

# CITOGENÉTICA & CARIOTIPAGEM HUMANA

CYTOGENETICS AND HUMAN KARYOTYPING

CITOGENÉTICA Y EL CARIOTIPO HUMANO

**Tiago Fernando Chaves**

tiagochavo@msn.com

**Leandro Sidinei Nicolau**

leandro\_nicolau@hotmail.com

## RESUMO

O termo Citogenética refere-se a todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação quanto à sua variação e evolução, independentemente dos estágios de condensação ou associação com proteínas histonas e não histonas. No desenvolver histórico da Citogenética, cabe destacar dois períodos. O primeiro período, a Citogenética Clássica, teve seu início em 1902, a partir da hipótese formulada por Boveri e Sutton. Segundo tal hipótese, os fatores responsáveis pela transmissão de características estavam localizados nos cromossomos. Com a incorporação de técnicas e metodologias moleculares, iniciou-se um segundo período: o da Citogenética Molecular. Nesse período, houve um aumento da resolução das análises cromossômicas e a especificidade do diagnóstico. Isso possibilitou a elevação do nível de sensibilidade na detecção de aberrações cromossômicas por meio das técnicas de bandeamento e, mais recentemente, da hibridização *in situ* por fluorescência (FISH). Atualmente, a análise cromossômica com resolução e altíssimo grau de precisão é um procedimento diagnóstico cada vez mais importante em várias áreas da medicina clínica. É muito utilizada para correlacionar determinadas patologias com alterações do cariótipo normal.

**Palavras-chave:** Citogenética. Cariótipo. Cariotipagem humana. Bandeamentos cromossômicos. Cultivo de células animais.

**ABSTRACT**

The term Cytogenetics refers to all and any study relating to chromosome alone or together, condensed or distended, as regards both its morphology, organization, function, and replication for its variation and evolution, regardless of the stages of condensation or association with histone and no histone proteins. In the developing history of Cytogenetic, two periods can be highlighted. The first period, the Classical Cytogenetics, had its beginning in 1902, from the hypothesis formulated by Boveri and Sutton. According to this hypothesis, the factors responsible for the transmission of characteristics were located on chromosomes. With the incorporation of molecular techniques and methodologies, a second period started: the Molecular Cytogenetics.

In this period, there was an increase in the resolution of chromosomal analyzes and the specificity of the diagnosis. This enabled to increase the level of sensitivity in the detection of chromosomal aberrations by means of techniques of banding and, more recently, by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). Currently, chromosomal analysis with resolution and very high degree of accuracy is a diagnostic procedure increasingly important in several areas of clinical medicine. It is very used to correlate certain pathologies with changes of normal karyotype.

**Key words:** Cytogenetics. Karyotype. Human karyotyping. Chromosomal bandings. Cultivation of animal cells.

**RESUMEN**

El término Citogenética se refiere a todos y cualquier estudio sobre el cromosoma aislado o en conjunto, condensado o distendido, tanto en lo que respecta a su morfología, organización, función y replicación respecto a su variación y evolución, independientemente de las etapas de condensación o asociación con proteínas histonas y no histonas. En el desarrollo histórico de la Citogenética, cabe señalar dos períodos. El primer período, la citogenética clásica, tuvo su inicio en 1902, a partir de la hipótesis formulada por Boveri y Sutton. Según esta hipótesis, los factores responsables por la transmisión de características están ubicados en los cromosomas. Con la incorporación de técnicas y metodologías moleculares, se inició un segundo período: el de la Citogenética Molecular. Durante este período, se produjo un aumento en la resolución de análisis cromosómico y en la especificidad del diagnóstico. Eso permitió incrementar el nivel de sensibilidad en la detección de aberraciones cromosómicas por medio de técnicas de bandeos y, más recientemente, mediante hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH). Actualmente, el análisis cromosómico con resolución y con muy alto grado de precisión es un procedimiento de diagnóstico cada vez más importante en varias áreas de la medicina clínica. Es muy usado para correlacionar algunas patologías con cambios de cariotipo normal.

**Palabras-clave:** Citogenética. Cariotipo. Cariotipo humano. Bandeos cromosómicos. Cultivo de células animales.

**INTRODUÇÃO**

O termo Citogenética atualmente refere-se a todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução (GUERRA, 1988), independentemente dos estágios de condensação ou associação com proteínas histonas e não histonas (OLIVEIRA et al., *Revista Saúde e Desenvolvimento* | vol.4 n.2 | jul/dez 2013

2010). Esta ciência tem suas raízes na Biologia e sobrepõe os conhecimentos da Biologia Celular e da Genética, estudando a estrutura e os mecanismos celulares através da constituição genética da célula (MASCENA, 2009), podendo servir como uma ferramenta no estudo da evolução das espécies, no entendimento da diversidade genética, na filogenia (SUMNER, 1990), na taxonomia, além de ser utilizada nos campos da medicina nos quais estudos genéticos têm sido utilizados para atender aos anseios de um número cada vez maior de especialidades e detectar, o quanto antes, as malformações congênitas, os desvios metabólicos, as doenças hereditárias, as displasias esqueléticas e os demais distúrbios genéticos passíveis de um diagnóstico pré ou pós-natal. Desta maneira, a Citogenética tem prestado grande subsídio, não só para a disciplina de genética, mas também para outras áreas (ALBANO, 2000).

No desenvolver histórico da Citogenética cabe destacar dois períodos. O primeiro período – Citogenética Clássica - começou em 1902, com a hipótese de que os fatores responsáveis pela transmissão de características estavam localizados nos cromossomos, formulada por Boveri e Sutton, (LACADENA, 1996). Com a incorporação de técnicas e metodologias moleculares, iniciou-se um segundo período: o da Citogenética Molecular que, por sua vez, aumentou a resolução das análises cromossômicas e a especificidade do diagnóstico (LACADENA, 1996) através da introdução de novas tecnologias da Biologia Molecular, dentre as quais as principais são a técnica de Hibridização *in situ* fluorescente (FISH), a reação em cadeia da polimerase (PCR), além da implantação de técnicas de bandeamento que permitem a visualização de blocos de coloração diferenciada (bandas).

Hoje em dia, a análise cromossômica, com uma resolução e uma precisão muitíssimo melhoradas, é um procedimento diagnóstico cada vez mais importante em várias áreas da medicina clínica (THOMPSON; THOMPSON, 2002), tornando-se muito utilizada para correlacionar determinadas patologias com alterações do cariótipo normal (GUERRA, 1988).

## BANDEAMENTOS CROMOSSÔMICOS

O progresso na identificação positiva dos cromossomos se originou de uma rápida série de estudos que iniciaram em 1968 e 1969, com o trabalho de Caspersson e colaboradores na Suécia. Em síntese, a base desta mudança foi o fato de que muitos corantes, como orceína e Giemsa, que têm uma afinidade pelo DNA, fluorescem sob a luz ultravioleta, sendo que, após tratamento adequado, cada cromossomo mostra zonas brilhantes e escuras, ou bandas que são específicas em tamanho e localização para este cromossomo (BRAMMER; ZANOTTO; CAVERZAN, 2007). Com este tipo de coloração, somente as aneuploidias (ou alterações numéricas) podiam ser caracterizadas (ANDRADES-MIRANDA; MATTEVI, 2011). As aberrações estruturais dificilmente eram distinguidas, ou eram impossíveis de serem detectadas, sendo também impossível identificar cada elemento do par cromossômico ou até mesmo o próprio par (KEAGLE; GERSEN, 2005).

Os avanços da Biologia Molecular, combinados com técnicas da Citogenética convencional, resultaram em novas marcações cromossômicas, descritas no campo chamado de Citogenética Molecular. Um dos métodos mais difundidos atualmente é a hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), que consiste na ligação de sequências de DNA marcadas com fluorocromos (sondas) aos genes ou cromossomos-alvo complementares (ANDRADES-MIRANDA; MATTEVI, 2011).

Essa técnica envolve a preparação de lâminas, o isolamento e a marcação da sequência de DNA que se deseja localizar *in situ* e a sua hibridização nos cromossomos. O DNA marcado funciona como uma sonda para encontrar as sequências do DNA cromossomal complementar a ela, chamada de DNA alvo (BRAMMER; ZANOTTO; CAVERZAN, 2007). Para visualizar as regiões hibridizadas com sonda, é preciso associar um corante à sonda e um outro corante ao restante dos cromossomos (BRASILEIRO-VIDAL, GUERRA, 2002, *apud* BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J., 2002).

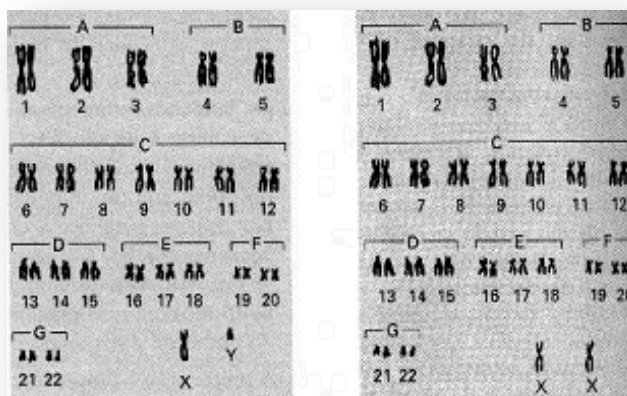
## COMO SE ORGANIZA O CARIÓTIPO HUMANO

Segundo Guerra (1988), a representação do cariótipo pode ser feita na forma de *idiograma* ou de *cariograma*. O idiograma é a representação esquemática do cariótipo, utilizando valores médios da posição do centrômero e tamanho de cada cromossomo do conjunto *haplóide*. Esses valores são obtidos a partir de medições cromossômicas feitas em várias células de um indivíduo ou mesmo de vários indivíduos de uma espécie.

O cariograma é construído a partir de uma fotografia ou do desenho detalhado de uma metáfase em que todos os cromossomos estão bem corados e individualizados. Esses cromossomos são recortados e os homólogos são emparelhados e enumerados dentro de uma determinada ordem. (GUERRA, 1988).

Os 46 cromossomos humanos formam 23 pares, sendo 22 de autossomos e um par sexual. Os pares de autossomos são numerados de 1 a 22 em ordem decrescente de tamanho e os cromossomos sexuais recebem a notação X e Y. Os pares cromossômicos, incluindo os sexuais, são reunidos em sete grupos designados pelas letras de A até G. (KASAHARA, 2003).

Figura 1: Cariótipos masculino (esquerda) e feminino (direita) com os cromossomos numerados e organizados em seus respectivos grupos



Fonte: [http://criatividadeeciencia.blogspot.com/2011\\_04\\_01\\_archive.html](http://criatividadeeciencia.blogspot.com/2011_04_01_archive.html)

## VARIAÇÕES CROMOSSÔMICAS

As variações cromossômicas (ou cariotípicas) podem ocorrer entre diferentes células do indivíduo, entre indivíduos diferentes da mesma população ou entre populações diferentes da mesma espécie. Esta variação poderá ser, ou não, geneticamente programada. No homem, por exemplo, o número cromossômico varia de 23, nos gametas, para 46 na maioria das células somáticas e 92, 184 ou mais nos hepatócitos. Essa variação faz parte da programação genética da espécie e é encontrada em todos os indivíduos e populações desta espécie. (GUERRA, 1988).

Conforme Guerra (1988), as variações não programadas são as mutações cromossômicas que, em relação ao cariótipo normal, podem ser vantajosas, desvantajosas ou neutras. Quando as variações são neutras ou vantajosas, são transmitidas aos descendentes, contribuindo para a variação cariotípica natural das espécies, denominada *polimorfismo cromossômico*. Contudo, quando ocorrem mutações desvantajosas, estas são rapidamente eliminadas das populações e não tem significado evolutivo.

Os distúrbios cromossômicos constituem uma categoria importante de doenças genéticas, respondendo por uma grande proporção significativa dos insucessos reprodutivos, malformações congênitas e retardo mental (GARDNER; SUTHERLAND, 1996). Segundo Thompson e Thompson (2002), as anomalias cromossômicas específicas são responsáveis por mais de 100 síndromes identificáveis, afetando 0,7% dos nascidos vivos, 2% das gestações em mulheres acima dos 35 anos e 50% dos abortos espontâneos do primeiro trimestre. (PEREIRA, 2009). Além disso, estudos de Shaffer e Lupski (2000) indicaram que um em cada 200 nascidos vivos pode ter alguma anormalidade cromossômica, sendo estas responsáveis pela maior causa de retardo mental.

Tais alterações podem ser classificadas em numéricas quando correspondem ao aumento ou à perda de um ou mais cromossomos; ou estruturais que, menos comuns que as numéricas, podem afetar a estrutura de um ou mais cromossomos, autossomos ou sexuais, podendo estas alterações serem perceptíveis ao microscópio comum. As numéricas são mais fáceis de ser observadas, mesmo em

espécies com cromossomos muito pequenos e numerosos, e têm efeito mais drástico para o indivíduo e para a evolução da espécie. (GUERRA, 1988).

A alteração numérica mais comum na espécie humana é a trissomia do 21, conhecida popularmente como Síndrome de Down. Esta síndrome foi descrita pela primeira vez por John Langdon Down em 1966, que observou por meio de cariótipo a presença de um cromossomo extra (21), no número de cromossomos total em uma célula (TOBO; KHOURI; MOURÃO, 2009). As principais características clínicas encontradas em seus portadores são perfil achatado, orelhas pequenas e de implantação baixa, pescoço de aparência larga e grossa com pele redundante na nuca; mãos e pés tendem a ser pequenos e grossos, podendo ser observado muitas vezes encurvamento do quinto dígito; língua grande, abdômen saliente e com tecido adiposo abundante (TOBO; KHOURI; MOURÃO, 2009). Além disso, a Síndrome de Down está relacionada a diversas formas de comprometimento imunológico que aumentam a suscetibilidade a infecções, malignidades e doenças autoimunes. (UGAZIO et al., 1990).

Por outro lado, uma das alterações cromossômicas estruturais mais comum em nossa espécie é a Síndrome de Cri-du-chat ou Síndrome do miado de gato. Descrita por Jérôme Jejeune e colaboradores em 1963 (ANTONELI; MURA; SILVA, 2007; LACADENA, 1996; BEIGUELMAN, 1982), esta doença recebeu esse nome por causa do choro característico dos pacientes afetados, o qual lembra o miado dos gatos durante o cio. (BEIGUELMAN, 1982).

Na Citogenética a síndrome é caracterizada pela deleção da metade do braço curto do cromossomo 5 (JORDE et al., 2000; LACADENA, 1996). Entre as características clínicas apresentadas pelos recém-nascidos estão tamanho reduzido da cabeça, hipertelorismo ocular (afastamento excessivo dos olhos), implantação baixa das orelhas, queixo pequeno, baixo peso, dificuldade no crescimento e hipotonia muscular, convulsões (BEIGUELMAN, 1982). Os afetados apresentam ainda cardiopatias congênitas em 30% dos casos, membros mal formados, com zinodactília, zigodactília e sindactília. (BORGES-OSÓRIO; ROBINSON, 2001).

A maioria dos casos é esporádica (THOMPSON; THOMPSON, 2002) sendo apenas 10 a 20% dos casos de origem hereditária, (ANTONELI; MURA; SILVA, 2007;

THOMPSON; THOMPSON, 2002). Esta síndrome acomete cerca de 1 a cada 50.000 nativos, com maior predominância no gênero feminino (2F:1M) (BORGES-OSÓRIO; JORDE et al., 2000).

## **CONCLUSÃO**

A utilização das técnicas de cariotipagem humana vem contribuindo significativamente para a detecção de alterações cromossômicas, tanto numéricas quanto estruturais, e se mostram como uma ferramenta de interesse não apenas na área da médica, pois além desta, podem ser utilizadas nos processos biotecnológicos do melhoramento de espécies de interesse econômico.

É sabido que Ciência e Tecnologia são áreas que andam lado a lado num processo de co-evolução. Este fato é facilmente percebido quando se analisam os avanços registrados nas ferramentas utilizadas para a realização dos estudos envolvendo a análise do cariótipo, pois imagens cromossômicas, cada vez melhores, são obtidas facilitando a identificação de pequenas anomalias estruturais nos cromossomos, fato impossível de ser alcançado no período da Citogenética Clássica.



## REFERÊNCIAS

ALBANO, L.M.J. **Importância da genética no serviço público:** relato da extinção de um setor de genética no município de São Paulo, Brasil. *Rev Panam Salud Publica*; 2000 7 (1): 29-34.

ANDRADES-MIRANDA, J.; MATTEVI, M. S. **Técnicas de bandeamentos e coloração cromossômica.** Em: MALUF, S. W.; RIEGEL, M. **Citogenética humana** – Artmed. Porto Alegre, 2011.p:63-69.

ANTONELI, R T; MURA, F B; SILVA, L G. **A intervenção da terapia ocupacional em uma criança portadora da síndrome de Cri Du Chat (CDC).** Unisalesiano. 2007. 5p. Disponível em: Trabalhos aceitos. Unisalesiano.  
<http://www.unisalesiano.edu.br/encontro2007/trabalho/aceitos/CC35262413846.pdf>

BEIGUELMAN, B. **Citogenética Humana.** Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan; 1982.

BORGES-OSÓRIO, M. R; ROBINSON, W. M. **Genética Humana.** 2ª. Edição. Editora Artmed S.A. Porto Alegre – RS. 2001. 459p.

BRAMMER, S. P.; ZANOTTO, M.; CAVERZAN, A. **Citogenética vegetal:** da era clássica à molecular. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 9p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 85). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do85.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do85.htm)>.

BRASILEIRO-VIDAL, A. N.; GUERRA, M. **Citogenética molecular em cereais.** In:BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. p. 277-298.

GARDNER, R. J. M., SUTHERLAND, G. R. **Pregnancy loss and infertility.** In: Chromosome abnormalities and genetic counseling. Ed. Oxford University. Press. Oxford, p.311-331., 1996

GUERRA, M. S., **Introdução à Citogenética Geral.** Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 1988.

JORDE, L. B. **Genética médica**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 297p.

KASAHARA, S. **Práticas de Citogenética**. Rio claro: [s.n.], 2003. 96 f. : il.

KEAGLE, M. B.; GERSEN, S. L. **The principle of clinical cytogenetics**. 2 ed. Totowa, NJ; 2005, p.63-79.

LACADENA, J R. **Citogenética**. 1ª edição. Editora Complutense S.A. Madrid. 1996. 931p.

MASCENA, J. R. **Estudos citogenéticos realizados no Hospital Universitário da UFSC no período de 2003 a 2008**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC. 2009.

OLIVEIRA, I. F. de; FERREIRA C. A. de M; SILVA, M. L. da; LIMA L. G. de; CARVALHO, R. de. **Observação de cromossomos: ciclo mitótico em vegetais**. X Jornada de ensino, pesquisa e extensão. UFRPE. 2010.

PEREIRA, T. M.; **Frequência das anomalias cromossômicas: Importância para o diagnóstico citogenético**. Arq. Ciênc. Saúde. Bauru, 2009; 16(1):13-33.

SHAFFER, L. G.; LUPSKI, J. R. **Molecular mechanisms for constitutional chromosomal rearrangements in humans**. Annu. Rev. Genet. 53: 297-329. 2000.

SUMNER, A.T. **Nucleolar organizers (NORs)**. In: Chromosome Banding, A.T. Sumner (ed.), Unwin Hyman Ltd., London. 1990.

THOMPSON, J S.; THOMPSON, M W. **Genética médica – Thompson & Thompson**. 6ª edição. Ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro – RJ. 2002. 388p.

TOBO, A.; KHOURI, M. E.; MOURÃO, M. A. **Diagnóstico da instabilidade atlantoaxial na Síndrome de Down: uma revisão de literatura**. Acta Fisiatr 2009; 16(3): 142-145.

UGAZIO, A.G.; MACCARIO, R.; NOTARANGELO, L.D.; BURGIO, G.R.. **Immunology of Down Syndrome: a review**. Am J Med Genet Suppl. 1990;7:204-12.