploidias**
  - **Tetrassomias**
  - **Trissomias**
  - **Monossomias**

## □ Anomalias Estruturais

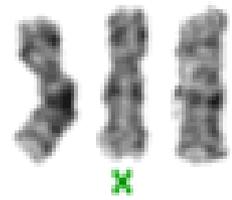
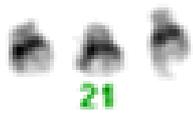
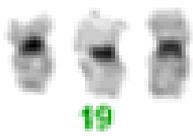
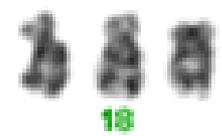
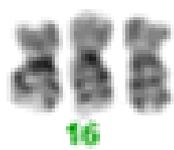
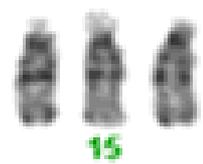
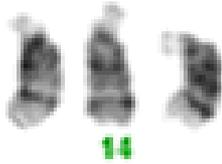
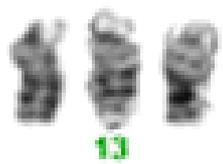
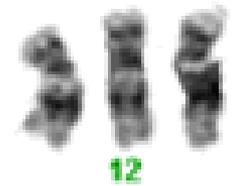
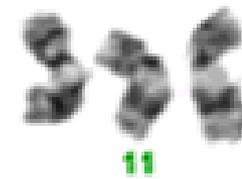
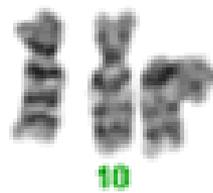
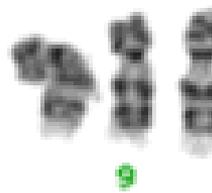
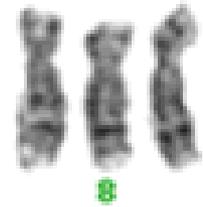
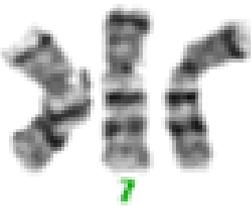
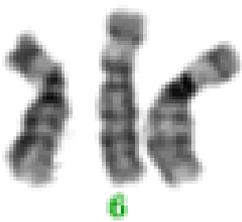
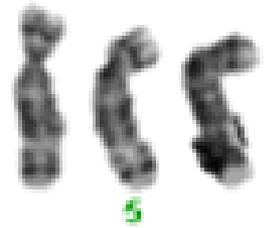
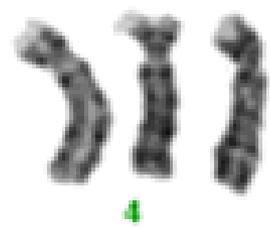
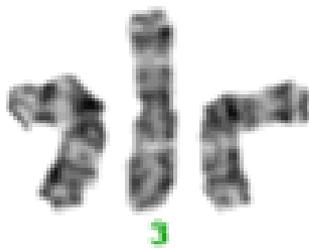
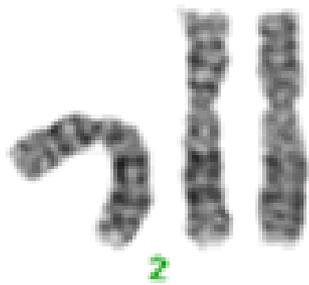
- **Balanceadas**
  - **Inversão**
    - **Paracêntrica**
    - **Pericêntrica**
  - **Translocação**
    - **Recíproca**
    - **Robertsoniana**
    - **Inserção**
- **Não Balanceadas**
  - **Deleção**
  - **Duplicação**
  - **Anéis**
  - **Isocromossomos**
  - **Dicêntricos**

# **Anomalias Numéricas: Euploidias**

**Triploidias ( $3n$ )**

# Triploidia

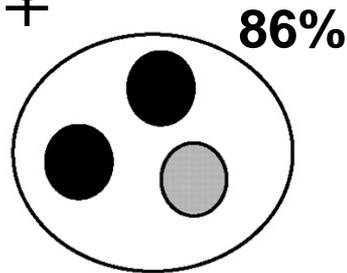
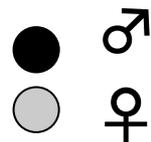
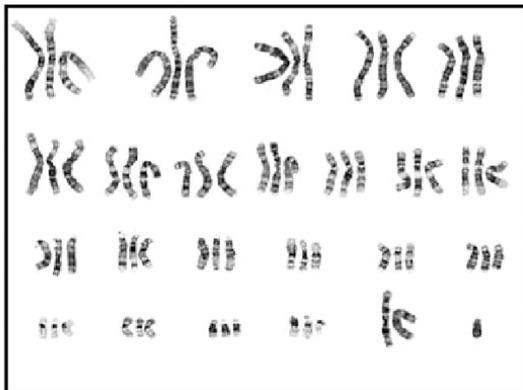




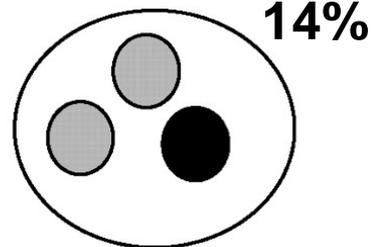
Y

# Triploidia 3n

Triploidia (n = 69)



*Diandria*



*Digynia*

- Feto: crescimento normal
- Placenta: mola parcial

*Perda fetal precoce*

- Feto: Retardo de crescimento e macrocefalia relativa
- Placenta: pequena, não cística

*Perda fetal tardia*

# **Anomalias Numéricas: Euploidias**

**Tetraploidias(4n)**

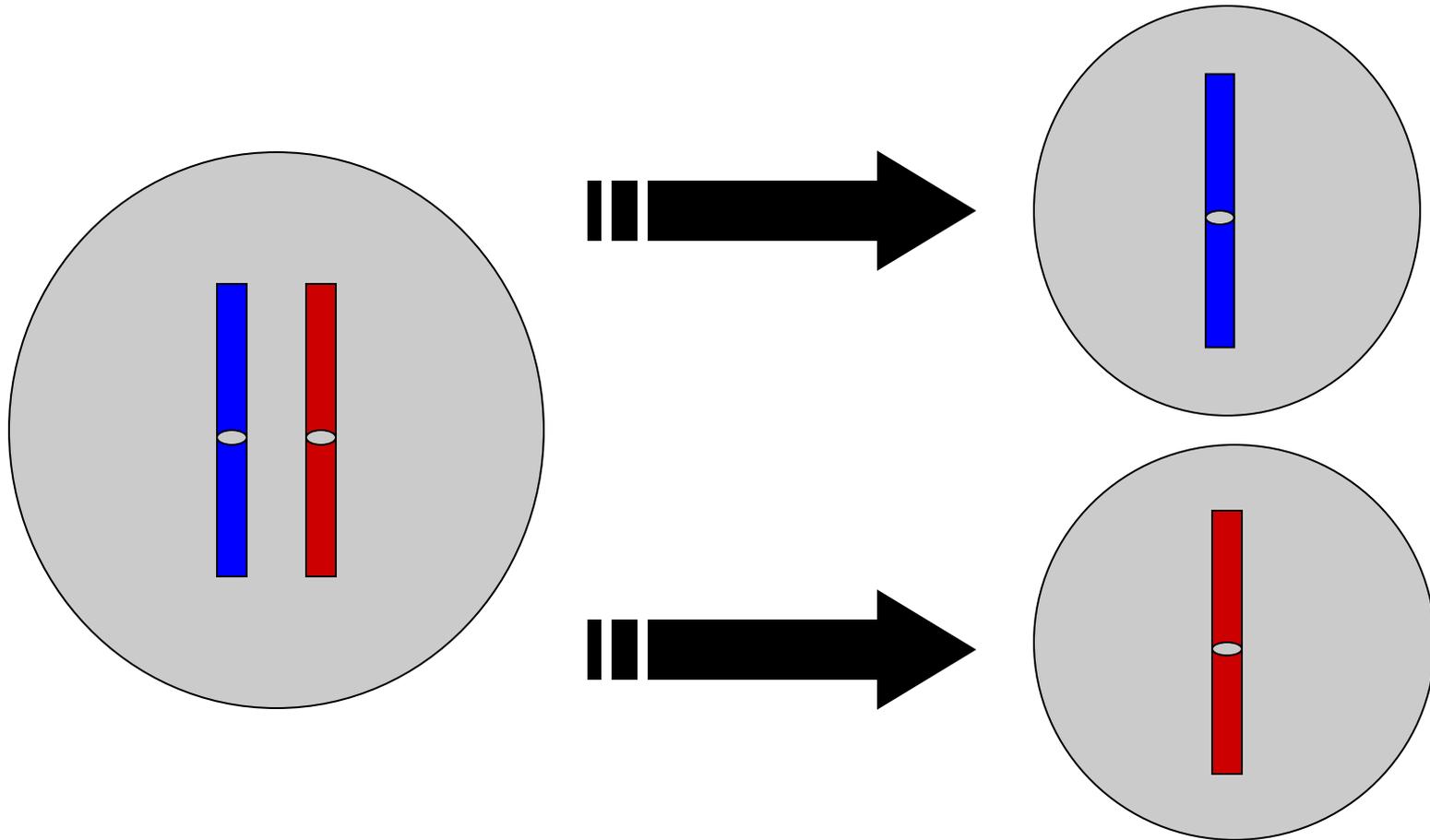
# Tetraploidia (4n)

- **Aborto precoce**
- **92,XXXX e 92,XXYY**
  - **Falha de clivagem no zigoto**

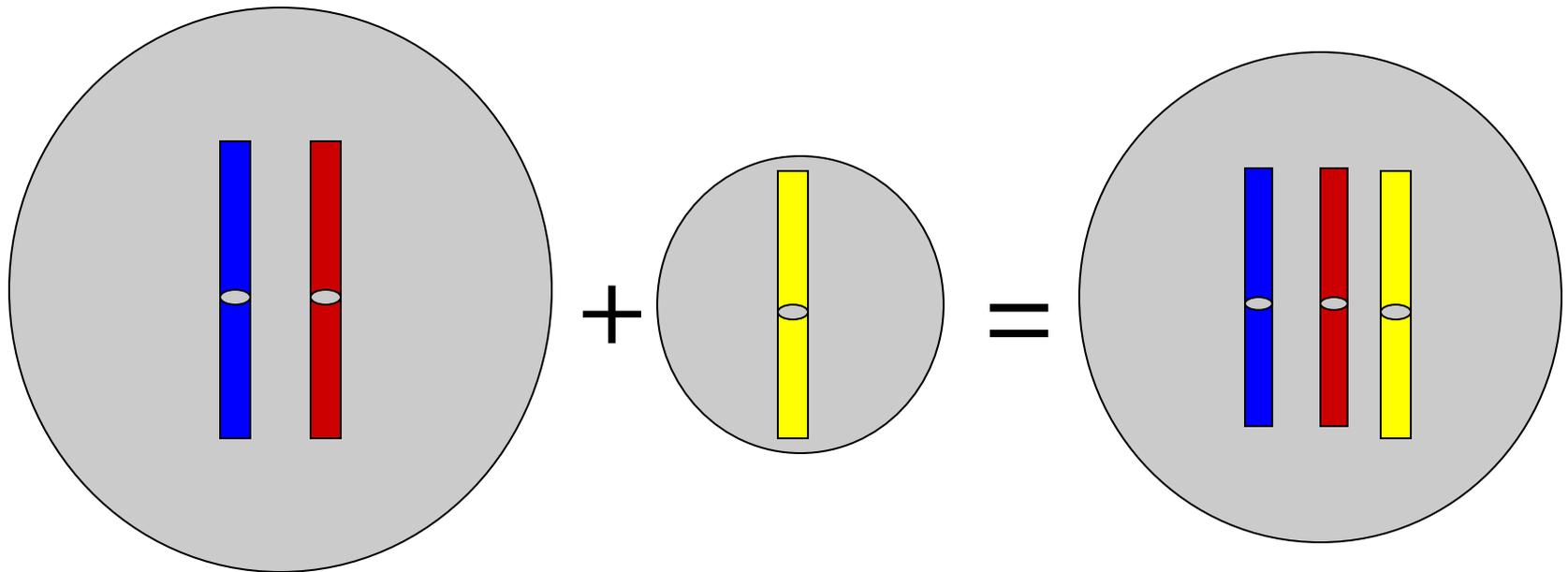
# **Anomalias Numéricas: Aneuploidias**

---

# Meiose I - separação dos cromossomos homólogos

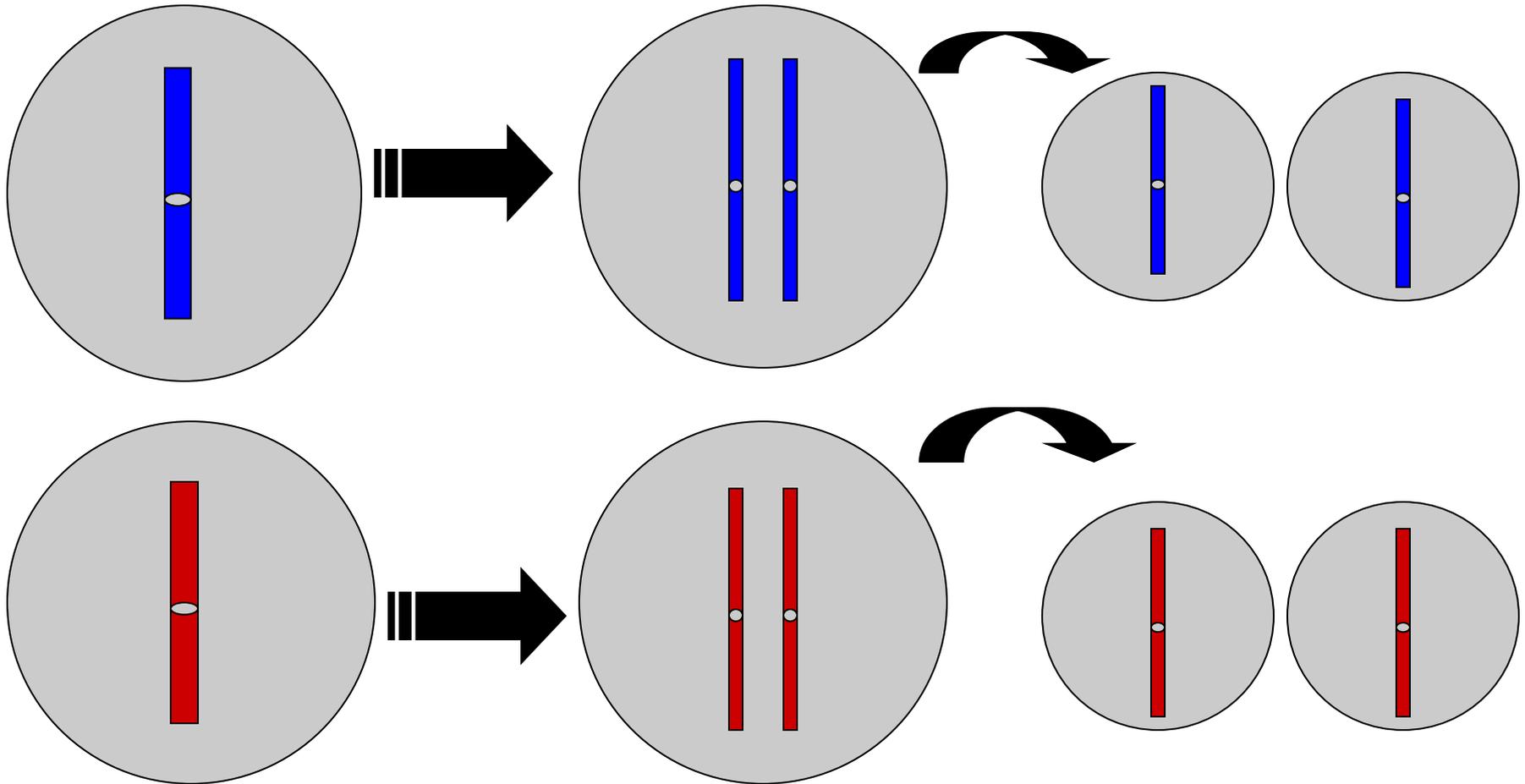


# Não disjunção na Meiose I

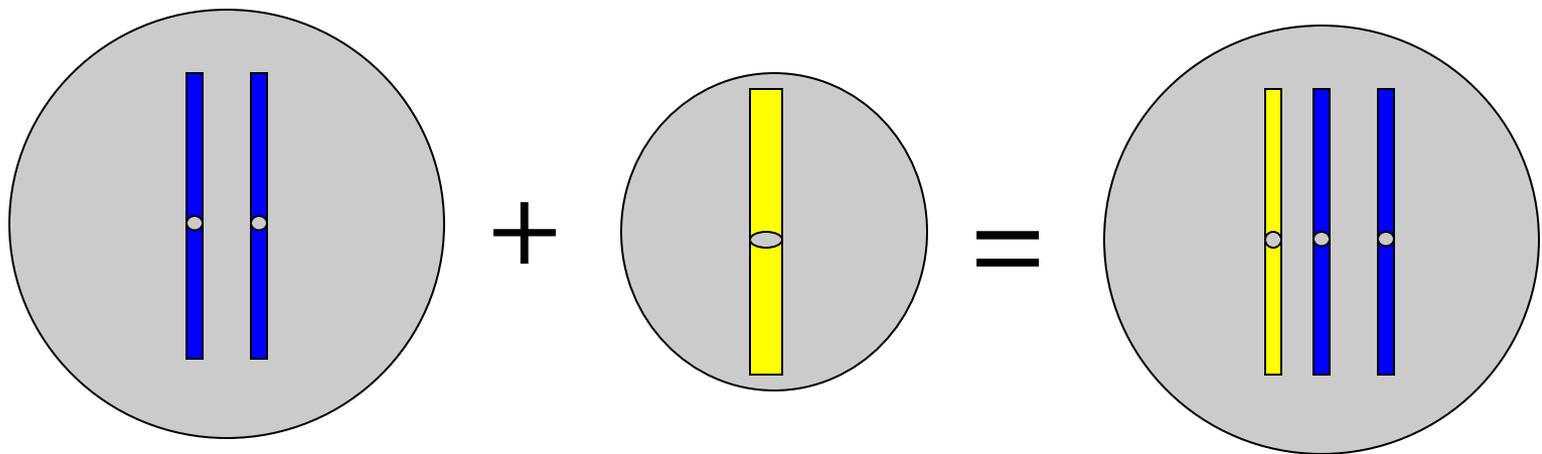


**3 cromossomos diferentes = heterodissomia**

# Meiose II - separação das cromátides irmãs



# Não disjunção na Meiose II



**2 cromossomos iguais =  
homodissomia**

# Trissomias

- **1. Trissomia do 21**
- **2. Trissomia do 18**
- **3. Trissomia do 13**

# Trissomia do 21

## Síndrome de Down



John Langdon Down (1866):  
Primeiro relato médico

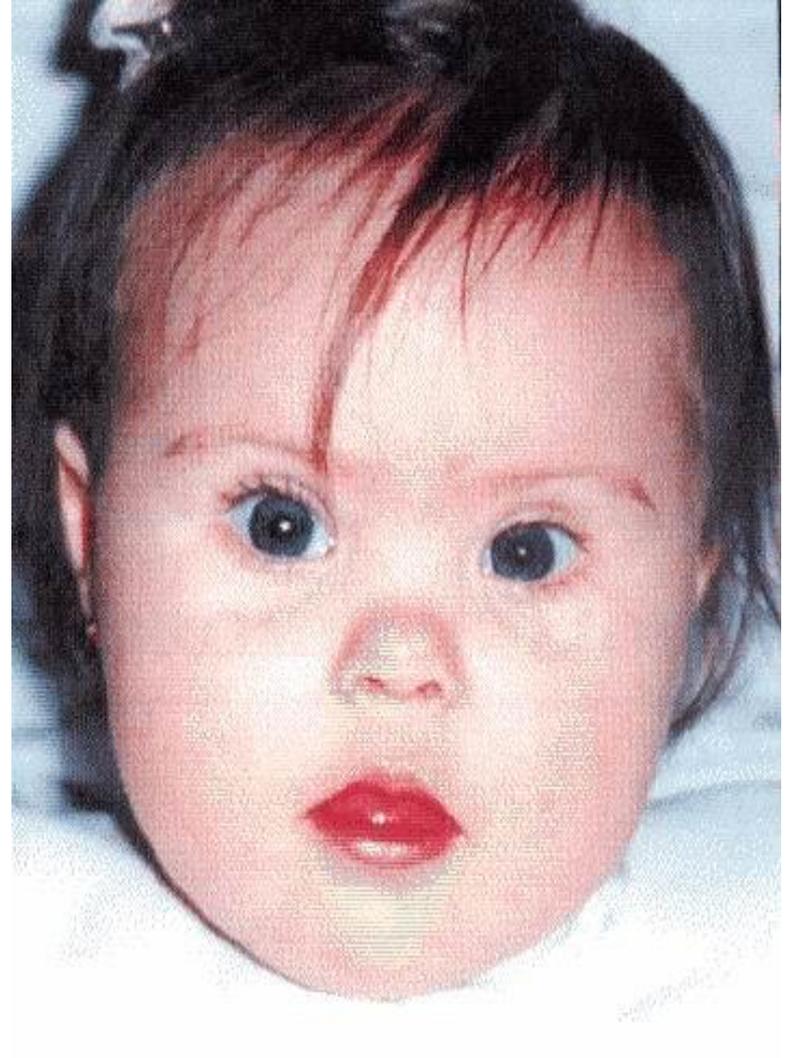


Jerome Lejeune (1959):  
Trissomia do cromossomo 21

# 1. Trissomia do 21 - S. de Down

- Incidência entre 1:1.000 e 1:700 RN
- Aneuploidia cromossômica mais comum em nativos
- 1ª causa de deficiência mental genética
- Só 20% dos conceptos com S. de Down nascem, 80% são abortos espontâneos
- Quadro clínico muito variável, e nem todos os pacientes apresentam todas as características

# Trissomia do 21



**Caucasóides**

# Trissomia do 21



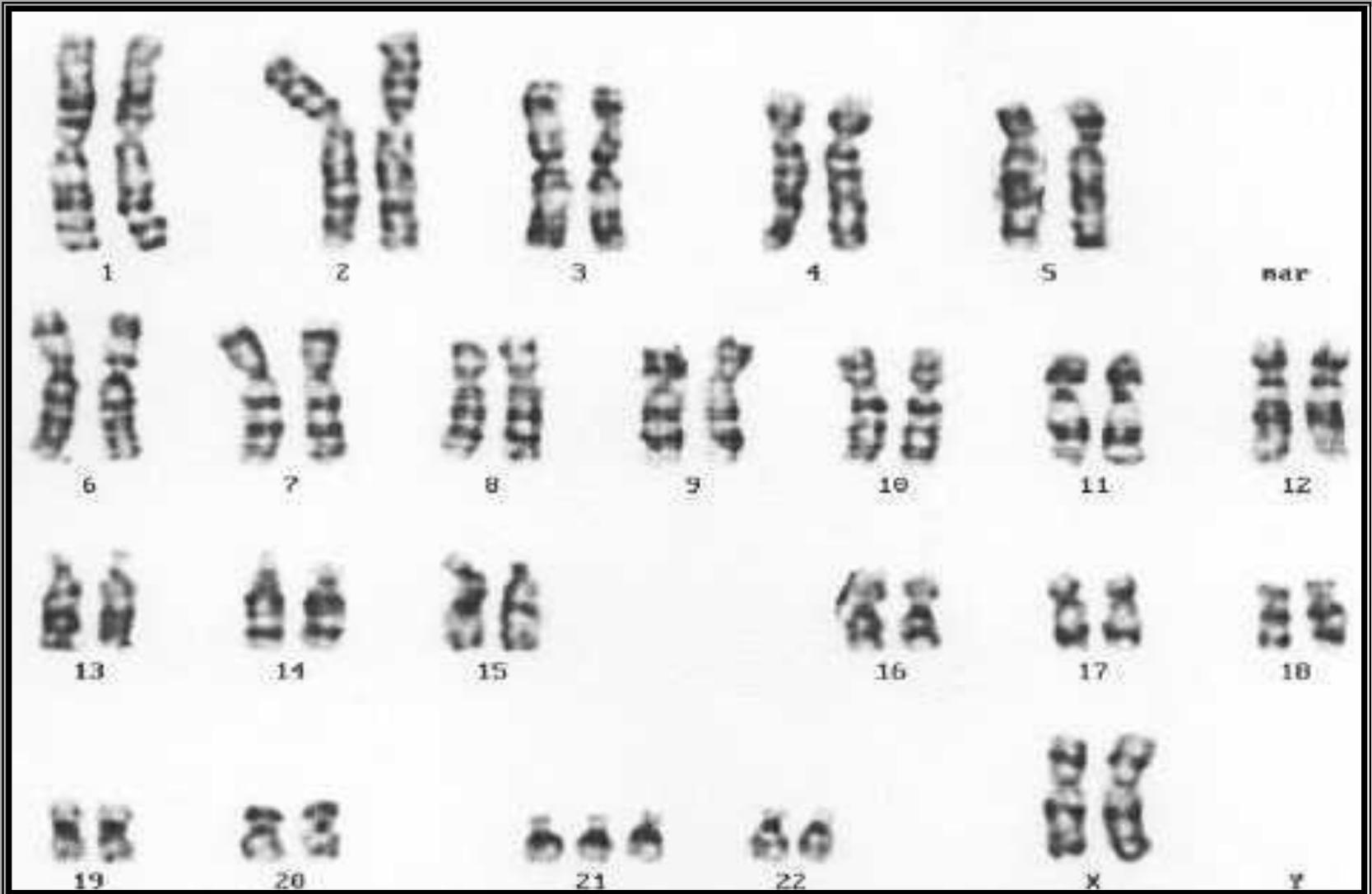
**Negróides**

# Trissomia do 21



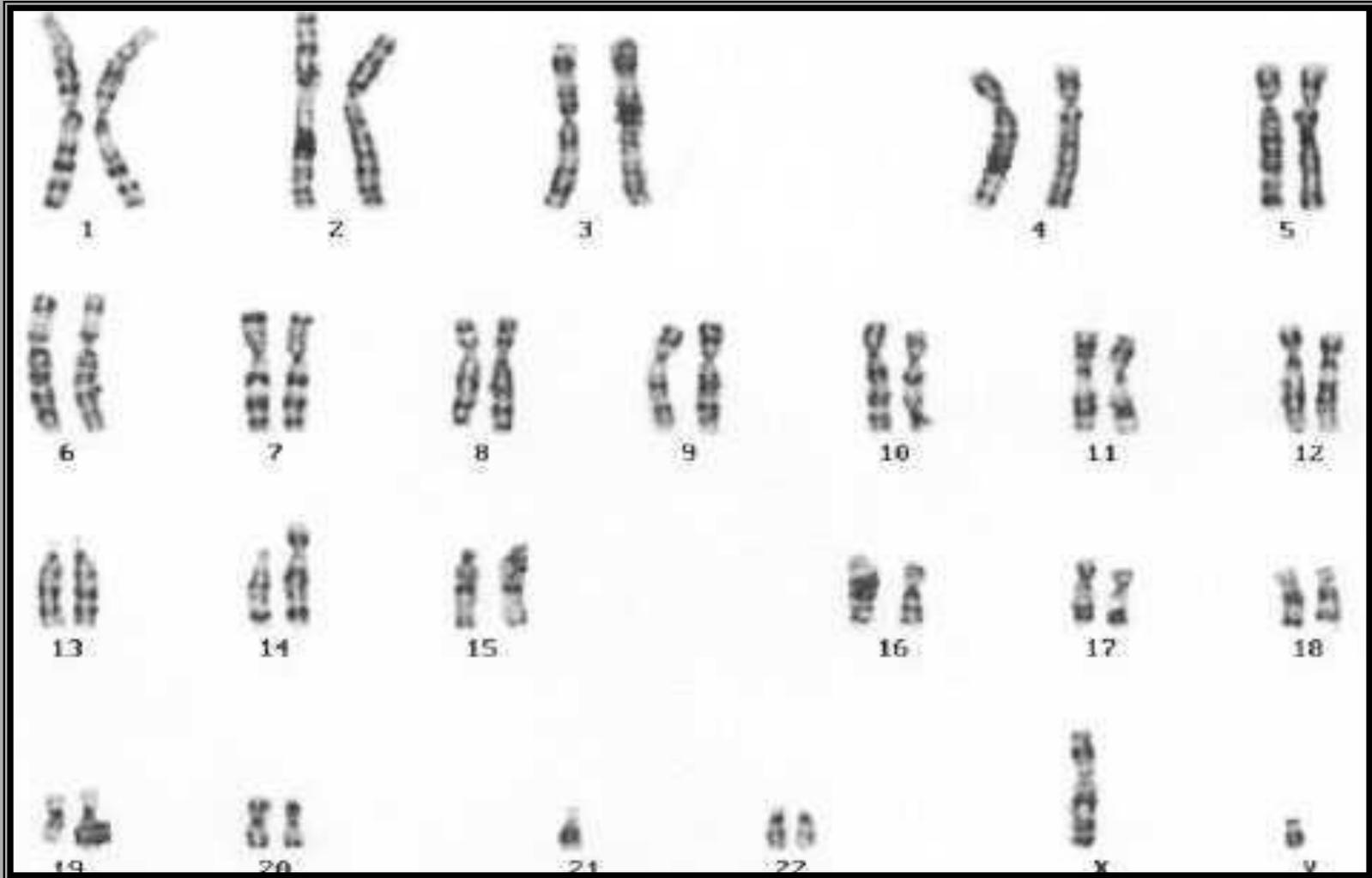
**Indígena e Oriental**

# Trissomia do 21



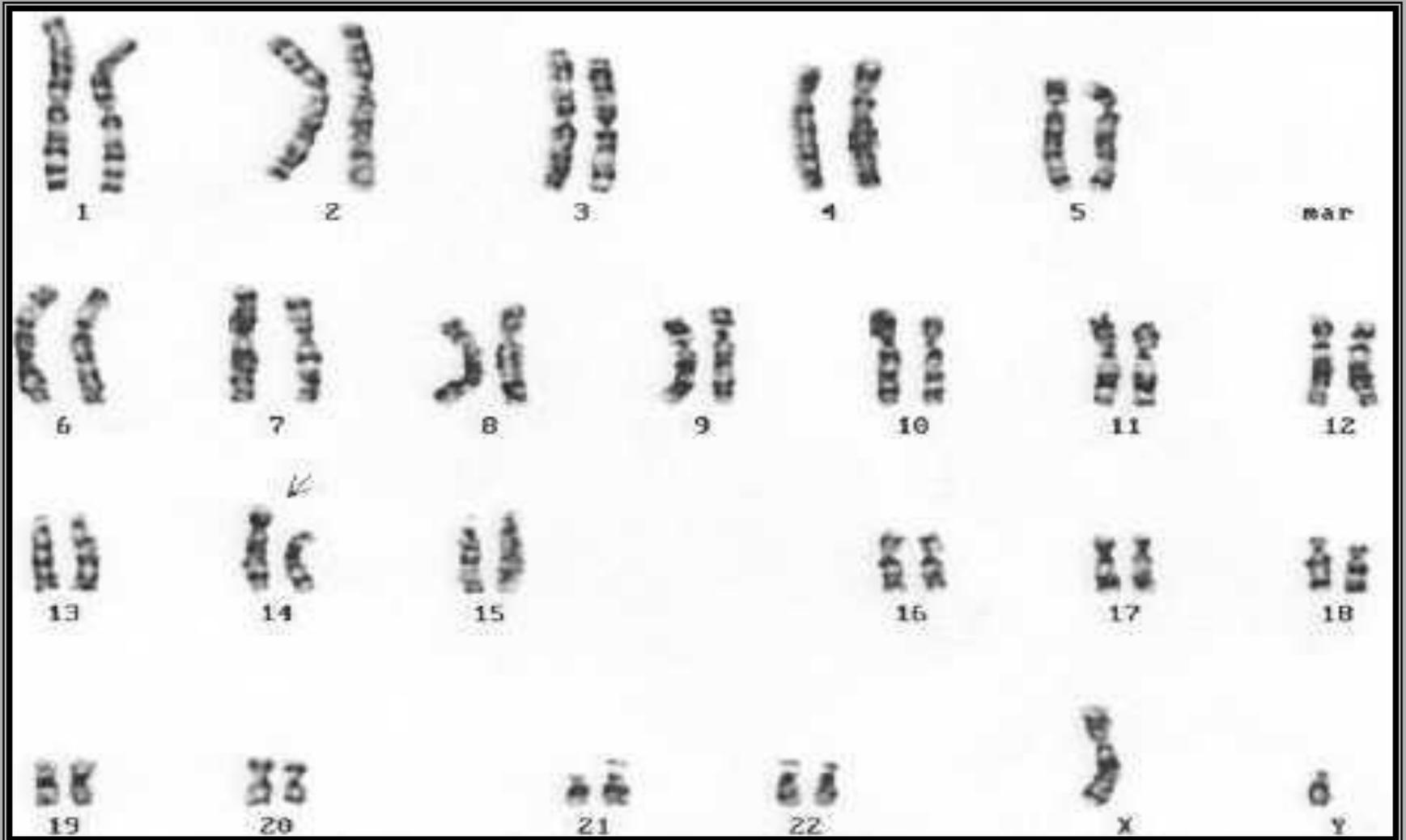
47 XX+ 21

# Trissomia do 21



**45 XY t (14;21)**

# Trissomia do 21



**46 XY t (14;21) = S. de Down**

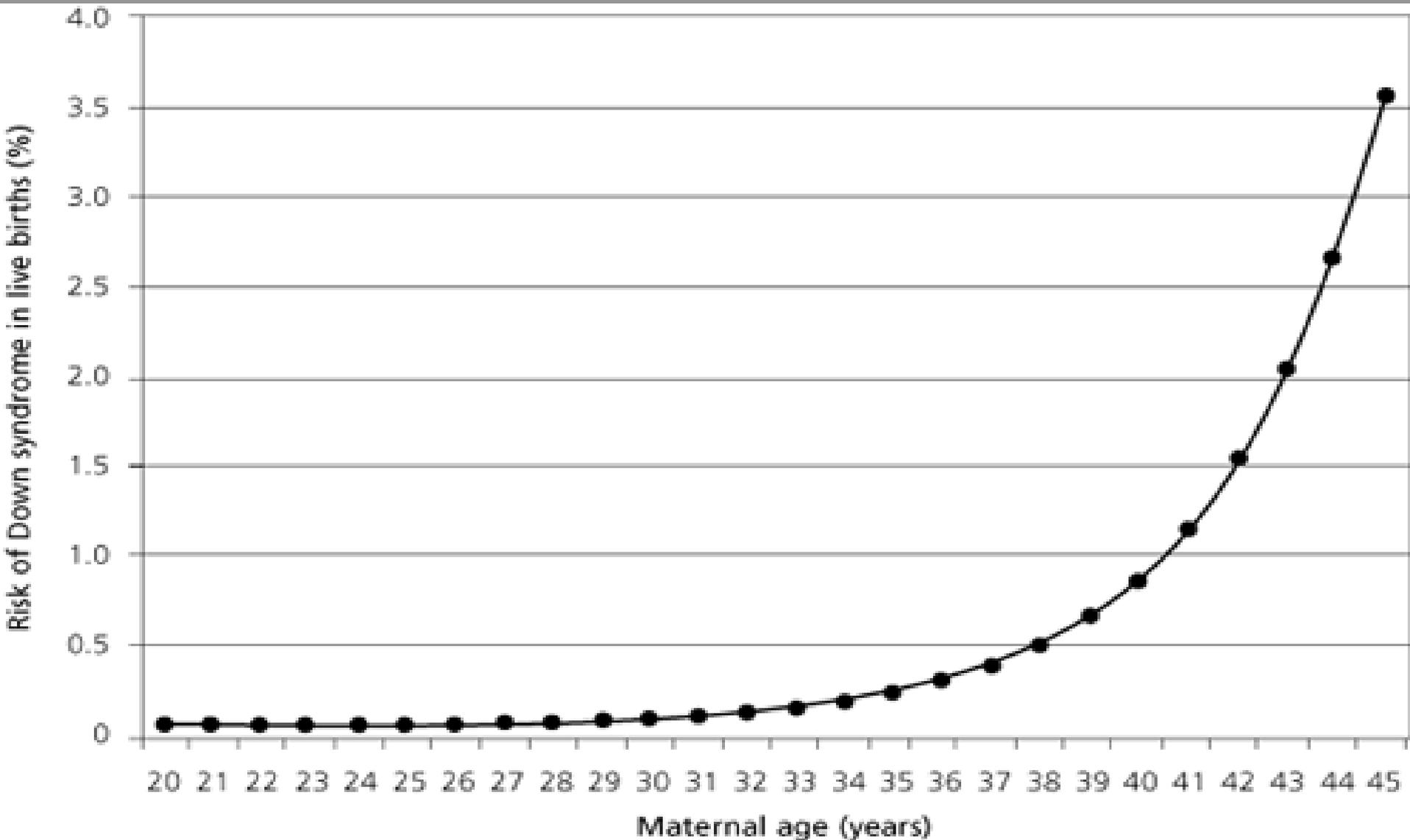
# Trissomia do 21 - S. de Down

- 90% dos pacientes têm trissomia livre
- 10% dos pacientes têm translocações
  - 90% das translocações são eventos novos
  - 10% das translocações são herdadas

# Translocação

Frente a uma criança portadora de translocação é obrigatório exame citogenético dos pais para aconselhamento genético

# Idade Materna e SD



# Trissomia do 18

## Síndrome de Edwards

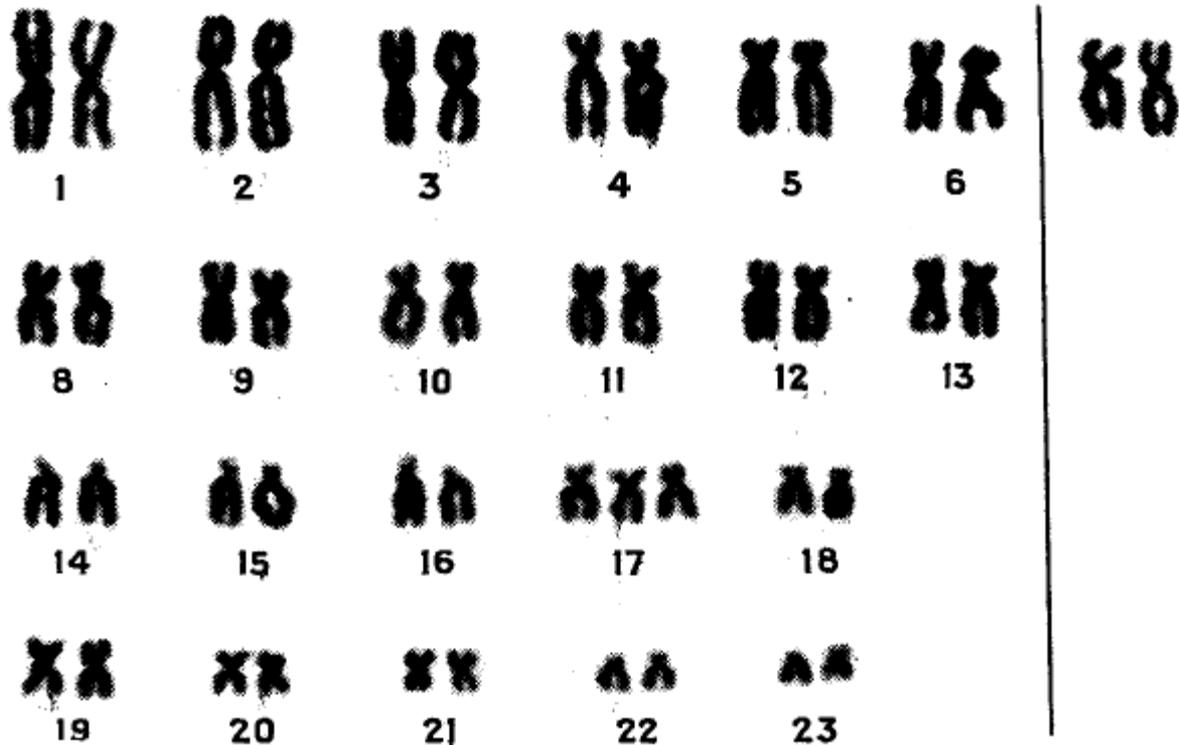


Fig. 5—Chromosomes arranged in pairs.

### THE LANCET

Volume 275, Issue 7128,  
9 April 1960, Pages 787-  
790

Jonh Hilton Edwards  
(1960):Relata o fenótipo  
associado à trissomia 18

(erronamente descrito  
como cromossomo 17!)

# Trissomia do 18 - S. de Edwards

- 2ª trissomia autossômica mais comum em humanos
- Incidência de 1:8.000 RN
- 95% são abortados
- Somente 5 a 10% estão vivos no 1o ano de vida
- Quadro clínico: hipertonia, dolicocefalia, retrognatia, sobreposição 2<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> dedos das mãos sobre o 4<sup>o</sup>, pés em mata-borrão

# Trissomia do 18 - S. de Edwards

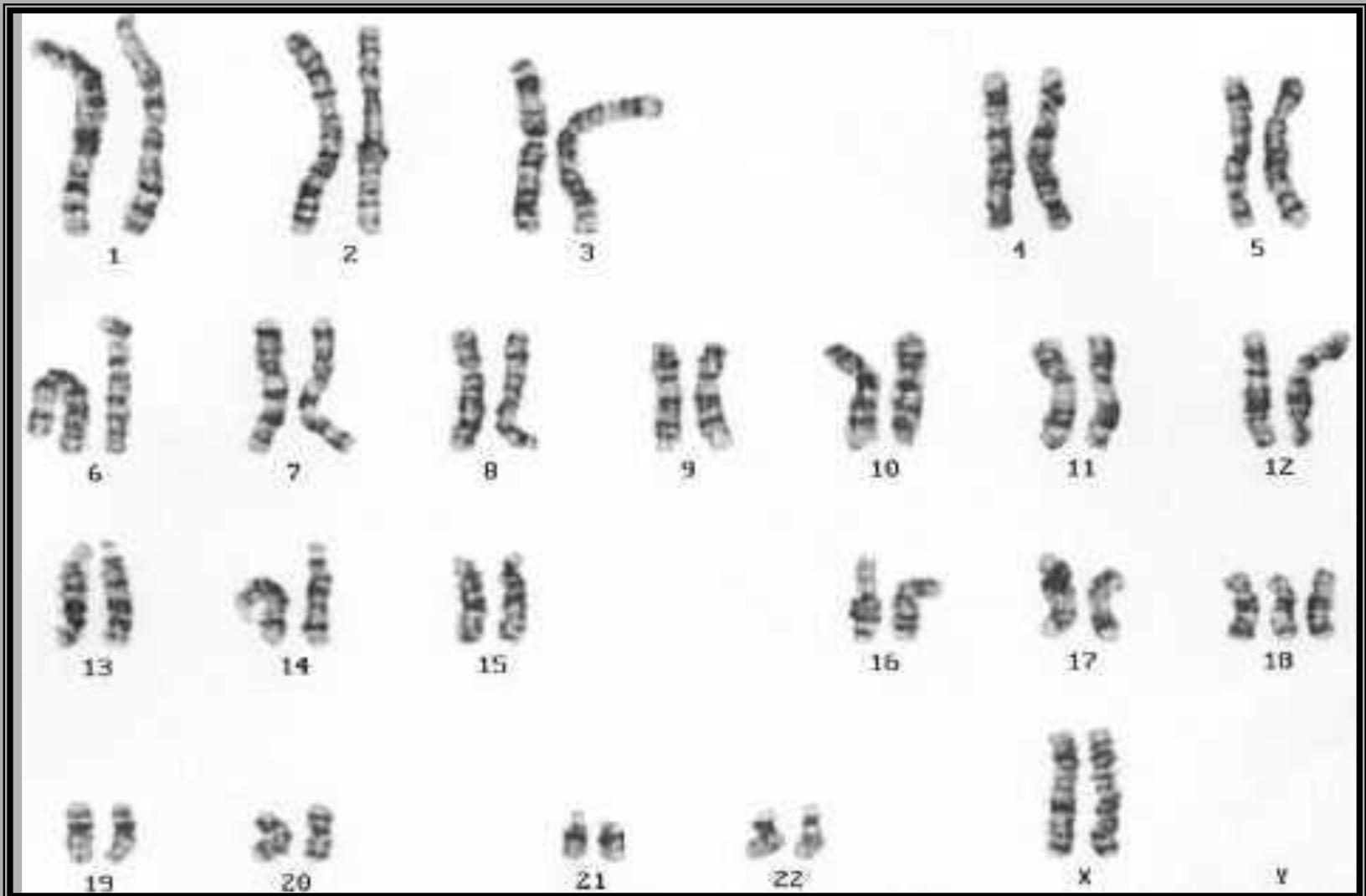


# **Trissomia do 18 - S. de Edwards**



**Pé em “mata-borrão”**

# Trissomia do 18



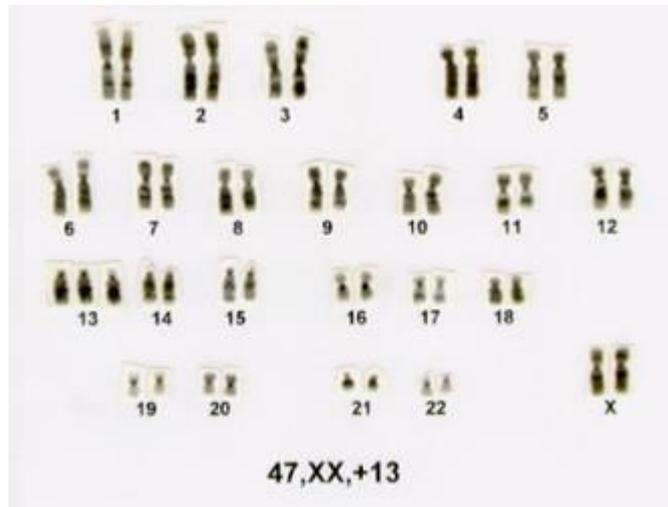
**47 XX +18**

# Trissomia do 13

## Síndrome de Patau



Primeira observação em 1657



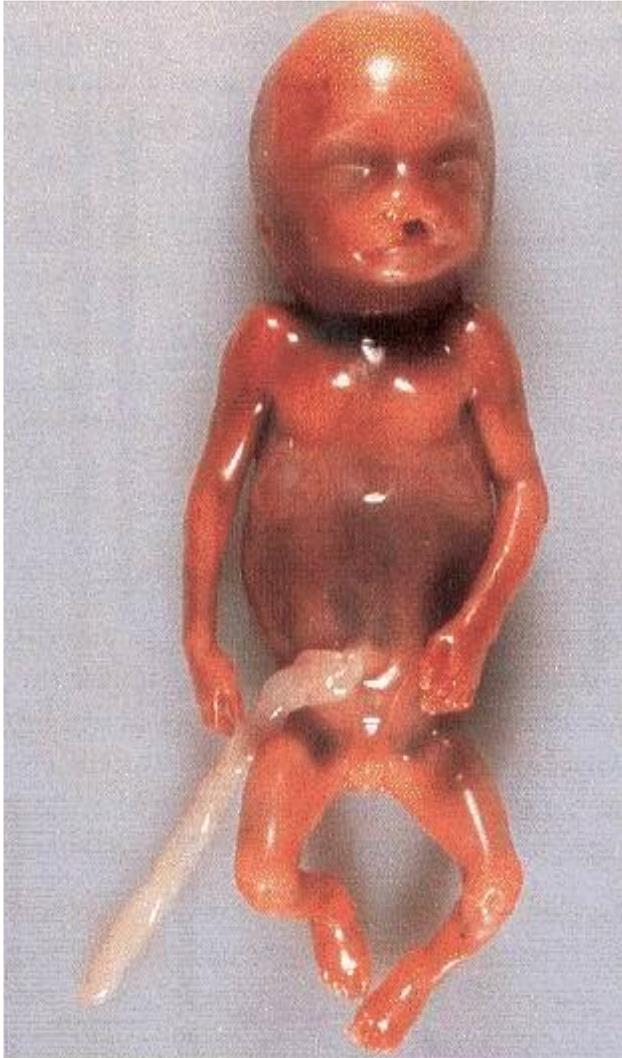
Klaus Patau (1960):  
Trissomia do cromossomo  
13

# Trissomia do 13

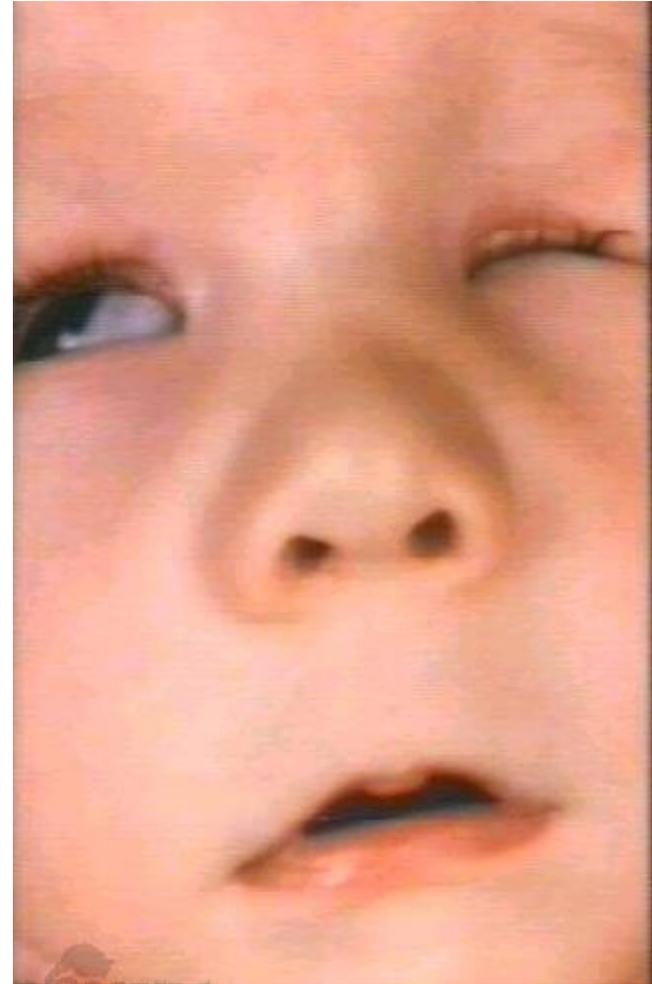
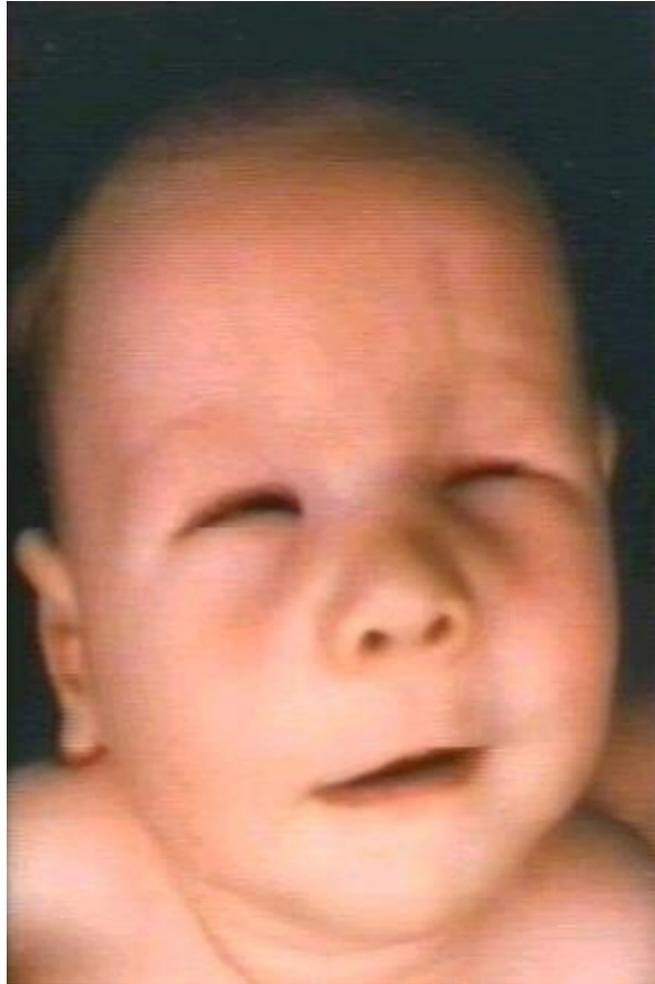
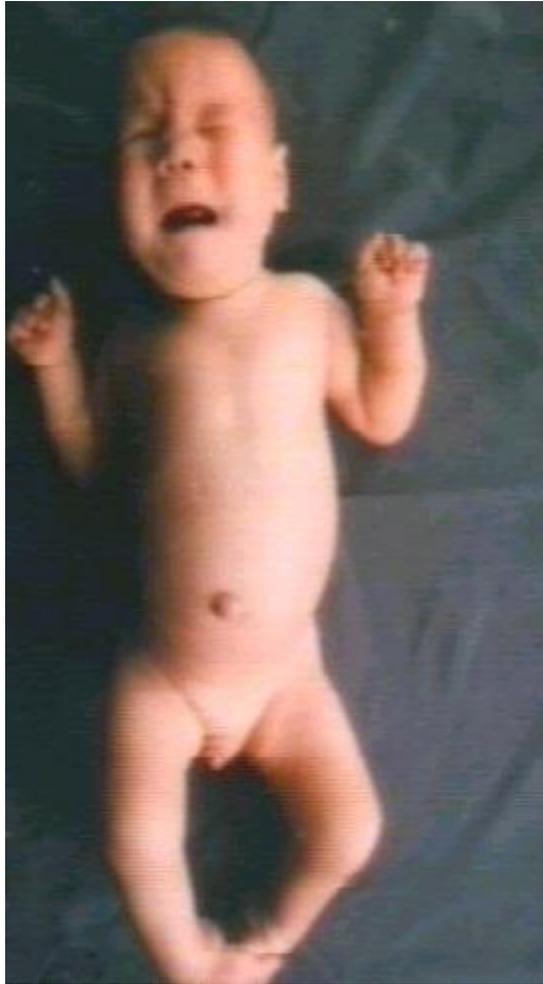
## S. de Patau

- 3ª trissomia autossômica mais comum em nativos
- Incidência de 1:12.000 a 1:25.000 RN
- 98% dos conceptos são abortados
- Prognóstico reservado, rara sobrevivida no 1º ano de vida
- Quadro clínico: malformações do SNC (holopresencefalia), malformações oculares, lábio fendido, malformações cardíacas, polidactilia pós axial

# Trissomia do 13



# Trissomia do 13



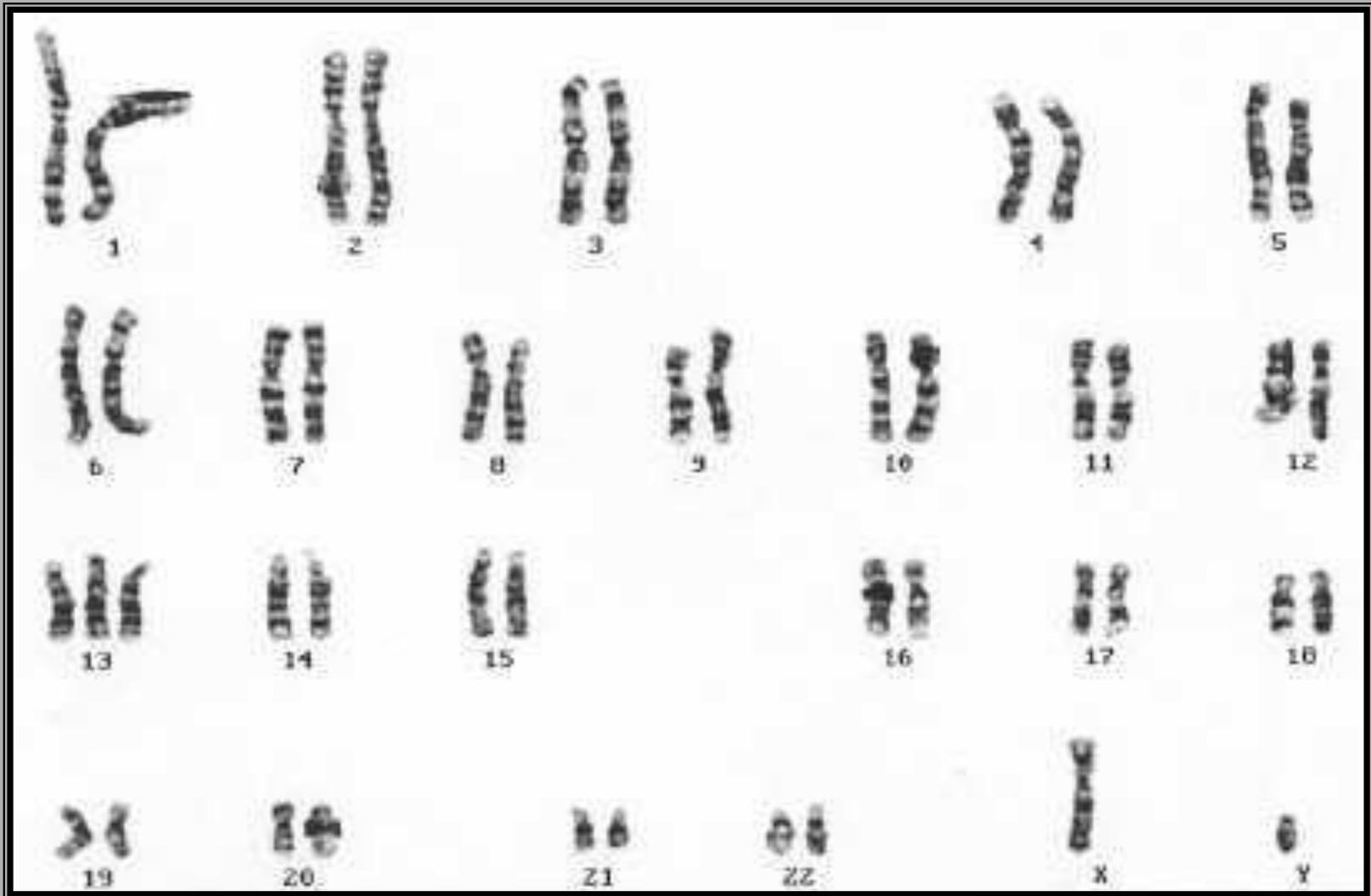
# Trissomia do 13



**Polidactila pós-axial**



# Trissomia do 13



**47 XY + 13**

# **Anormalidades Estruturais**

---

# Anormalidades estruturais

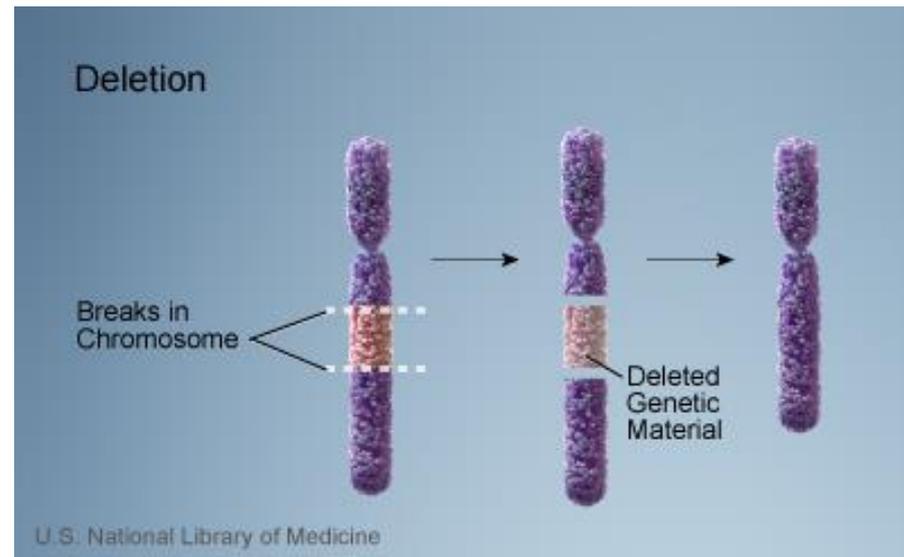
- Quebra cromossômica seguida de reconstituição numa combinação anormal
- Podem ser herdadas ou ocorrerem espontaneamente
- Os **rearranjos não balanceados** levam a quadro clínico variado, quase sempre com deficiência mental
- Os **rearranjos balanceados** ocorrem em 1:500 RN, normalmente são assintomáticas, mas pode haver clínica por causa de microdeleções

# **Rearranjos não-balanceados**

- **1. Deleção**
- **2. Duplicação**
- **3. Cromossomo em anel**
- **4. Isocromossomos**

# 1. Deleção

- Perda de um segmento cromossômico
- A clínica depende do segmento deletado
- A deleção pode ser terminal - perda de um segmento distal do cromossomo porque houve 1 quebra cromossômica
- A deleção pode ser intersticial - perda de um segmento intermediário de um cromossomo porque houveram 2 quebras cromossômicas

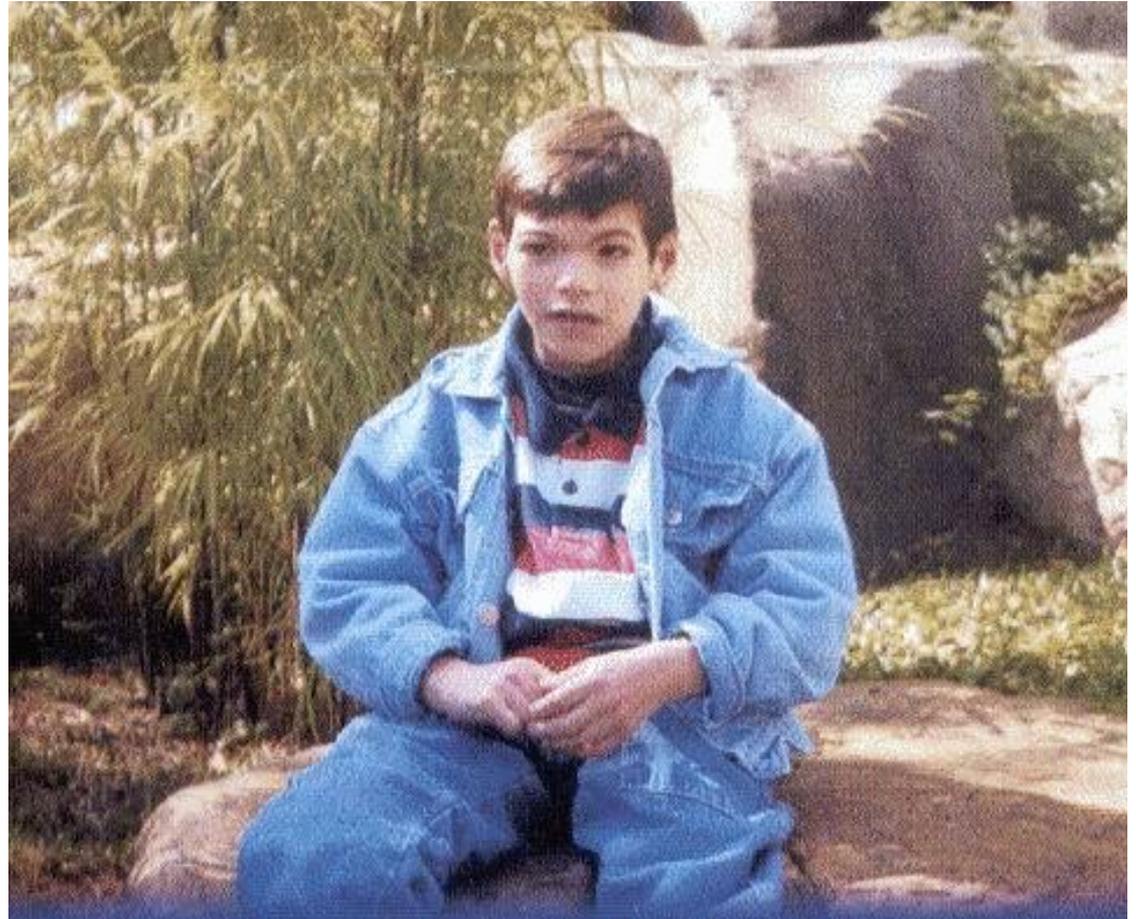


# 1. Deleção



Paciente portador de deleção do braço curto do cromossomo 4, com face típica descrita como nariz em “elmo” e telecanto

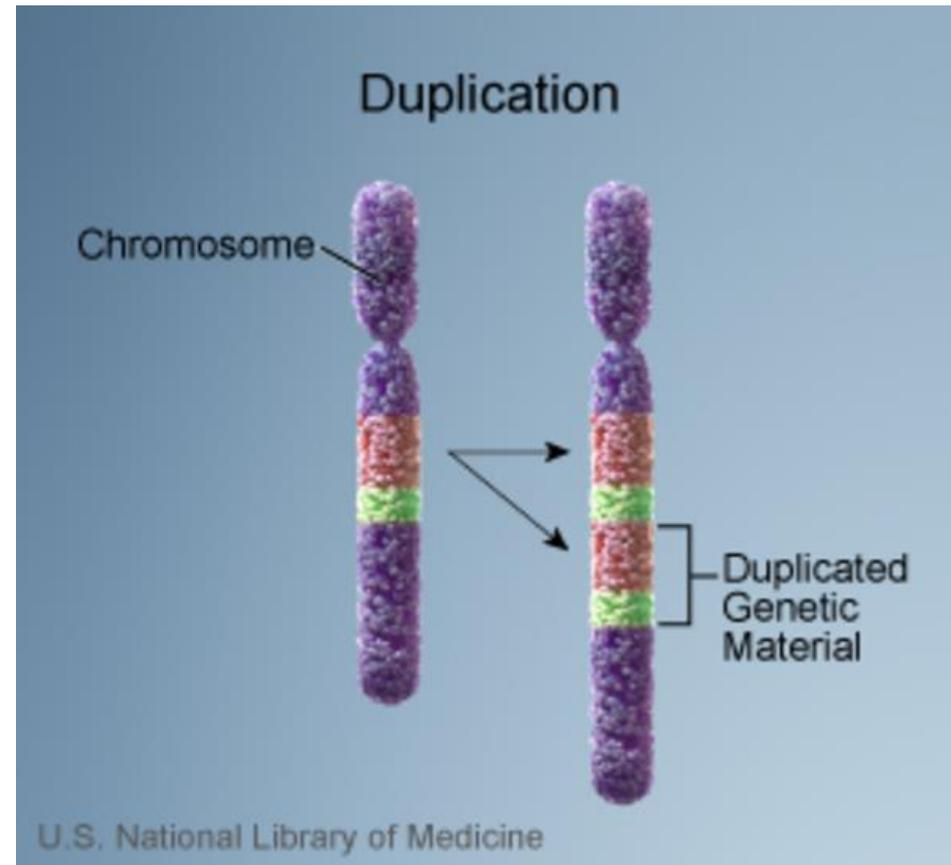
# 1. Deleção



Pacientes portadores de deleção do braço curto do cromossomo 5 - S. de Cri Du Chat, com microcefalia, olhos amendoados e hipertelorismo

# 2. Duplicação

- Presença de dois segmentos semelhantes de um mesmo cromossomo
- Normalmente é menos nociva que a deleção
  - duplicação em gametas pode resultar em desequilíbrio cromossômico



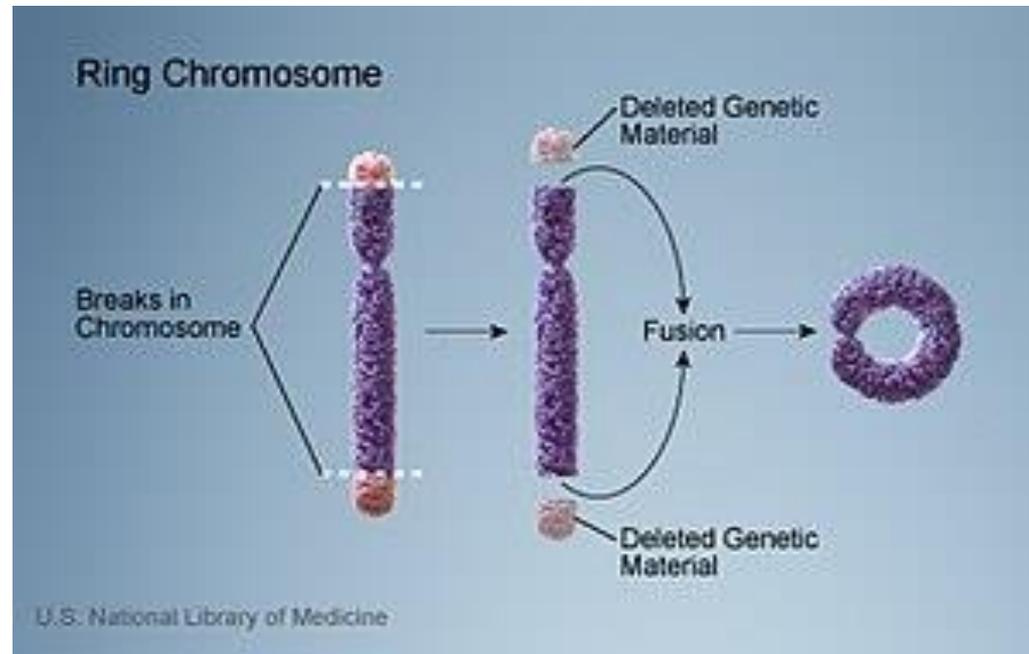
## 2. Duplicação



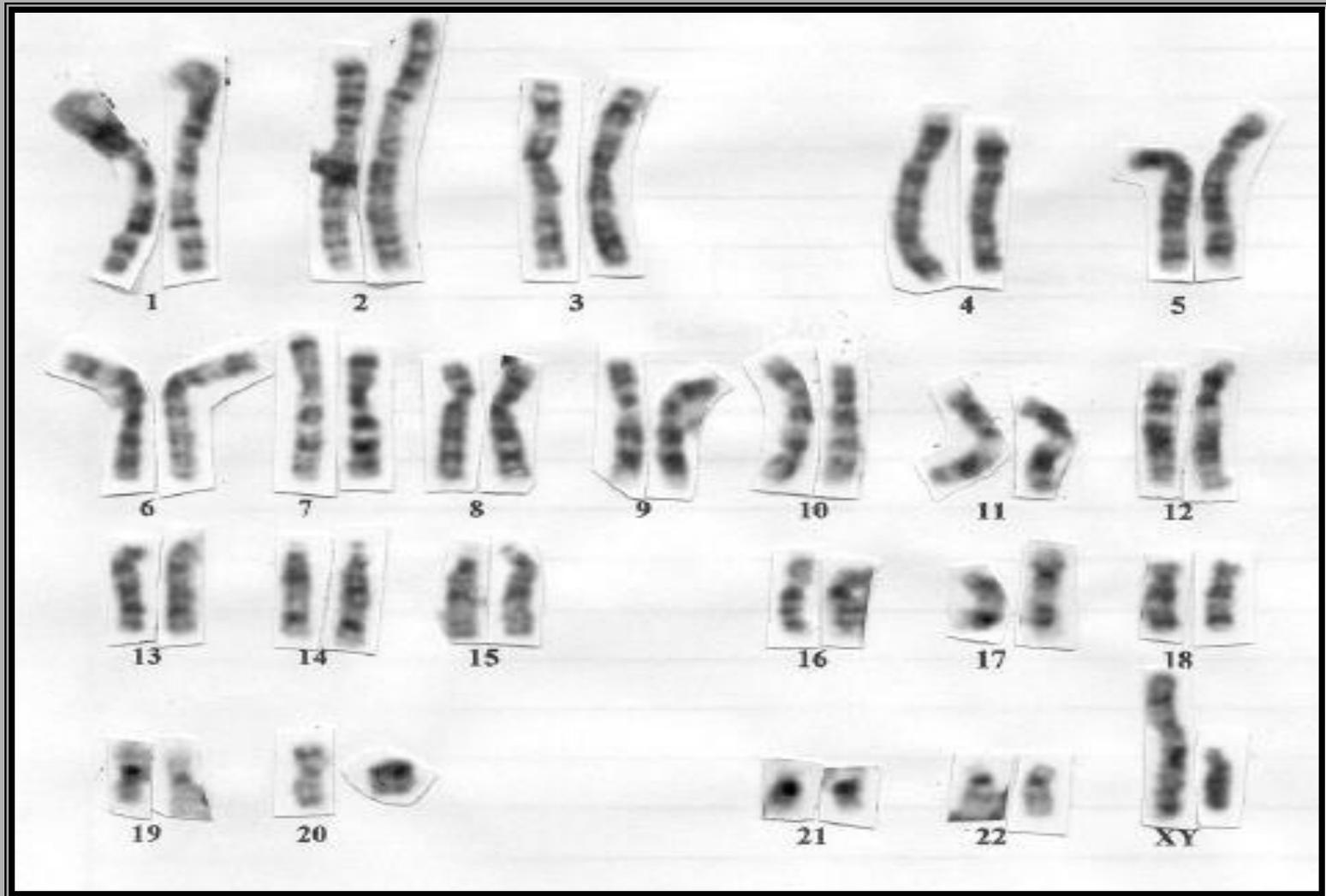
Paciente portadora do cariótipo 46 XX dup (1) (p31-p22)

# 3. Cromossomo em anel

- Forma-se quando um cromossomo perde as 2 extremidades e volta a se reunir numa estrutura circular
- São instáveis, tem dificuldade de mitose, por isto podem aparecer somente numa proporção das células

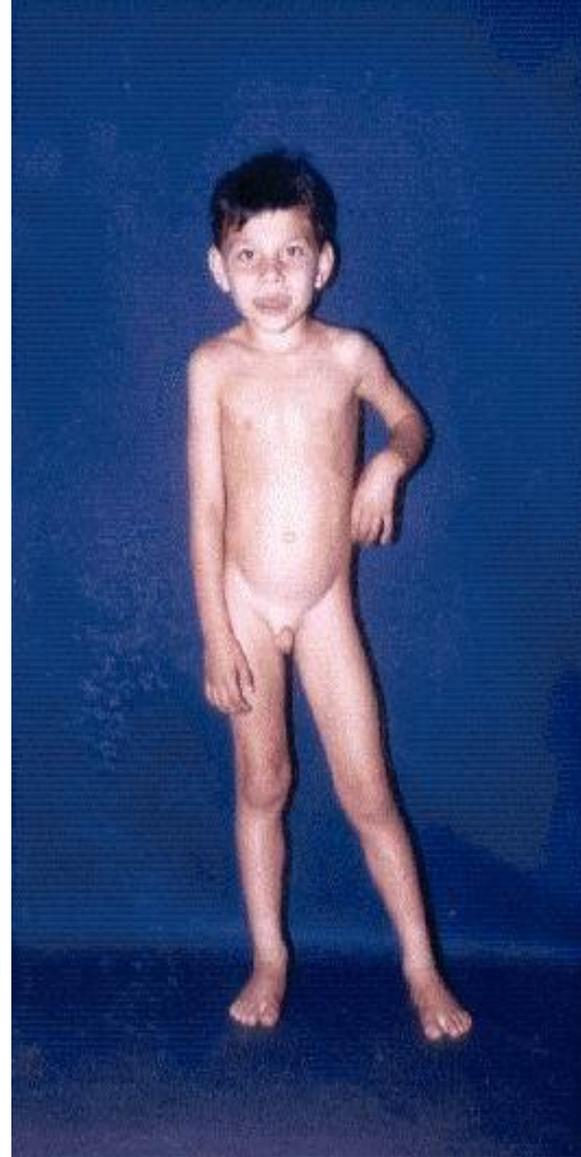
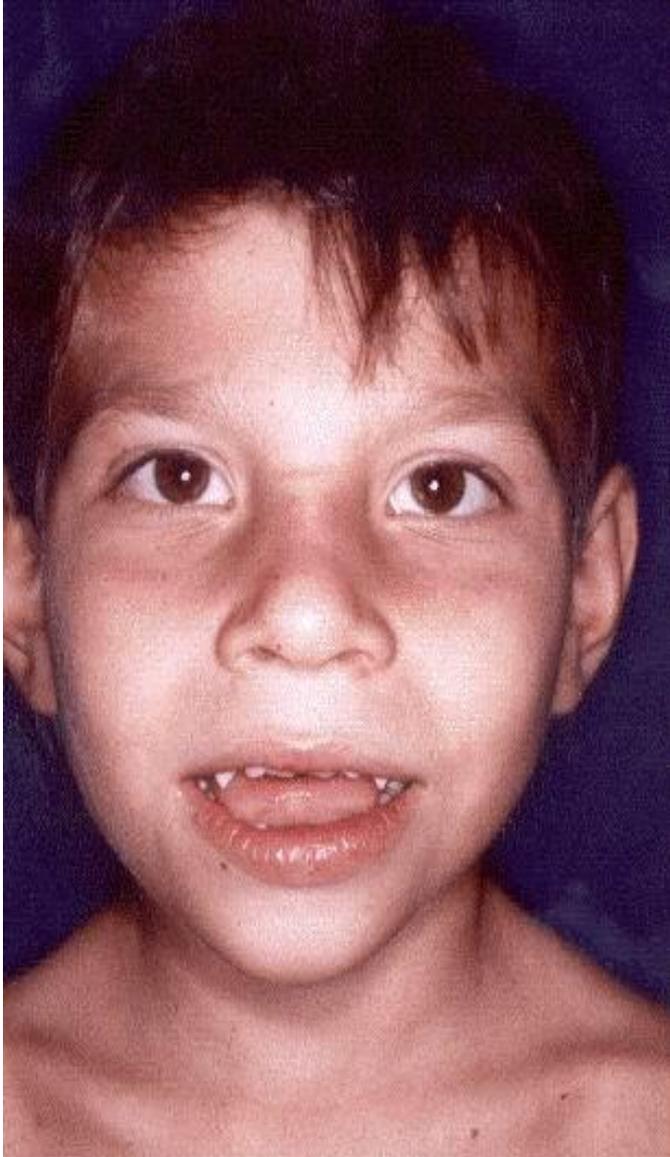


# 3. Cromossomo em anel



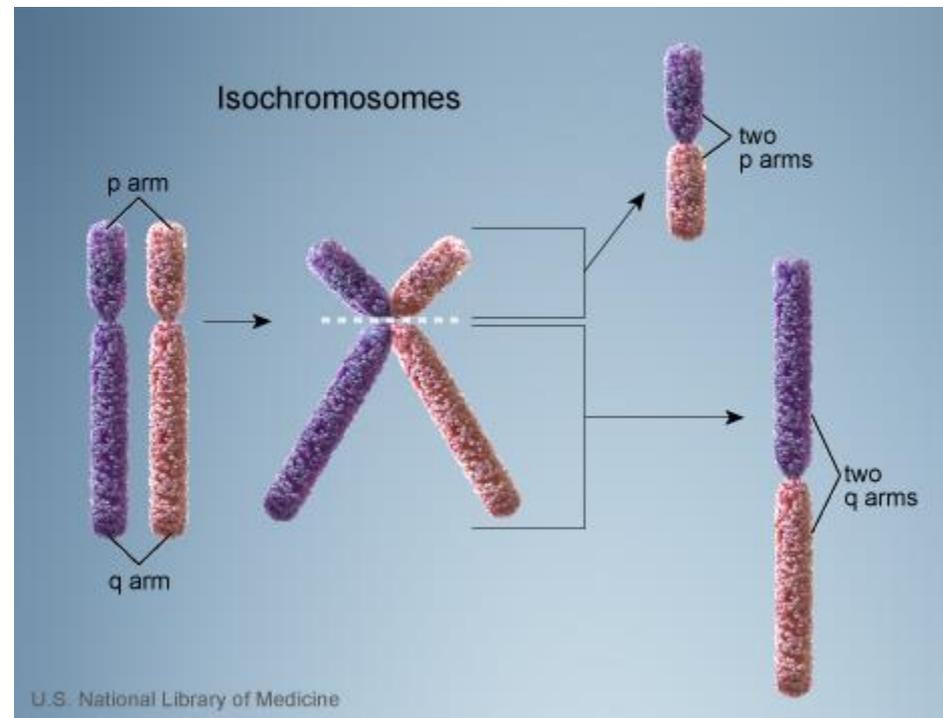
46 XY r (20)

**46 XY r (20)**



# 4. Isocromossomos

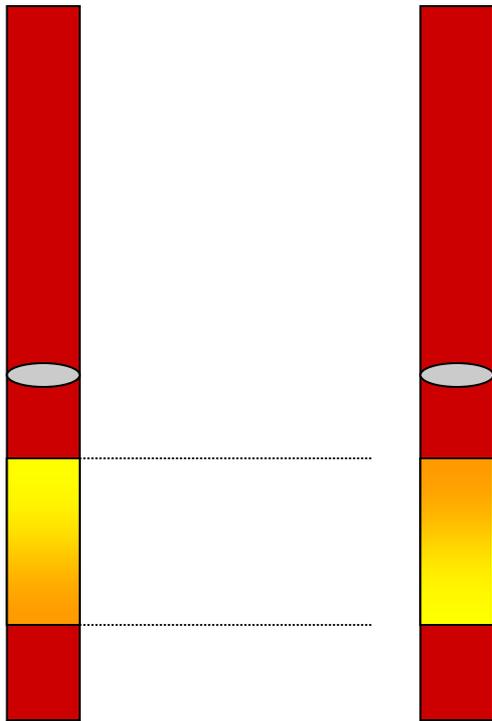
- É um cromossomo no qual um braço está deletado e o outro duplicado
- O mais comum é um isocromossomo do braço longo do cromossomo X em indivíduos com Síndrome de Turner



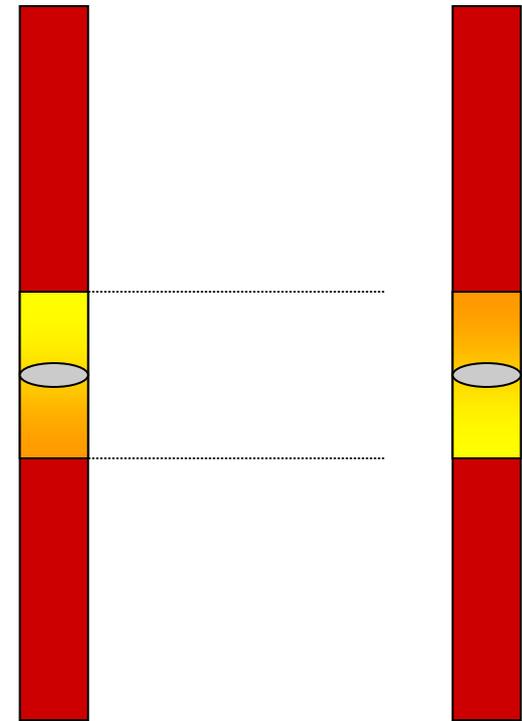
# Rearranjos balanceados

- **1. Inversões**
- **2. Translocações**
- **3. Cromossomos marcadores**

# 1. Inversões



**paracêntrica**



**pericêntrica**

# 1. Inversões

- Um único cromossomo sofre 2 quebras e é reconstituído com o segmento entre as quebras invertido
- **Paracêntrica** - quando as 2 quebras ocorrem num mesmo braço
- **Pericêntrica** - quando há 1 quebra em cada braço do cromossomo

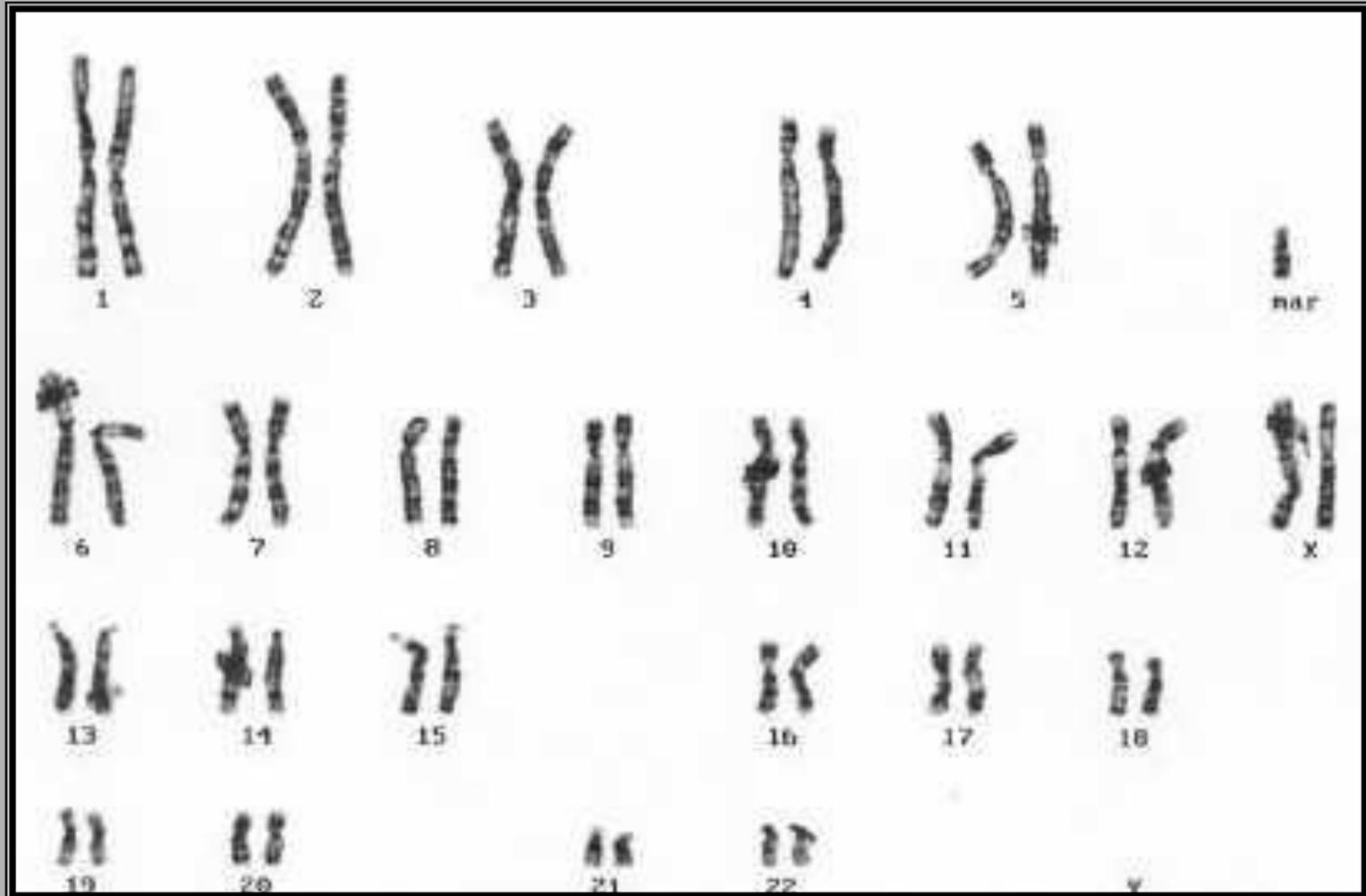
# 2. Translocações

- Troca de segmentos entre cromossomos não homólogos
- **Balanceada ou Recíproca** - o número total de material cromossômico não é alterado
- **Desbalanceada** - há alteração da quantidade de material cromossômico

# 3. Cromossomos marcadores

- Cromossomos extras, pequenos - supranumerários
- Não deixa de ser uma anormalidade numérica, mas como é um rearranjo pode ser considerado uma anormalidade estrutural
- **Fragmento** - quando tem centrômero
- **Marcador** - quando não tem centrômero

# 3. Cromossomos marcadores



**46 XX + mar**

# Anormalidades numéricas dos cromossomos sexuais

- Incidência de 1:674 em mulheres
- Incidência de 1:774 em mulheres
- São causa de **distúrbio de diferenciação sexual** e ocasionalmente de deficiência mental
- São anomalias menos graves que dos cromossomos autossômicos, exceção é a ausência completa de pelo menos 1 cromossomo X - incompatível com a vida

# **Anormalidades do sexo genético ou cromossômico**

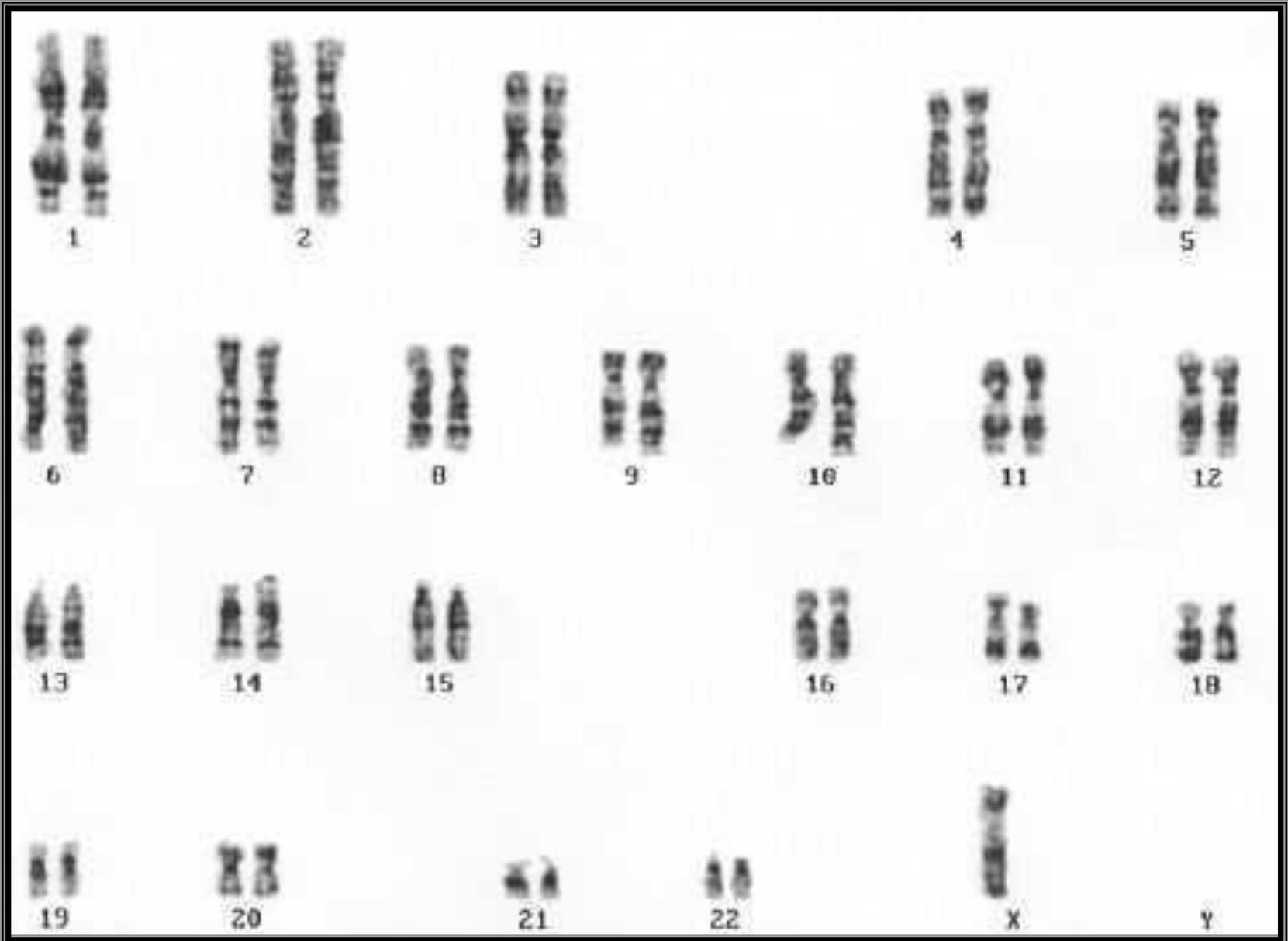
- **1. S. de Turner**
- **2. S. de Klinefelter**
- **3. S. do Triplo X**
- **4. S. 47, XYY**
- **5. S. da Tetra e Pentassomia do X**

# 1. Síndrome de Turner

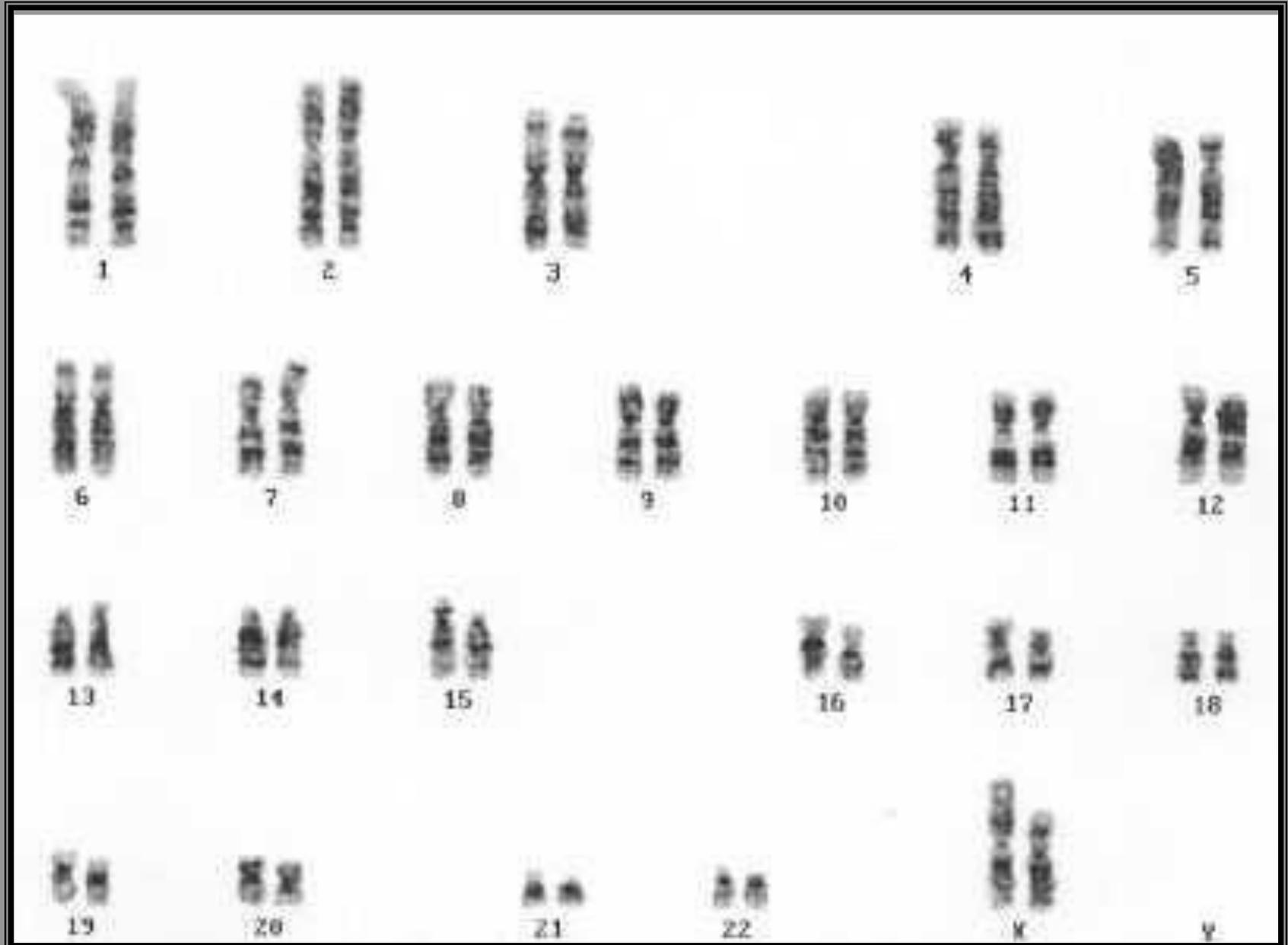
- Classicamente é uma monossomia do cromossomo X (45,X)
- Existem vários tipos de cariótipo:

45, X	- 53%
mosaico 45, X/ 46, XX	- 15%
46, X i(Xq)	- 10%
mosaico 45, X/ 46, X i(Xq)	- 8%
deleção 46, XXq <sup>-</sup> ou 46, XXp <sup>-</sup>	- 6%
outros mosaicos 45, X/?	- 8%

# 45, X



# 46, X i(Xq)



# 1. Síndrome de Turner

## Quadro clínico

- linfedema de pés em recém-nascido, que regride com a idade
- edema de nuca no RN que evolui para pescoço alado
- cardiopatia
- baixa estatura proporcionada
- implantação de cabelos em tridente na nuca
- hiperconvexidade das unhas de mãos e pés

# 1. Síndrome de Turner



Edema de nuca - pescoço  
alado

# 1. Síndrome de Turner



Linfedema de pés



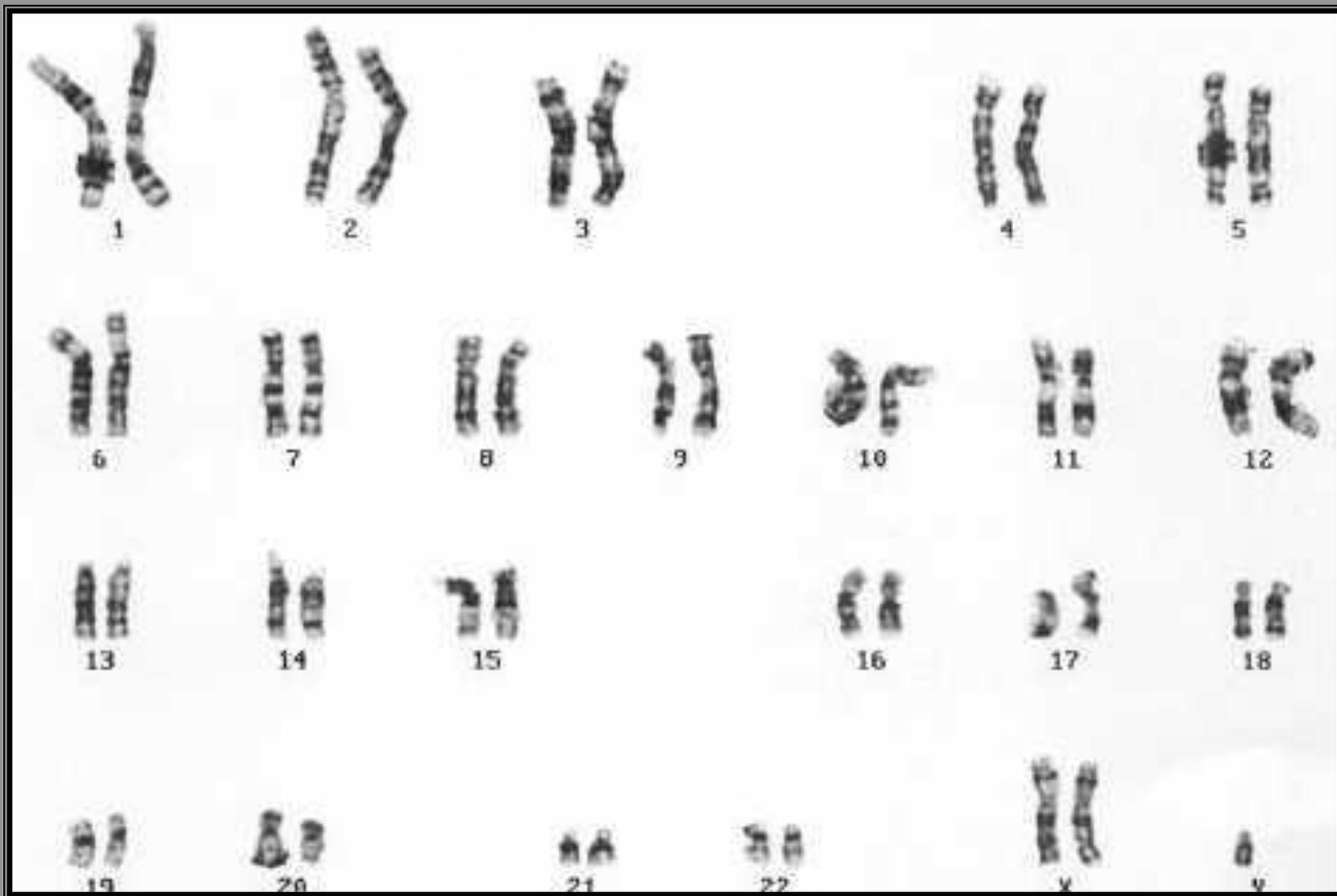
# 1. Síndrome de Turner

- Incidência de 1:2.500 a 1:5.000 em RN
- 99% dos conceptos com S. de Turner são abortados espontaneamente, apenas 1% nascem
- A S. de Turner é responsável por 15 a 20% das anomalias cromossômicas vistas em abortos
- As pacientes têm disgenesia gonadal - fitas e tecido conjuntivo no lugar de ovários, e útero infantil

# 2. Síndrome de Klinefelter

- Cariótipo 47, XXY
- Incidência de 1:1.000 RN do sexo masculino
- Incidência de 1:300 abortos de 1º trimestre
- Mosaicismo visto em 15% dos pacientes
- Fenótipo pouco marcante: alta estatura desproporcional, com membros longos (dolicoestenomelia), hipotrofia testicular que leva a hipogonadismo hipergonadotrófico, QI 10 a 15 pontos mais baixos que os irmãos não afetados
- Muitos pacientes só são diagnosticados quando adultos por causa da azoospermia

# 47, XXY



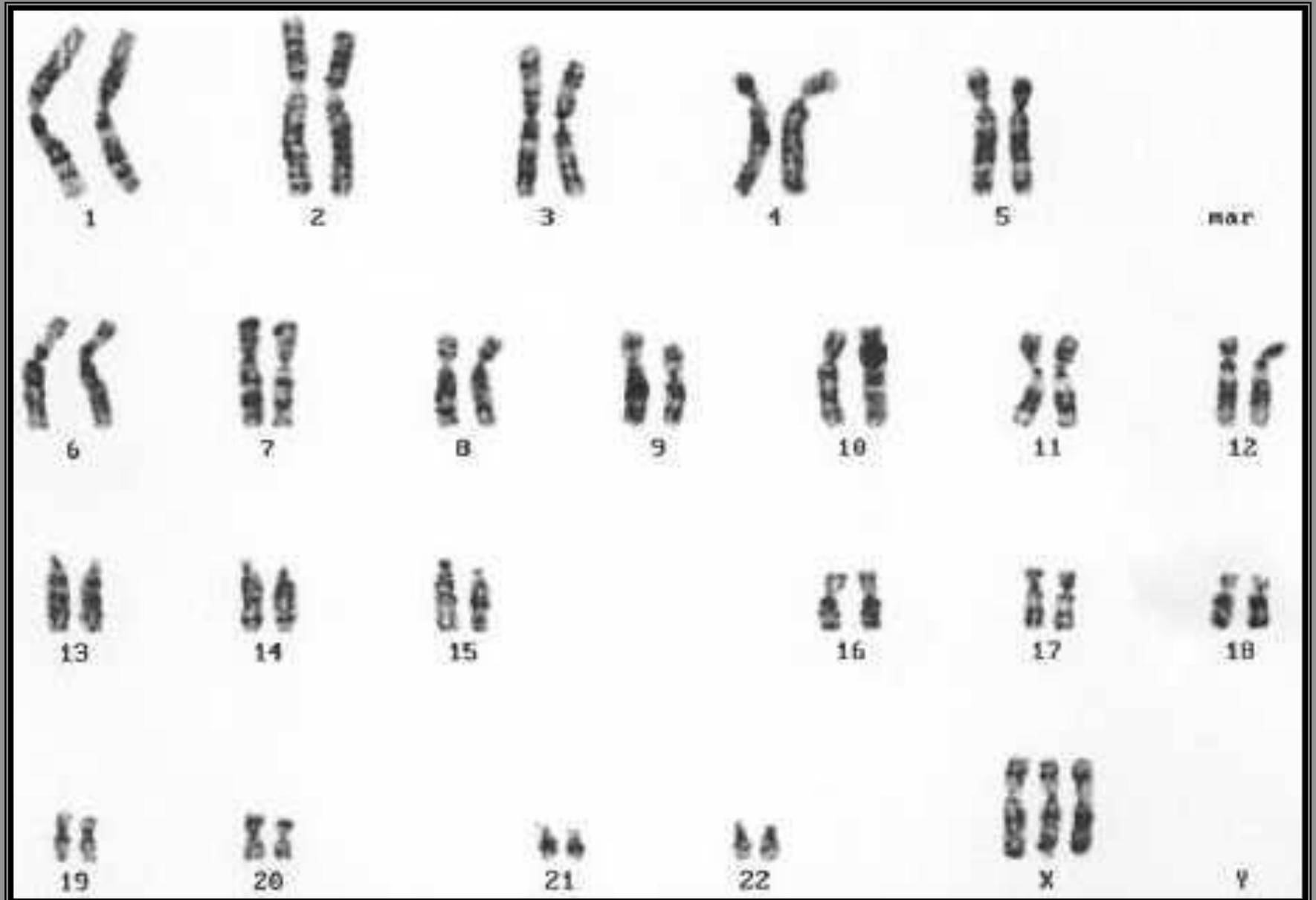
## 2. Síndrome de Klinefelter



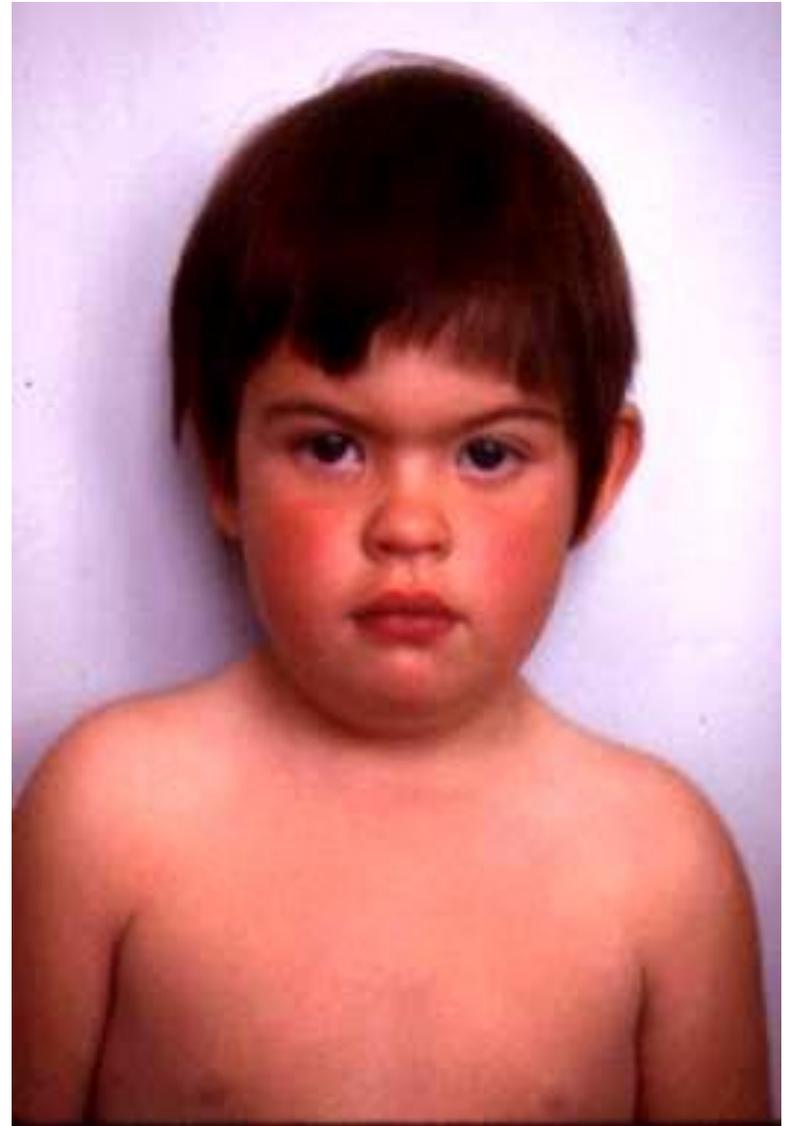
# 3. Síndrome do Triplo X

- Incidência de 1:1.000 RN
- Causa de deficiência mental
- Estatura acima da média
- Puberdade na maior parte das vezes na idade correta, mas pode acontecer precocemente
- Infertilidade

# 47, XXX



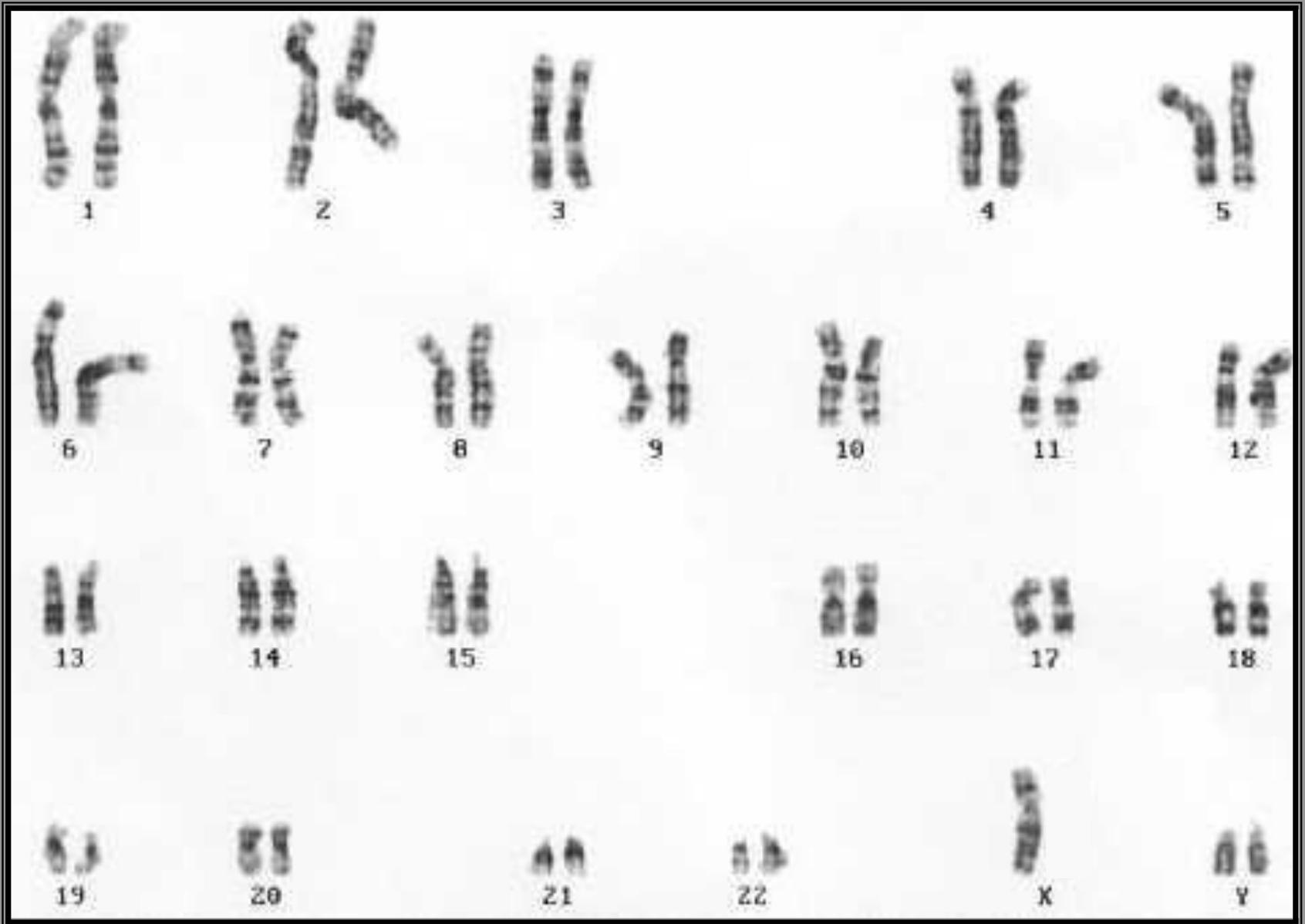
# 3. Síndrome do Triplo X



# 4. Síndrome 47, XYY

- Incidência de 1:1.000 na população geral
- Incidência de até 3% em penitenciárias e instituições para deficientes mentais
- Alta estatura
- Problemas de comportamento e adequação social

# 47, XYY



# 4. Síndrome 47, XYY

