

# CAPÍTULO 3

## Introducción a la Citogenética

*Noelia Nikoloff y Celeste Ruiz de Arcaute*

### **Estructura, función y comportamiento cromosómico**

La citogenética es la rama de la genética que estudia la estructura, número, morfología y comportamiento del ADN que se condensa durante la división celular, con participación de proteínas para formar los cromosomas. Esta ciencia surgió a comienzos del siglo XX para explicar las leyes de Mendel mediante el comportamiento cromosómico por fusión de dos disciplinas, la citología y la genética, heredando de la primera los aspectos cualitativos, físicos y descriptivos, y de la segunda los enfoques cuantitativos y fisiológicos. Desde ese entonces, se ha avanzado en el desarrollo de técnicas y metodologías que brindan valiosos aportes en la resolución de problemas diagnósticos, taxonómicos y evolutivos, entre tantos otros, de diversos grupos animales y vegetales. Adicionalmente, estas tecnologías son ampliamente utilizadas en medicina y, mediante el análisis de tejidos, sangre o médula ósea, se identifican cambios en los cromosomas, como cromosomas rotos, faltantes o adicionales, cambios que pueden ser signo de una enfermedad genética, o de algunos tipos de cáncer. En el presente capítulo se abordará la estructura, función y comportamiento de los cromosomas junto con las anormalidades que pueden presentar.

### **Un poco de historia**

Los cromosomas fueron observados por primera vez en 1842 por el botánico Wilhelm von Nägeli en células vegetales, e independientemente por Edouard Van Beneden en nematodos. En 1882 Walther Flemming publicó las primeras ilustraciones de cromosomas humanos, usando tintes de anilina. Además, estudió el proceso de división celular y la distribución de los cromosomas en el núcleo hermano, proceso que denominó mitosis. En 1888, Gottfried Waldeyer introdujo la palabra cromosoma, proveniente del griego cuyo significado es “cuerpo coloreado”. Sin embargo, una de las contribuciones más importantes para esta disciplina fue hecha por Walter Sutton y Theodor Boveri en 1903 quienes postularon la teoría cromosómica de la herencia, refiriéndose a la localización de los genes en los cromosomas. Luego, Thomas H. Morgan y colaboradores estudiando a *Drosophila melanogaster* sentaron las bases experimentales de

esta teoría, marcando una etapa fundamental para el nacimiento de la citogenética como ciencia independiente.

Durante el siglo XX el mejoramiento de las lentes ópticas, las técnicas de tinción y la mejora en la manipulación de tejidos ayudó a la citogenética a continuar avanzando. En 1924 Levitsky propuso el término cariotipo para referirse al posicionamiento ordenado de los cromosomas. En 1953 James Watson y Francis Crick descubrieron la estructura de la molécula del ADN, dando el primer paso en el conocimiento y el posterior estudio del genoma humano. En el año 1956 Tjio y Levan determinaron el número y estructura de los cromosomas humanos y establecieron lo que hoy en día se conoce como  $2n=46$ . A partir de este momento, las técnicas para la caracterización del cariotipo humano iniciaron un continuo desarrollo en cuanto a su poder de resolución y eficacia.

En 1959 Jérôme Lejeune confirmó que el síndrome de Down (trisomía del cromosoma 21) era consecuencia de una aberración cromosómica, idea que se venía estudiando desde 1932 por Petrus Johannes Waardenburg. También en ese año, se describieron otros síndromes cromosómicos que contribuyeron a la hipótesis de la existencia de cromosomas sexuales: el Síndrome de Turner, presente solo en el sexo femenino, donde hay ausencia total o parcial de un cromosoma X, y el Síndrome de Klinefelter (XXY). Estos hallazgos dieron lugar al descubrimiento de muchos otros síndromes cromosómicos a lo largo de los años.

En 1968 Torbjörn Caspersson, observó que al teñir cromosomas de plantas con quinacrina fluorescente no se coloreaba de manera homogénea todo el cromosoma, sino que producía zonas brillosas y zonas oscuras. Así, se postuló que la quinacrina se une preferencialmente a los residuos de guanina en zonas ricas en G-C produciendo “estriaciones” brillantes. Más adelante, en el año 1971, se desarrollaron técnicas de tinción cromosómica que se basaban en el uso de álcali, pretratamiento salino y tinción de Giemsa, cuyo resultado eran patrones de bandas claras y oscuras (o fluorescentes y no fluorescentes). Esas bandas siguen distintos patrones en cromosomas no homólogos y son iguales solo en cada pareja de cromosomas paterno y materno (aquellos homólogos entre sí). Así surgieron una serie de diferentes tipos de bandeos cromosómicos para uso diagnóstico y/o confirmación de ciertos tipos de alteraciones cromosómicas.

La investigación y el enfoque cromosómico de la citotaxonomía y la evolución han progresado en forma permanente. Desde la última mitad del siglo XX se ha producido un espectacular progreso en el conocimiento sobre el material genético, se han caracterizado los cromosomas y se ha identificado la secuencia completa del genoma de muchas especies. Principalmente en el humano, se han relacionado un gran número de alteraciones de la estructura y secuencia del ADN con todo tipo de enfermedades, tanto hereditarias como no hereditarias (especialmente asociadas a cáncer). Este desarrollo ha venido acompañado por una gran cantidad de técnicas para su estudio, muchas de las cuales se han trasladado a la investigación y la caracterización de la carga genética de los seres humanos, y a su aplicación en la práctica clínica para el diagnóstico de ciertas patologías. Ello ha generado que, además de los estudios moleculares al nivel de identificación de la mutación de un gen, la citogenética convencional se haya ampliado

a la detección de alteraciones extremadamente pequeñas de la estructura del cromosoma, dando lugar a una nueva área de diagnóstico denominada citogenética molecular.

## Cromatina y Cromosomas

En general, los genomas de los eucariotas son más complejos y el ADN se encuentra organizado de forma diferente al de los procariotas. Casi siempre los genomas procariotas contienen cromosomas únicos que normalmente son moléculas circulares. En cambio, los genomas de los eucariotas están compuestos de múltiples cromosomas, cada uno de los cuales contiene una molécula de ADN lineal (Teoría Uninémica) y a pesar de variar el número según la especie, su estructura básica es la misma.

La cromatina, que se encuentra formada por complejos de ADN, ARN, proteínas histónicas y no histónicas, luego de un proceso de compactación forma los cromosomas, visibles sólo durante la división celular. Las proteínas histonas tienen gran cantidad de aminoácidos como arginina y lisina que aportan carga positiva y facilitan su unión al ADN cargado negativamente. Existen 5 tipos importantes de histonas: H1, H2A, H2B, H3 y H4 (Tabla 3.1). Una característica común de todas ellas, en especial la H3 y H4, es que son proteínas conservadas evolutivamente. Adicionalmente, las proteínas no histónicas, denominadas *High-Mobility Group* o HMG (grupo de alta movilidad electroforética) participan en la conformación de la estructura superior de la cromatina y en el control de la expresión génica.

**Tabla 3.1. Tipos de histonas y características de su composición.**

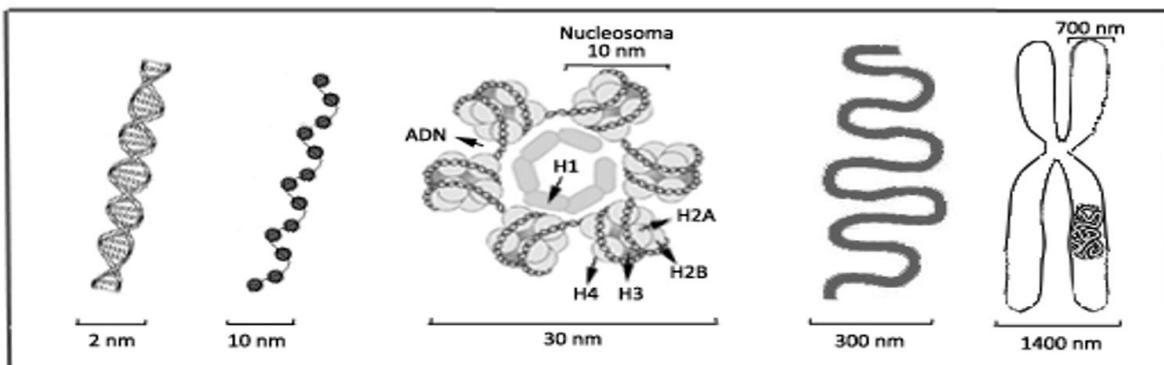
Histonas	Características	Nº de aminoácidos	% de aminoácidos básicos
H1	Rica en lys	213	30
H2A	Rica en lys y arg	129	30
H2B	Medianamente rica en arg	125	24
H3	Rica en arg	135	24
H4	Rica en arg y gly	102	27

La cromatina puede ser principalmente de dos tipos: eucromatina y heterocromatina, esta última a su vez puede ser constitutiva o facultativa. La eucromatina se encuentra sin condensar y distribuida por todo el núcleo en las células en interfase. Durante este periodo los genes se transcriben y el ADN se replica. Alrededor del 10% de la eucromatina que contiene los genes que son transcritos activamente se encuentra en un estado de menor condensación. La condición heterocromática de una región cromosómica se evidencia por la heteropícnosis positiva o

negativa, que se refiere a la tinción mayor o menor, respectivamente, en comparación con la eucromatina. La heterocromatina constitutiva es transcripcionalmente inactiva y contiene secuencias de ADN altamente repetitivas, como aquellas presentes en centrómeros y telómeros. Su condición heterocromática se manifiesta siempre, tanto en interfase como en la división celular. La heterocromatina facultativa corresponde a las zonas que se transcriben según tipo y estado celular, contiene información sobre todos aquellos genes que no se expresan o que pueden expresarse en algún momento, por lo tanto, son zonas que se compactan o descompactan según haga falta su transcripción como por ejemplo el cromosoma X inactivo o corpúsculo de Barr (éste se presenta en las células de las hembras de mamíferos y la inactivación de uno de los cromosomas X es al azar).

La condensación de la cromatina varía a lo largo del ciclo celular. Así, durante el periodo interfásico la mayoría se encuentra sin condensar y distribuida en todo el núcleo, mientras que en la metafase de la mitosis o meiosis alcanza su grado de compactación máxima en forma de cromosomas para luego ser distribuidos a las células hijas, tomando la forma clásica con que se grafican los cromosomas.

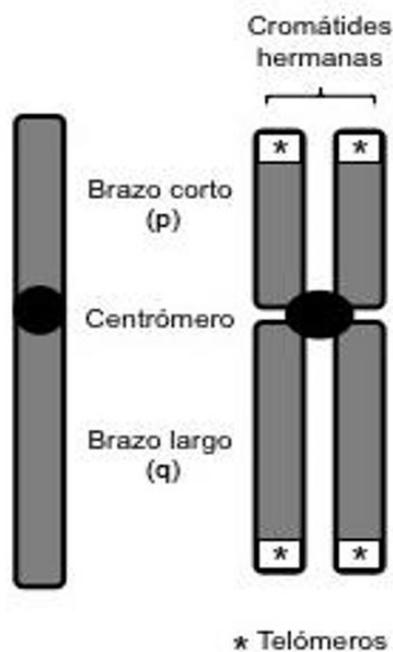
El primer grado de compactación está dado por el propio enrollamiento de la doble hélice de ADN (2 nm). Posteriormente, se forma una fibra de 10 nm de diámetro que recuerda a un collar de perlas. Estas cuentas reciben el nombre de nucleosomas y están constituidos por un octámero de proteínas histonas y ADN. Los nucleosomas están unidos entre sí por un segmento de ADN llamado ADN lazo o *linker* el cual varía de 10 a 80 pb de longitud dependiendo de la especie. Cada nucleosoma contiene alrededor de 146 pares de bases de ADN enrolladas 1,65 veces alrededor de un corazón de histonas (H2A, H2B, H3 y H4), mientras que la histona H1 se encuentra unida a este complejo por fuera del mismo y dando estabilidad a éste. La cromatina se puede condensar aún más enrollándose en fibras de 30 nm llamadas solenoides (estructura similar a un resorte), en el cual las histonas H1 interactúan para lograr este segundo nivel de compactación. Posteriormente, los solenoides forman bucles que se anclan a un esqueleto central de proteínas no histónicas y forman una fibra de 300 nm. Seis bucles forman una estructura retorcida llamada roseta y varias rosetas forman un rodillo. Finalmente, una sucesión de rodillos constituye una fibra de 700 nm, el cromosoma (Figura 3.1).



**Figura 3.1.** Representación esquemática de las distintas etapas de la compactación del ADN.

## Cromosoma: Estructura y función

Los cromosomas se observan durante la metafase, como mencionamos anteriormente, y se observan constituidos por dos cromátidas idénticas o cromátidas hermanas, producidas por duplicación en el periodo replicativo del ADN durante la interfase (período S). A su vez, en estos se puede identificar un brazo corto y otro largo, denominados por convención  $p$  y  $q$ , respectivamente, que se encuentran separados por el centrómero o constricción primaria, la región más estrecha del mismo (Figura 3.2). El centrómero es una región especializada y parte integral del cromosoma, donde se unen las cromátidas hermanas y se encuentra una estructura proteica llamada cinetocoro, donde se une el huso mitótico. En su estructura intervienen tanto proteínas centroméricas como ADN centromérico, el cual se organiza en forma de heterocromatina constitutiva, con regiones pobres en genes y condensado en casi todas las células somáticas de un organismo. Es esencial para el movimiento y segregación normal del cromosoma durante las fases de la mitosis y meiosis, ya que los fragmentos cromosómicos que no poseen centrómero no se unen al huso mitótico y no son incluidos en los núcleos de las células hijas. Posee un comportamiento diferente en la mitosis y en la meiosis. En la anafase mitótica y anafase-II meiótica, las cromátidas hermanas se separan a polos opuestos (*segregación anfitélica*); mientras que en la anafase-I de la meiosis, migran a polos opuestos los cromosomas homólogos completos, cada uno constituido por dos cromátidas hermanas (*segregación sintélica*).



**Figura 3.2.** Estructura cromosómica. \* Telómeros

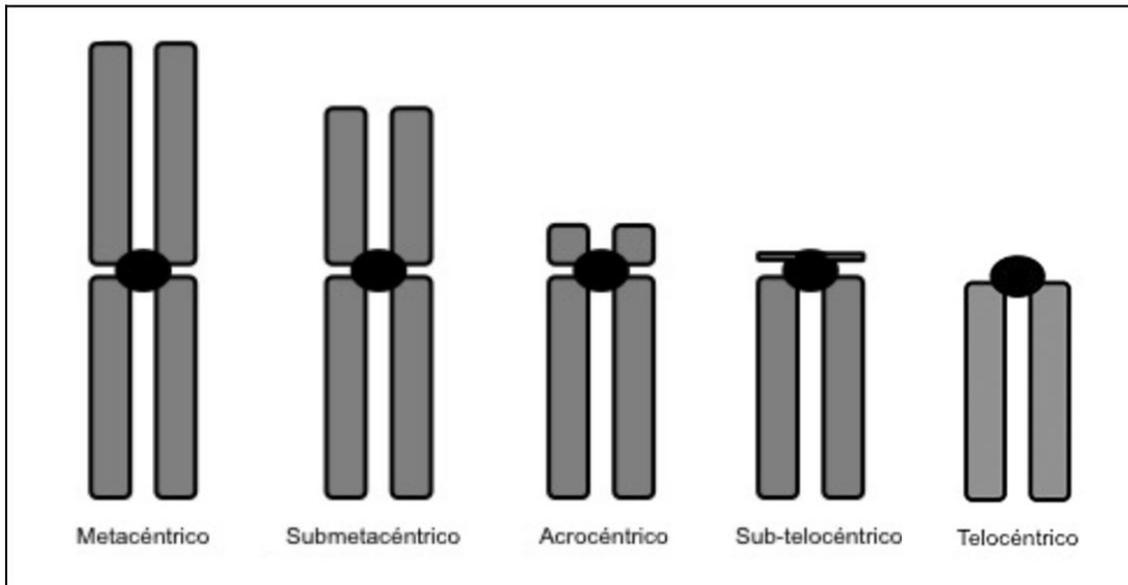
En el proceso de división celular, al centrómero se le une el cinetocoro, que como mencionamos es una estructura proteica ensamblada sobre nucleosomas centroméricos que contienen una forma especializada de histona H3. Los cinetocoros de las células animales pueden

subdividirse en dos regiones, el *cinetocoro interno*, el cual se organiza sobre secuencias de ADN altamente repetido (ADN satélite, rico en AT) y se ensambla en una forma especializada de cromatina que persiste a través del ciclo celular; y el *cinetocoro externo*, el cual posee distintos componentes proteicos dinámicos que se ensamblan durante la división celular. Cuando la inserción de las fibras del huso está restringida a un segmento pequeño del cromosoma, se lo denomina centrómero *localizado*, mientras que si la inserción se realiza sobre toda la extensión del cromosoma, se lo denomina *difuso*. Este último tipo, aunque raro, se ha encontrado en plantas, hongos, algas, musgos y algunos animales como homópteros y heterópteros. Aunque lo normal es que los cromosomas sean monocéntricos, se pueden originar cromosomas dicéntricos como consecuencia de una translocación recíproca asimétrica o una translocación robertsoniana (ver sección *Cambios cromosómicos estructurales*).

Los telómeros son regiones de ADN no codificante, ubicados en los extremos de los cromosomas. No se distinguen de manera visible de otras partes del cromosoma. Están formados por secuencias simples de 100 a 300 kb que contienen grupos de residuos G (en seres humanos, el hexanucleótido TTAGGG). Cumplen importantes funciones, como conservar la integridad del cromosoma (cuando se pierde un telómero, el cromosoma se vuelve inestable, “pegajoso”, y puede fusionarse con los extremos de otros cromosomas rotos y formar anillos -ver sección Alteraciones Cromosómicas-, o degradarse), asegurar la replicación del cromosoma y el mantenimiento de la proliferación celular. Asimismo, ayudan a prevenir la proliferación ilimitada. En cada división celular, los telómeros se acortan de 50 a 100 nucleótidos. La enzima telomerasa es la encargada de mantener la longitud de los mismos (ver capítulo de Citogenética Aplicada para profundizar el concepto de telómeros).

Los cromosomas metafásicos se clasifican de acuerdo a la longitud de los brazos corto (*p*) y largo (*q*), así como por la posición del centrómero en (Figura 3.3):

- **Metacéntricos:** el centrómero se ubica en una posición central, dejando los brazos corto y largo de la misma longitud.
- **Submetacéntricos:** el centrómero se encuentra más próximo a uno de los extremos, siendo el brazo *p* de menor longitud que el brazo *q*.
- **Acrocéntricos:** el centrómero se encuentra cerca de la parte superior del cromosoma, con el brazo corto muy pequeño. Con frecuencia poseen constricciones secundarias en los brazos cortos, formando tallos y satélites. Los tallos contienen genes que codifican ARN ribosómicos.
- **Sub-telocéntricos:** poseen el centrómero ubicado muy próximo a uno de los extremos, dejando diminuto al brazo *p*. No son muy frecuentes.
- **Telocéntricos:** poseen el centrómero ubicado en posición terminal.
- **Holocéntricos u Holocinéticos:** Son cromosomas que carecen de un centrómero localizado. Presentes en muchos invertebrados como nematodos, lepidópteros y escorpiones. También, se encuentran en plantas y protistas.



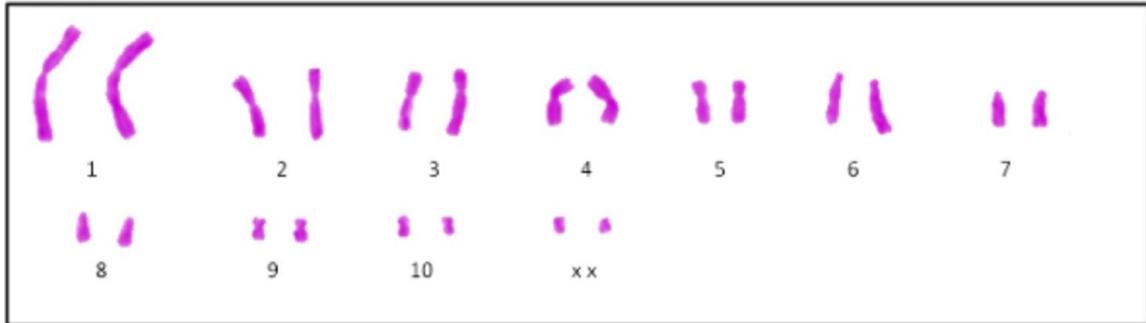
**Figura 3.3.** Representación esquemática de algunas formas de cromosomas de acuerdo a la posición del centrómero.

Los diferentes organismos tienen diferentes números de cromosomas. En la mayoría de las especies las células somáticas durante la mayor parte del ciclo vital presentan dos juegos idénticos de cromosomas, de manera que el número de cromosomas se representa por  $2n$  y se denomina número diploide. A veces se hace referencia nada más al valor  $n$  o haploide. Así, en condiciones normales, las células diploides presentan cada cromosoma repetido, formando  $n$  pares de cromosomas homólogos. El rango de variación del número de cromosomas de especies es muy amplio, pudiendo hallarse especies como el nematodo *Parascaris univalens*, con  $n=1$  o el lepidóptero *Lysandra atlantica*,  $n=217-233$ . Entre las plantas, los números cromosómicos más bajos corresponden a la asterácea *Haplopappus gracilis*,  $n=2$  y entre los más altos se encuentra el helecho *Ophioglossum reticulatum*  $n=720$ . El ser humano posee 23 pares de cromosomas - 22 pares autosómicos y un par de cromosomas sexuales. Cada progenitor contribuye con un cromosoma de sus pares de autosomas y uno del par sexual, de manera que la descendencia obtenga la mitad de sus cromosomas de su madre y la mitad de su padre. Es importante resaltar que no hay una correlación directa entre el número cromosómico y el contenido de ADN, ni el número de cromosomas tiene un significado evolutivo directo.

## Cariotipo

Es la caracterización del complemento cromosómico de una célula, tal como se observa durante la metafase mitótica. El estudio de las características morfológicas externas de los cromosomas incluyendo el número, forma y tamaño, ordenando los cromosomas homólogos según estándares internacionales en relación con su tamaño y forma (Figura 3.4).

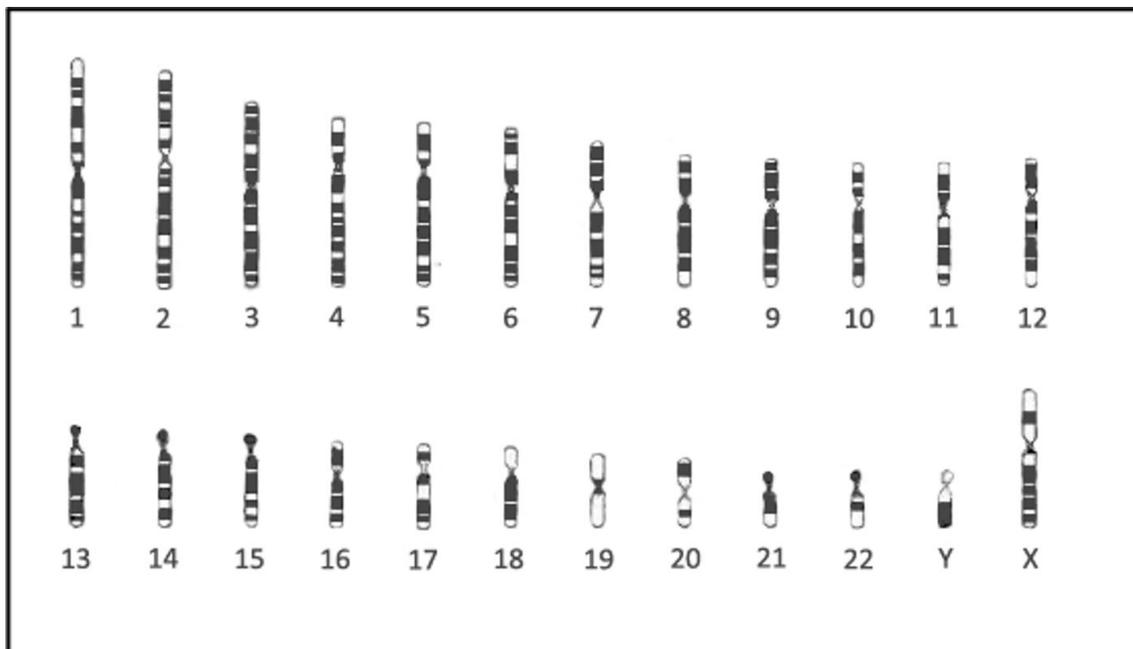
El cariotipo es representativo de cada especie, construida en base a valores como son la longitud relativa y el índice centromérico (relación entre la longitud del brazo corto y la longitud total del cromosoma), entre otras mediciones.



**Figura 3.4:** Cariotipo de hámster  $2n=22$  (Foto original Nikoloff-Ruiz de Aracate).

## Idiograma

Es la representación esquemática del complemento haploide de una especie, ordenado por tamaño, forma y patrón de bandas. Los cromosomas se colocan alineados por el centrómero y con el brazo largo siempre hacia abajo (Figura 3.5).



**Figura 3.5.** Idiograma de *Homo sapiens*.

## Bandeo cromosómico

La aplicación de distintos tratamientos pone en evidencia características de la estructura, organización y composición de los cromosomas, originando una distribución que recibe el nombre de bandeo cromosómico. El bandeo está compuesto por bandas claras y oscuras alternadas, que aparecen por toda la longitud del cromosoma luego de ser coloreados con una tinción. Cada cromosoma presenta un patrón de bandeo único, por lo que es de gran utilidad para identificar los cromosomas en el cariotipo. Las regiones que se tiñen muy densamente están compuestas por heterocromatina con un alto grado de compactación, mientras que las regiones menos teñidas están compuestas de eucromatina, menos compacta, la cual contiene la mayoría de genes activos.

### Tipos de bandeo:

- El bandeo G se ha convertido en el más utilizado y emplea el colorante Giemsa, el cual colorea regiones del ADN ricas en AT. Esta técnica muchas veces requiere un pretratamiento de los cromosomas con una enzima proteolítica como la tripsina.
- El bandeo R requiere el pretratamiento de las células con una solución salina caliente que desnatura el ADN rico en AT. Luego de este paso, los cromosomas son coloreados con Giemsa. El bandeo que muestra es el inverso a las bandas G.
- El bandeo C colorea áreas de heterocromatina, que están densamente empaquetadas y contienen ADN repetido. Los preparados se tratan con álcali moderadamente fuerte (NaOH, Ba(OH)<sub>2</sub>) seguido por solución salina caliente y tinción con Giemsa. El tratamiento degrada el ADN cromosómico y lo extrae selectivamente de las partes eucromáticas del cromosoma, dejando que las zonas heterocromáticas se tiñan intensamente con Giemsa. El nombre de bandeo C se debe a que produce bandas constantes que corresponden a regiones de heterocromatina constitutiva que no se descondensa en interfase, siendo visibles durante todo el ciclo celular y manteniendo su tamaño constante.
- El bandeo Q, es producido por coloración con fluorocromos (quinacrina, acridina, DAPI, cromomicina, etc) y sus derivados, que colorean regiones ricas en AT. Para la observación, es necesario utilizar microscopio de fluorescencia.
- El bandeo NOR (nucleolar organizing región) es un método que revela las regiones organizadoras nucleolares, sitio del cromosoma donde se localizan los clusters de genes ribosomales (ADNr). Es una variante del bandeo C.

## Cromosomas politénicos

En organismos donde se producen rondas sucesivas de replicación del ADN, sin que este se separe, se producen cromosomas gigantes o politénicos. La politenia es un caso ex-

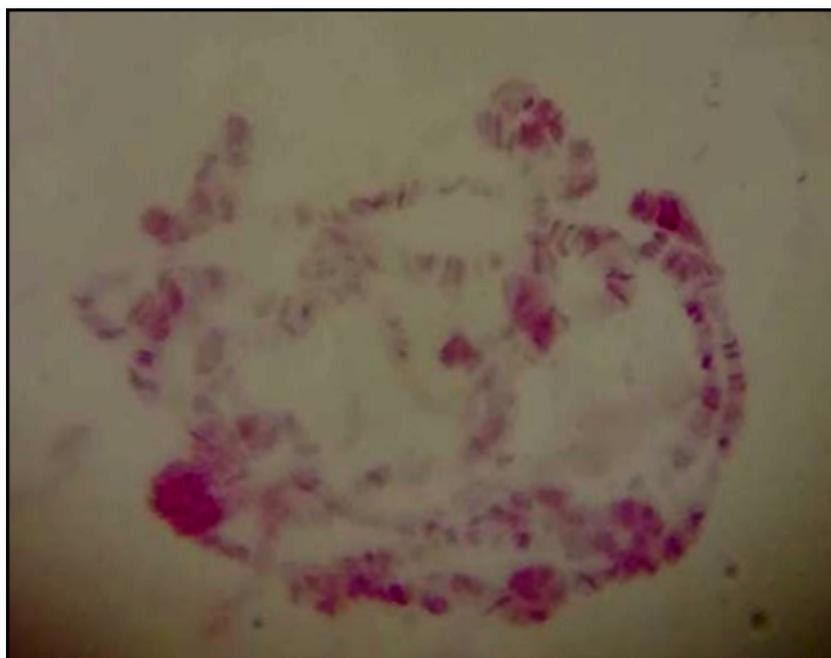
tremo de endorreduplicación, donde en el ciclo de división celular se modifica la alternancia normal de las fases S y M, de manera que luego de una mitosis se producen periodos de síntesis sucesivos. Como consecuencia, los cromosomas politénicos se encuentran conformados por  $2^n$  cromátidas. Debido a la yuxtaposición de las copias de las cromátidas presentes, se observan fácilmente los característicos patrones de bandas, los cuales sirven como marcadores.

La politenia es un mecanismo de amplificación génica dentro de un proceso citogenético de citodiferenciación, por lo cual estos cromosomas pueden formarse en células de tejidos de gran actividad metabólica. Pueden encontrarse en células especializadas de los túbulos de Malpighi, recto, intestino, almohadillas de las patas y glándulas salivales de insectos dípteros y lepidópteros, en trofoblastos de roedores, en protozoos ciliados y en tejidos como el saco embrionario y haustorios de algunas plantas. El ejemplo más estudiado son las glándulas salivales de *Drosophila melanogaster* (Figura 3.6). Su número cromosómico es  $2n=8$ , formado por el par 1 (sexual), par 2 y 3 autosómicos, grandes y submetacéntricos y el par 4, autosómico y subtlocéntrico. Aun así, en los órganos especiales que poseen cromosomas politénicos solo podemos observar cuatro cromosomas. Durante la formación de las glándulas salivales, las células se dividen hasta alcanzar un número aproximado de 125 células por glándula. A partir de este momento las células no se dividen más y aumentan de tamaño por el proceso de endorreduplicación, momento que coincide con la eclosión de la larva. Durante el proceso de replicación, los miembros de cada par de homólogos se unen de forma inesperada, quedando los 4 cromosomas unidos por una estructura llamada *cromocentro*, la cual es una fusión de los centrómeros de las cuatro cromátidas. Esto le da a los cromosomas politénicos un aspecto de “estrella de mar”. En *D. melanogaster*, hay cinco brazos claramente visibles y un sexto corto, difícil de diferenciar del cromocentro. Cada brazo de la “estrella de mar”, corresponde a un par de brazos cromosómicos homólogos íntimamente apareados, siendo así los brazos 2R y 2L, 3R y 3L y el par sexual XX o XY. El sexto brazo, muy corto, corresponde al apareamiento del par de homólogos puntiformes (Figura 3.6). En estos cromosomas, se emplean las letras R y L para referirse al brazo derecho (*right*) e izquierdo (*left*), y se asignan de forma arbitraria. Es importante destacar que en otros géneros de dípteros los cromosomas politénicos se encuentran sueltos, sin cromocentro.

Si bien el patrón de bandas es esencialmente constante, a lo largo del desarrollo determinadas bandas pueden cambiar su morfología, observándose zonas más o menos difuminadas y abultadas denominadas *puffs*. Estos se forman por desenrollamiento de la cromatina correspondiente a los cromómeros, siendo que en la mayoría de los casos cada *puff* se origina a partir de una sola banda y su interbanda adyacente. Su tamaño es variable y representan la expresión de los genes, ya que se ha demostrado la relación entre la presencia o ausencia de *puffs* y la actividad o inactividad génica. Los mismos han sido observados con mayor frecuencia en fases particulares del desarrollo, como en momentos previos a las mudas,

en ciertos tejidos, asociados a la expresión de genes específicos y también hasta inducidos por tratamientos experimentales.

Los cromosomas politénicos, al tener un tamaño mayor que el de los cromosomas normales, pueden ser observables al microscopio óptico en interfase, lo que los convierte en un material idóneo para estudiar citológicamente la expresión génica. Asimismo, el patrón de bandas que poseen es constante, lo cual permitió construir mapas citológicos y ofrecen oportunidades para estudiar el control de la síntesis de ADN debido a la independencia de las unidades de replicación, lo que se manifiesta en una falta de uniformidad en el nivel de politenización de determinadas regiones cromosómicas.



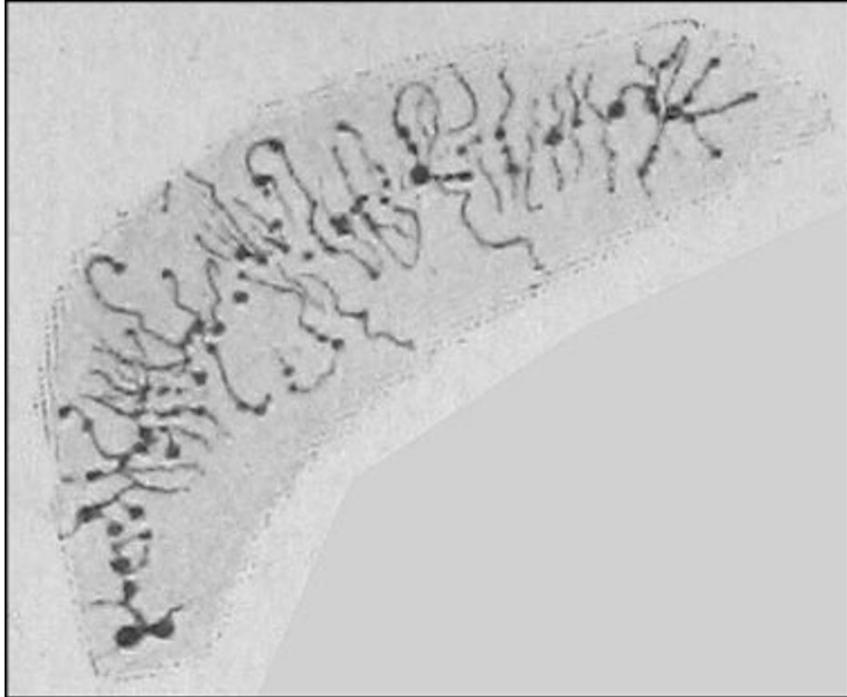
**Figura 3.6.** Cromosomas politénicos (Foto original Cátedra de Genética-FCNyM).

### Cromosomas plumosos

Los cromosomas plumosos también llamados plumulados o en escobilla son un tipo especial de cromosomas característicos de la fase diplotene de la meiosis en oocitos de muchas especies animales. Son cromosomas descondensados que muestran por parejas lazos característicos que son activos en la síntesis de ARN como consecuencia de la transcripción génica. Estos tipos de cromosomas han sido ampliamente estudiados en oocitos de anfibios, aunque también se pueden encontrar en espermatozoides de insectos y mamíferos, así como en células meióticas de algas, hongos y plantas.

Se denominan “plumosos” por su semejanza a los cepillos cilíndricos o “limpiatubos” (Figura 3.7). Poseen una gran longitud (25 a 80 veces mayores a los cromosomas mitóticos), siendo los más grandes los de oocitos de tritones (*Triturus* sp.) y salamandras (*Salamandra* sp.), de 1

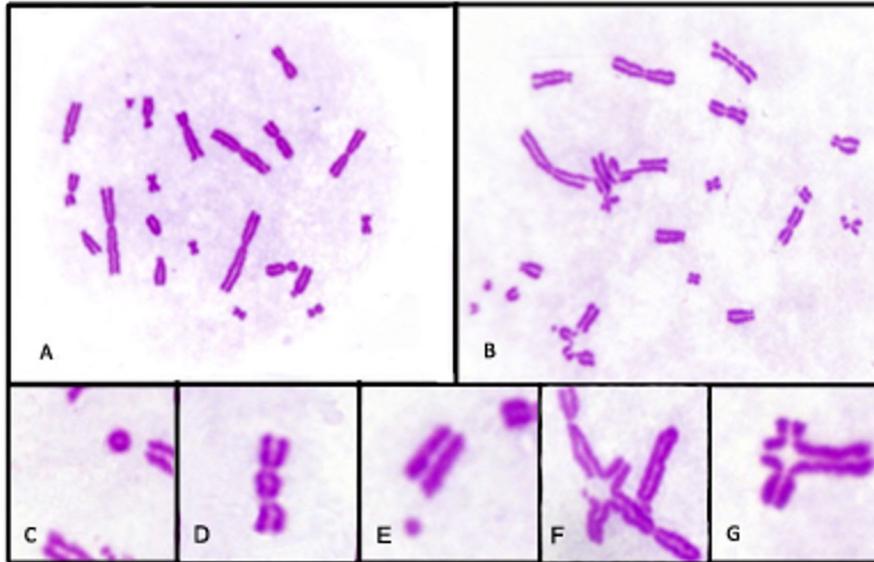
mm de longitud. Debido a su estructura frágil no pueden ser estudiados empleando las técnicas convencionales de aplastamiento (squash) o corte. Los cromosomas plumosos aparecen asociados por parejas por medio de los quiasmas.



*Figura 3.7. Cromosoma plumoso de Tritón.*

## Alteraciones del material genético

Las alteraciones del material genético pueden ocurrir en dos niveles: *génico* por sustitución, delección o inserción de bases o cromosómico. Pueden ser inducidas por distintos agentes químicos, físicos o biológicos. Las alteraciones cromosómicas pueden afectar tanto el número como la estructura del complemento cromosómico de un individuo (Figura 3.8). En general, las alteraciones cromosómicas se originan por errores durante el proceso de división celular en el caso de alteraciones numéricas o errores durante la interfase del ciclo celular cuando hablamos de alteraciones estructurales. Dichas alteraciones pueden ocurrir tanto en células somáticas como germinales, si ocurren en estas últimas pueden llegar a ser transmitidas a la descendencia, generando anomalías congénitas y consecuencias negativas a la salud.



**Figura 3.8.** A. Metáfase de cultivo de células de ovario de hámster chino (CHO-K1). A. Normal; B. Aberrante; C. Anillo; D. Cromosoma dicéntrico; E. Fragmento acéntrico; F. Intercambio; G. Intercambio de cromátida cuadrirradial (Fuente: Cátedra de Citología. FCNyM.UNLP).

## Cambios cromosómicos numéricos

Implican la ganancia o pérdida de uno o varios cromosomas completos, y afectan al número cromosómico normal de una especie. Se define como Heteroploidía a cualquier alteración en el número cromosómico normal de una especie dada. Dentro de ella se consideran las siguientes alteraciones:

### a) Euploidía:

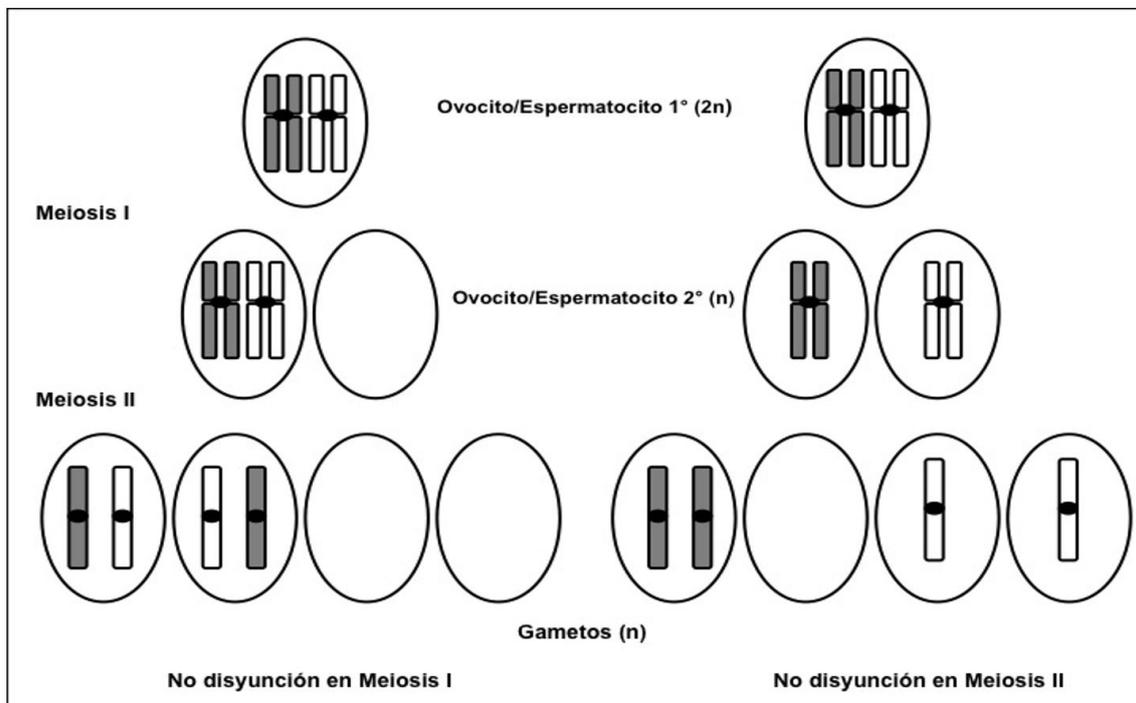
Cambio en el número de dotaciones completas de los cromosomas. Algunas de las causas que pueden dar origen a este tipo de anomalías son alteraciones durante la mitosis, como una falla en la membrana nuclear que no se desintegra (endomitosis), en el huso mitótico que es defectuoso o no existe (C-mitosis), falla en la fase S del ciclo donde cada cromosoma se duplica más de una vez entre dos mitosis (endorreduplicación) luego de varios ciclos el cromosoma se encuentra formado por 8 o 16 cromátidas, falla en la separación de los polos del huso generando núcleos con forma de pesa de gimnasio (restitución), falla en el centrosoma dividiéndose más de una vez y formando husos multipolares (mitosis multipolares) o puede ocurrir una constricción directa del núcleo sin que haya condensación y segregación cromosómica dando como resultados dos células hijas desiguales (amitosis). Podemos clasificar a las euploidías en:

- I. Monoploidías o Haploidías: los organismos presentan un solo juego de cromosomas. Algunos ejemplos de organismos haploides ( $n$ ) están conformados por algas y hongos en la mayor parte de su vida. Otro ejemplo son los gametos, óvulos y espermatozoides.

- II. Poliploidías: los organismos, por duplicación del complemento somático entero, presentan más de una dotación cromosómica. Por ejemplo organismos triploides ( $3n$ ), tetraploides ( $4n$ ), pentaploides ( $5n$ ). Es muy común en plantas.

**b) Aneuploidía:**

El número de cromosomas difiere por pérdida o ganancia de uno o más cromosomas con respecto a la dotación normal de un individuo. Puede suceder tanto en autosomas como en cromosomas sexuales y pueden originarse por falla de los cromosomas homólogos o cromátidas hermanas de migrar a los polos opuestos durante la división celular, por no disyunción en mitosis, meiosis I o II (Figura 3.9) o por la presencia de cromosomas rezagados en la anafase (*anafase lag*) que quedan excluidos del núcleo.



**Figura 3.9.** Representación esquemática de un evento de no disyunción en meiosis I y meiosis II. En una meiosis normal, se espera que todos los gametos formados sean  $n$ . Una no disyunción en meiosis I origina dos gametos disómicos y dos nulisómicos (100% gametos anormales). Una no disyunción en meiosis II origina dos gametos normales,  $n$ , un gameto disómico y uno nulisómico (50% gametos normales, 50% gametos anormales).

Podemos clasificar a las aneuploidías en Hipodiploide o Hiperdiploide.

Dentro de Hipodiploide podemos mencionar algunos ejemplos:

- I. Monosomía: organismos a los que les falta un cromosoma completo. Su dotación es  $2n-1$  cromosomas. Se produce este caso cuando un gameto irregular ( $n-1$ ) se une con un gameto normal y forma un cigoto  $2n-1$ , por ejemplo en el humano Síndrome de Turner, pérdida de un cromosoma X ( $45, X$ ).
- II. Nulisomía: organismos que carecen de un par de cromosomas homólogos. Su dotación cromosómica es  $2n-2$ .

Dentro de Hiperdiploide encontramos a las Polisomías, cuando un organismo tiene más de dos cromosomas por juego, podemos mencionar algunos ejemplos:

- I. Trisomía: se originan cuando un cromosoma se duplica tres veces. Su dotación cromosómica es  $2n+1$ . En la doble trisomía, este evento sucede dos veces en dos cromosomas distintos (dotación  $2n+1+1$ ). Por ejemplo: Síndrome de Down trisomía del cromosoma 21 ( $47, XX, + 21$ ;  $47, XY, + 21$ ); Síndrome de Klinefelter los individuos tienen un cromosoma X extra ( $47, XXY$ ).
- II. Tetrasomía: se originan cuando un cromosoma se duplica cuatro veces, teniendo cuatro copias del mismo cromosoma. En ocasiones las copias no son del cromosoma completo pero si de una fracción del mismo. Su dotación cromosómica es  $2n+2$ . Ejemplo: Síndrome del ojo de gato, es una alteración en la que hay 4 copias de un fragmento del cromosoma 22 humano.

### c) Mixoploidía o mosaico:

Tejido o célula que presenta un número de cromosomas distinto al que tienen los restantes tejidos o células de su entorno. Puede ocurrir por eventos de no disyunción o *anafase lag* durante la embriogénesis. La mixoploidia es muy común en plantas.

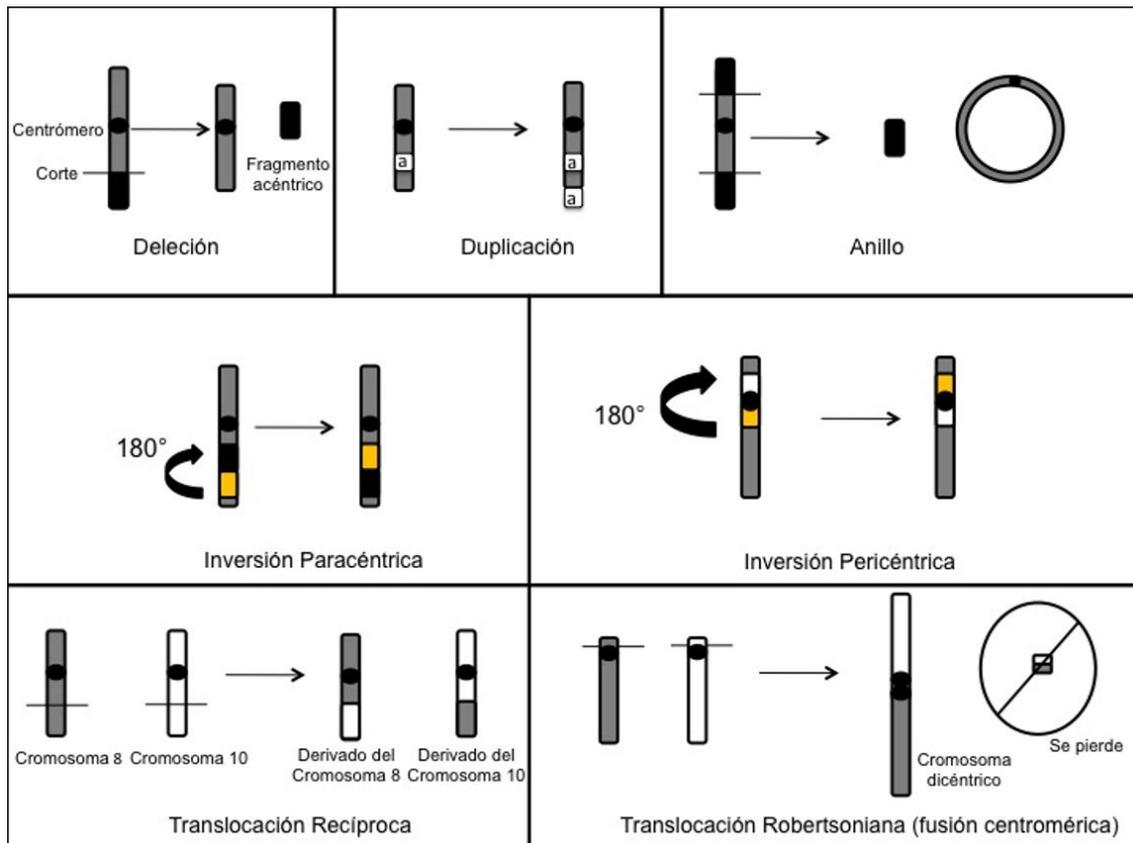
En ciertos organismos existen cambios en el número cromosómico que son generados por otros mecanismos como es la hibridación. Un **híbrido** es un organismo animal o vegetal que procede del cruce mediante la reproducción sexual de dos organismos de distintas especies o subespecies. La hibridación es rara en animales pero se pueden presentar casos, por ejemplo, en grupos de peces y anfibios. Sin embargo, en plantas tiene una función importante en la evolución. La poliploidía en helechos y angiospermas es considerada un fenómeno asociado a la hibridación y por lo tanto se interpreta como una evidencia de que esta última ha desempeñado un papel crucial en la historia filogenética de muchas plantas.

## Cambios cromosómicos estructurales

Podemos clasificar a las alteraciones estructurales en intracromosómicas e intercromosómicas. Las primeras ocurren cuando los cortes ocurrieron en el mismo cromosoma como deleciones, duplicaciones, anillo e inversiones. Las alteraciones intercromosómicas ocurren cuando hay intercambio de material entre dos cromosomas como en el caso de las translocaciones, translocaciones robertsonianas y cromosomas dicéntricos (Figura 3.10).

- a) **Delección:** Se pierde un segmento cromosómico que puede ser intersticial o terminal, por ejemplo en humanos el Síndrome de Angelman ocurre por delección de una región del cromosoma 15.
- b) **Duplicación:** Cuando una parte del cromosoma se duplica y el mismo queda con un segmento extra. Las duplicaciones pueden tener importancia a nivel evolutivo.

- c) **Anillo:** Ocurre cuando existen dos sitios de ruptura en los extremos de un mismo cromosoma y los brazos se unen dando origen a un cromosoma circular. Las repercusiones en el fenotipo son variables.
- d) **Inversión:** Se produce cuando el orden lineal de un segmento cromosómico se invierte 180° tras haberse producido dos fracturas en un cromosoma. Cuando el segmento invertido incluye al centrómero constituye una inversión pericéntrica, y cuando no lo incluye constituye una inversión paracéntrica. Las inversiones pueden tener importancia a nivel evolutivo, por ejemplo, inversiones en una región del cromosoma 3 de la mosca *Drosophila pseudoobscura* a lo largo de varias generaciones resultaron adaptativamente beneficiosas para la supervivencia en un determinado hábitat. Por el contrario, se puede perder la función de un gen si la inversión ocurre en una región que lo divide en dos partes.
- e) **Translocación:** Se trata de un reordenamiento por intercambio de segmentos de cromosomas dentro del complemento cromosómico. Este reordenamiento puede darse dentro de un mismo cromosoma (translocaciones internas) o que un segmento pase a otro cromosoma, dando intercambios. Estos últimos pueden ser recíprocos, cuando se da un intercambio de material genético entre dos cromosomas distintos (translocación recíproca) o no recíprocos, cuando el traspaso ocurre sólo en una dirección (translocación no recíproca o inserción). Un tipo común de translocación son las **translocaciones robertsonianas:** Se da el intercambio de brazos enteros de cromosomas. Pueden ocurrir por fusión centromérica (unión de dos cromosomas acrocéntricos), lo que reduce el número de cromosomas totales o por fisión centromérica (un cromosoma submetacéntrico o metacéntrico se separa en dos), en cuyo caso el número de cromosomas se ve aumentado. Ejemplo de esta alteración es la translocación robertsoniana 1/29 que se da en el bovino, donde el cromosoma 1 se fusiona con el 29 y así se reduce el número cromosómico de la especie.
- f) **Dicéntricos:** es un cromosoma que posee dos centrómeros. Es un reordenamiento desbalanceado y son muy inestables a menos que uno de los dos centrómeros esté inactivo, o ambos estén tan cerca que puedan actuar como uno solo.
- g) **Dobles diminutos:** aparecen como fragmentos muy pequeños y generalmente en parejas. Pueden indicar deleciones intersticiales, o estar asociados a procesos de amplificación (onco)génica.
- h) **Isocromosoma:** Falla en la separación longitudinal de las cromátidas que se separan transversalmente. Los brazos del isocromosoma resultante son genéticamente idénticos entre sí. En el caso de un cromosoma submetacéntrico, las cromátides resultantes son asimétricas, una formada por dos brazos largos y otra por dos brazos cortos.



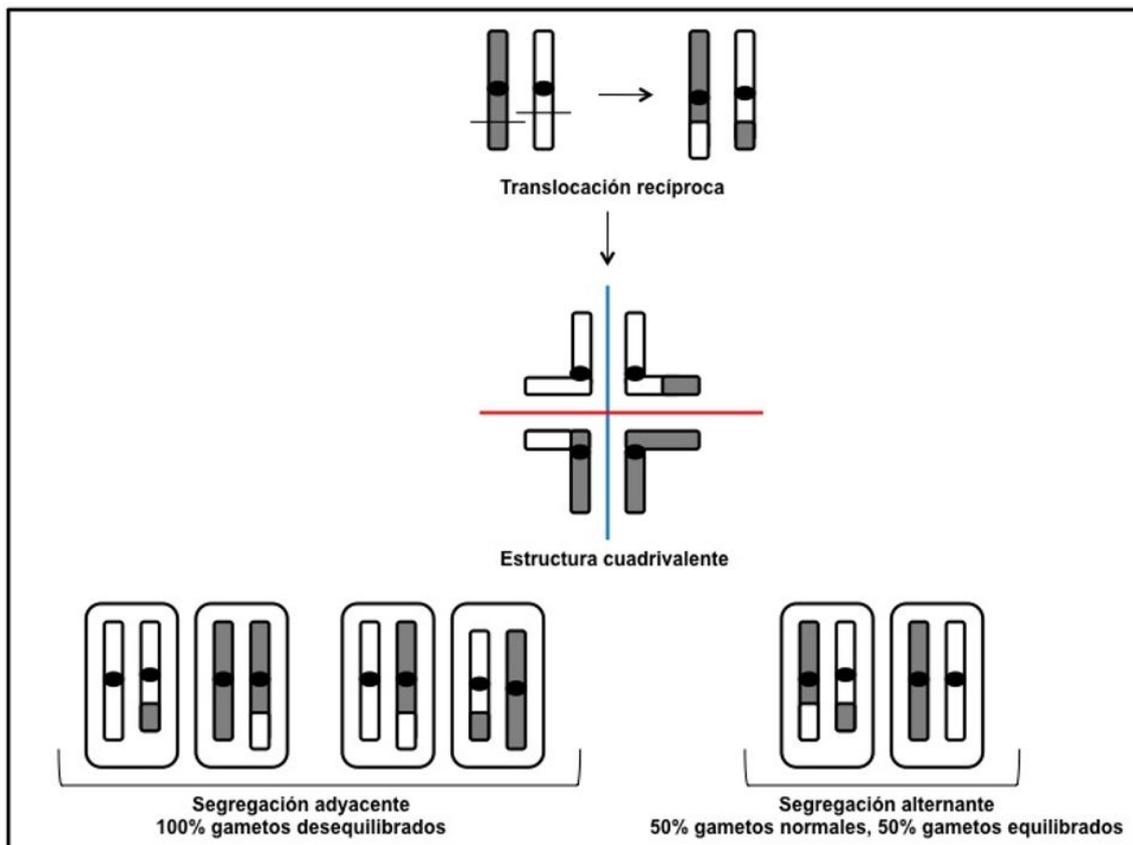
**Figura 3.10.** Alteraciones cromosómicas estructurales.

Cuando la reorganización no produce pérdida ni ganancia de material cromosómico se dice que la anomalía es equilibrada. En general, no hay efecto en el fenotipo pero existe riesgo de generar gametos desequilibrados como es el caso de inversiones y translocaciones recíprocas. Por otro lado, cuando la reorganización es desequilibrada provoca pérdida o ganancia de material cromosómico y normalmente hay efectos fenotípicos severos. Es el caso de deleciones y duplicaciones.

Durante la meiosis, los cromosomas homólogos tienen que alinearse para poder llevar a cabo el alineamiento, crossing over y segregación. Si uno o ambos poseen alguna alteración estructural, pueden modificar este apareamiento de diversas maneras dependiendo de la anomalía presente en ellos. Por ejemplo:

- Un cromosoma con una inversión paracéntrica adopta una estructura en bucle para poder alinear sus regiones con su homólogo. Si ocurre un evento de recombinación en el bucle el resultado va a ser que uno de los cromosomas va a ser dicéntrico y el otro un fragmento acéntrico. Por lo tanto, las gametas van a llevar alteraciones estructurales desequilibradas.
- Un cromosoma con una inversión pericéntrica forma también el bucle, pero una recombinación en el asa dará lugar a dos cromosomas normales (con un centrómero) pero con alteraciones de duplicaciones y deleciones y las gametas también serán desequilibradas.

- c) Cromosomas con translocación recíproca equilibrada (no hay pérdida, ni ganancia de material genético, individuo normal) para que puedan segregarse correctamente en la meiosis han de alinearse en una estructura llamada cuadrivalente (involucra cuatro cromosomas). En este caso la segregación puede ser de dos maneras: adyacente, donde el 100% de las gametas van a estar desequilibradas, o alternante, donde el 50% de las gametas serán normales y el 50% equilibradas (Figura 3.11).



**Figura 3.11.** Representación esquemática de la estructura cuadrivalente formada en la meiosis debido a una translocación recíproca.

## Mecanismos de determinación sexual

En la naturaleza se encuentran al menos dos mecanismos de determinación sexual:

1. La *determinación genética del sexo*, mediante el cual uno o varios genes determinan que el embrión se desarrolle como macho o hembra. Pueden encontrarse:
  - a. Heterogamia: es la más común de los sistemas de determinación cromosómica, existen cromosomas heteromorfos, es decir, cromosomas sexuales diferentes, en forma y tamaño, en machos y hembras. La heterogamia puede ser

masculina (XY), como en el caso de mamíferos, nematodos, moluscos, equinodermos y la mayor parte de los artrópodos o femenina (ZW), como en las aves, lepidópteros, reptiles y algunos anfibios. También se observa heterogamia masculina en el sistema determinado por la proporción de cromosomas X respecto de la proporción de cromosomas autosómicos, como en dípteros (*Drosophila sp.*). En esta especie, el cromosoma Y es indispensable para que los machos tengan espermatogénesis. En la mayoría de los anfibios, reptiles y peces los cromosomas sexuales no son detectables citológicamente. En anuros se dan los dos tipos de determinación XX-XY y ZW-ZZ. Ocasionalmente pueden encontrarse los dos tipos de determinación cromosómica en una misma especie, como en *Glandirana rugosa*. En el hombre el cromosoma Y es más pequeño que el X. En función de la localización de los genes en estos cromosomas, se conoce la herencia ligada al sexo (ligada al cromosoma X) y la herencia holándrica (herencia ligada al cromosoma Y).

En plantas también se da la existencia de cromosomas sexuales, como es el caso de la hepática *Sphaerocarpus donnelii*, donde en los gametos femeninos hay un cromosoma X grande y en el masculino un Y pequeño, en briofitas y algas como *Saccorhiza polyschides*. En angiospermas, se han observado cromosomas sexuales en *Cannabis sativa*, *Melandrium album*, entre otras.

- b. Haplodiploidía (arrenotoquia): Este método de determinación sexual no depende de cromosomas sexuales, aunque machos y hembras poseen diferente constitución cromosómica. Los machos son haploides (se originan a partir de huevos no fertilizados, partenogénicamente por arrenotoquia) y las hembras diploides (se originan a partir de huevos fertilizados). La determinación puede ser ambiental, basada en la fertilización; o puede ser genotípica si está basada en el nivel de ploidía u otro. Se da dentro de algunos órdenes de insectos, como himenópteros, homópteros, tisanópteros y coleópteros.
  - c. Determinación polifactorial (poligenética): la determinación del sexo está dada por la interacción de muchos factores. Este sistema se observa en peces.
2. La *determinación ambiental del sexo*, en la cual mediante algún factor ambiental (generalmente la temperatura) se determina el sexo del embrión. Se da principalmente en algunos reptiles, como todos los cocodrilos, la mayoría de las tortugas y algunos lagartos, la temperatura de incubación de los huevos durante un periodo crítico en el desarrollo embrionario es clave para determinar el sexo. Asimismo, participan también el nivel nutricional de la madre y el fotoperiodo.

## Ejercicios

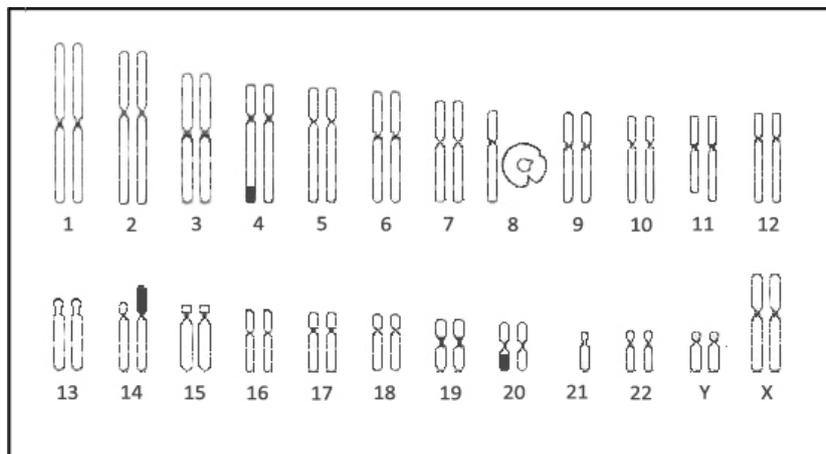
1. El número cromosómico de *Raphanus sativus* (rábano) es  $2n=18$ . indique la alteración cromosómica presente si el número de cromosomas en una célula es:

- |       |       |
|-------|-------|
| a) 36 | d) 20 |
| b) 17 | e) 16 |
| c) 9  | f) 27 |

**Resolución:** a) Tetraploidía  $4n=36$ ; b) Monosomía  $2n-1=17$ ; c) Monoploidía  $n=9$ ; d) Trisomía  $2n+2=20$  o doble Trisomía  $2n+1+1=20$ ; e) Nulisomía  $2n-2=16$  o doble Monosomía  $2n-1-1=16$ ; f) Triploidía  $3n=27$

2. Grafique el cariotipo de un hombre con las siguientes anomalías:

- Deleción en el brazo largo del cromosoma 11
- Translocación recíproca balanceada entre los cromosomas 4 y 20
- Cromosoma 8 en anillo
- Translocación robertsoniana entre cromosomas 14 y 21



3. ¿Cuántas cromátidas hay en las siguientes células o estadios celulares si  $2n=28$ ?

- a) Fin de la meiosis I
- b) Metafase meiosis I
- c) Telofase meiosis II
- d) Metafase de la mitosis
- e) Telofase de la mitosis

**Resolución:** a) 28; b) 56; c) 14; d) 56; e) 28

## Referencias

- Aiassa, D., Bosch, B., Gentile, N., Mañas, F. & Gorla, N. (2015). *Manual Citogenética: Teoría y Práctica*. 1ra Edición. Editorial Cepyd, Córdoba.
- Bureš, P., Zedek, F., & Marková, M. (2013). Holocentric chromosomes. In *Plant genome diversity volume 2*. Springer, Vienna, pp. 187-208
- Cooper, G., Hausman, R. (2007). *La célula*. 3ra edición. Marban.
- Ferguson-Smith, M. A. (2015). History and evolution of cytogenetics. *Molecular cytogenetics*, 8(1), 19.
- Flores Franco, G., Vega Flores, K., Aguirre López, R., Valencia Ávalos, S. (2016). Hibridación y poliploidía en plantas. *Ciencias*, núm. 120-121, pp.76-85.
- Gersen, S. L. (2013). History of clinical cytogenetics. In *The Principles of Clinical Cytogenetics*. Springer, New York, pp. 3-8.
- Griffiths, A. J. F., Gelbart, W. M., Miller, J. H. & Lewontin, R. C. (2004). *Genética Moderna*. McGraw-Hill. Interamericana, España.
- Griffiths, A. J. F., Miller, J. H., Suzuki, D., Lewontin, R. C. & Gelbart, W. (1995). *Introducción al análisis genético*. 5ta edición. McGraw-Hill Interamericana, España.
- Lacadena, J. R. (1996). *Citogenética*. Editorial Complutense, Madrid.
- Paweletz, N. (2001). Walter Flemming, Pioneer of Mitosis Research. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2, 72-75.