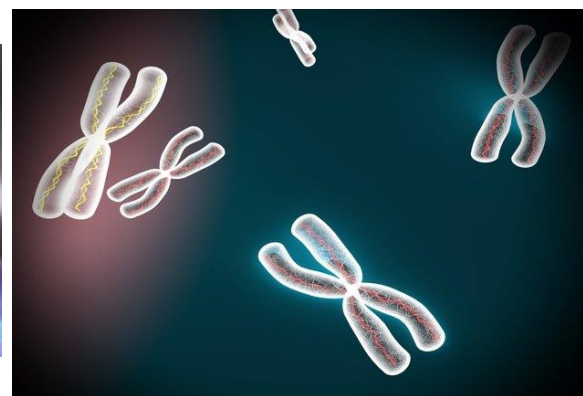
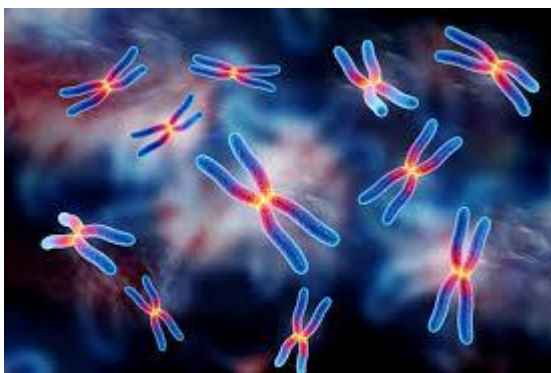




Universidade Federal do Acre  
Centro de Ciências da Saúde e dos Desportos

---

# Citogenética



Profa Leila P Peters  
UFAC

# Conteúdo programático

---

- Casos Clínicos;
- Conceitos de citogenética;
- Citogenética clássica;
- Citogenética molecular;
- Correlação das técnicas citogenéticas com os casos clínicos.

# Caso Clínico - 1

---

## ➤ Histórico e exame clínico

- 1- Uma menina de 14 anos de idade foi encaminhada à clínica de endocrinologia para avaliação da ausência de características sexuais secundárias;
- 2- Sempre teve saúde boa e intelecto normal;
- 3- Nenhum outro membro da família tinha problemas semelhantes;
- 4- Seu exame físico apresentou: baixa estatura, tórax largo com mamilos amplamente espaçados, desenvolvimento sexual atrasado ou ausente.

# Caso Clínico -2

---

## ➤ Histórico e exame clínico

- 1- Uma mulher de 45 anos apresentou se ao médico para exames rotineiros;
- 2- Estava em bom estado de saúde e sem queixas específicas;
- 3- O resultado do hemograma: elevada taxa de glóbulos brancos, esfregaço de sangue periférico revelou basofilia e granulócitos imaturos;
- 4- Nas análises ancológicas descobriu se que sua medula óssea estava hiper celular e com um número aumentado de células mieloides.

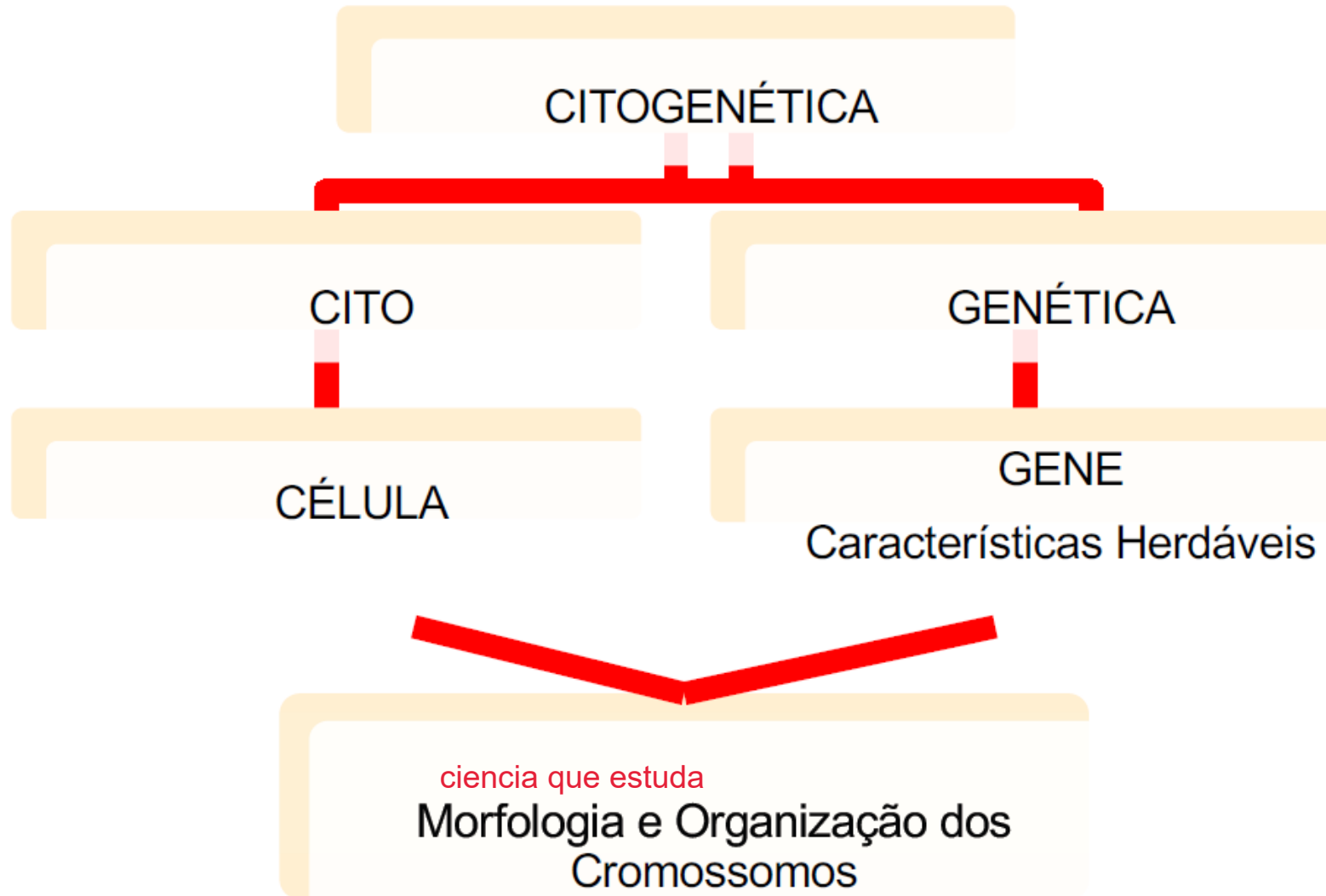
# Caso Clínico -3

---

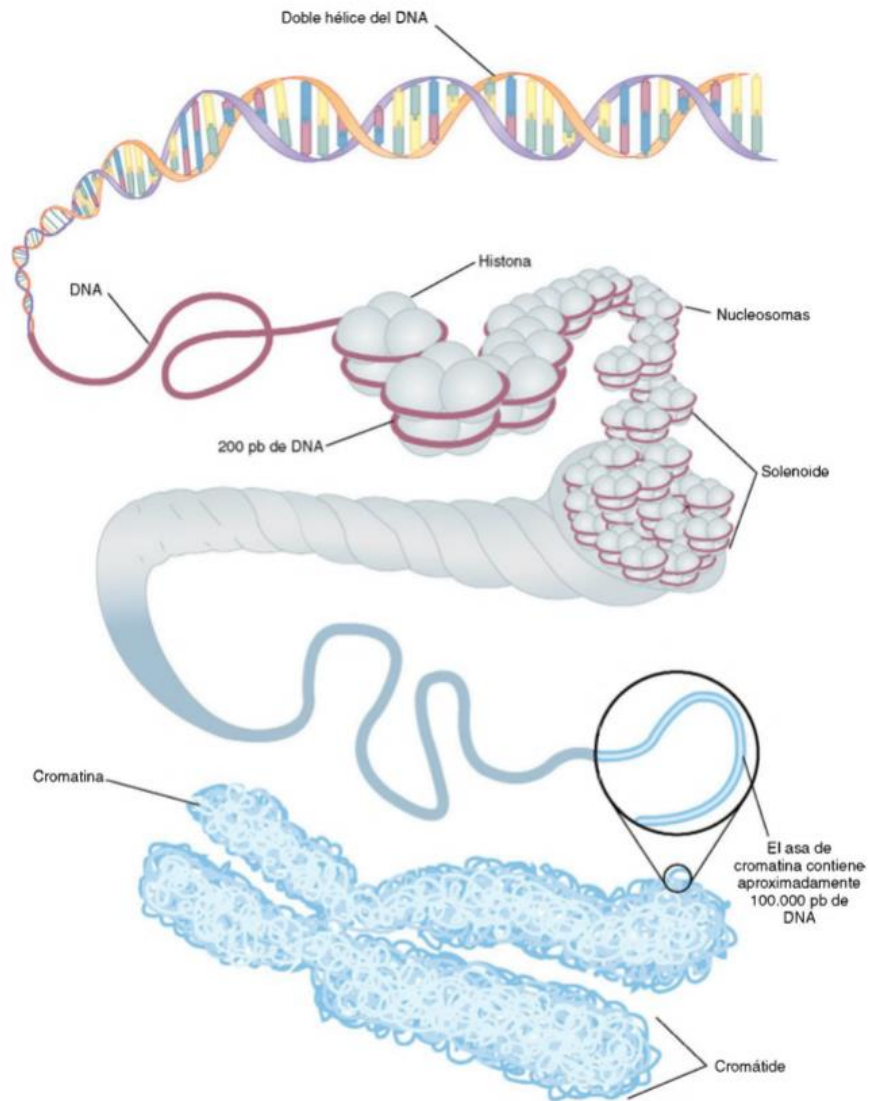
## ➤ Histórico e exame clínico

- 1- Um menino de 3 anos de idade foi encaminhado à clínica de genética médica para avaliação de seu atraso na fala;
- 2- Andou com 14 meses e falou suas primeiras palavras aos 30 meses;
- 3- Seu exame físico apresentou: orelhas simples com baixa implantação, uma única prega transversal palmar da mão esquerda;
- 4- Seus pais o descrevem como um solitário “prefere brincar sozinho que com os colegas”.

## ➤ O que é citogenética?



## ➤ O que é citogenética?



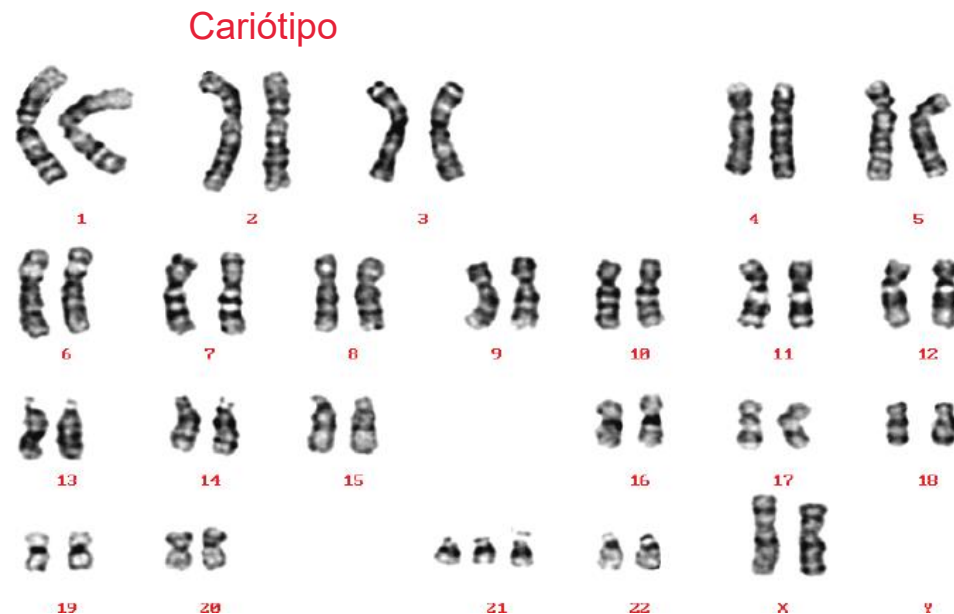
Citologia + genética = citogenética

**“Compreende 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 a sua variação e evolução.” (Guerra, 1988)**

## ➤ Citogenética clínica

É o estudo dos cromossomos, sua estrutura, aplicado à prática médica.

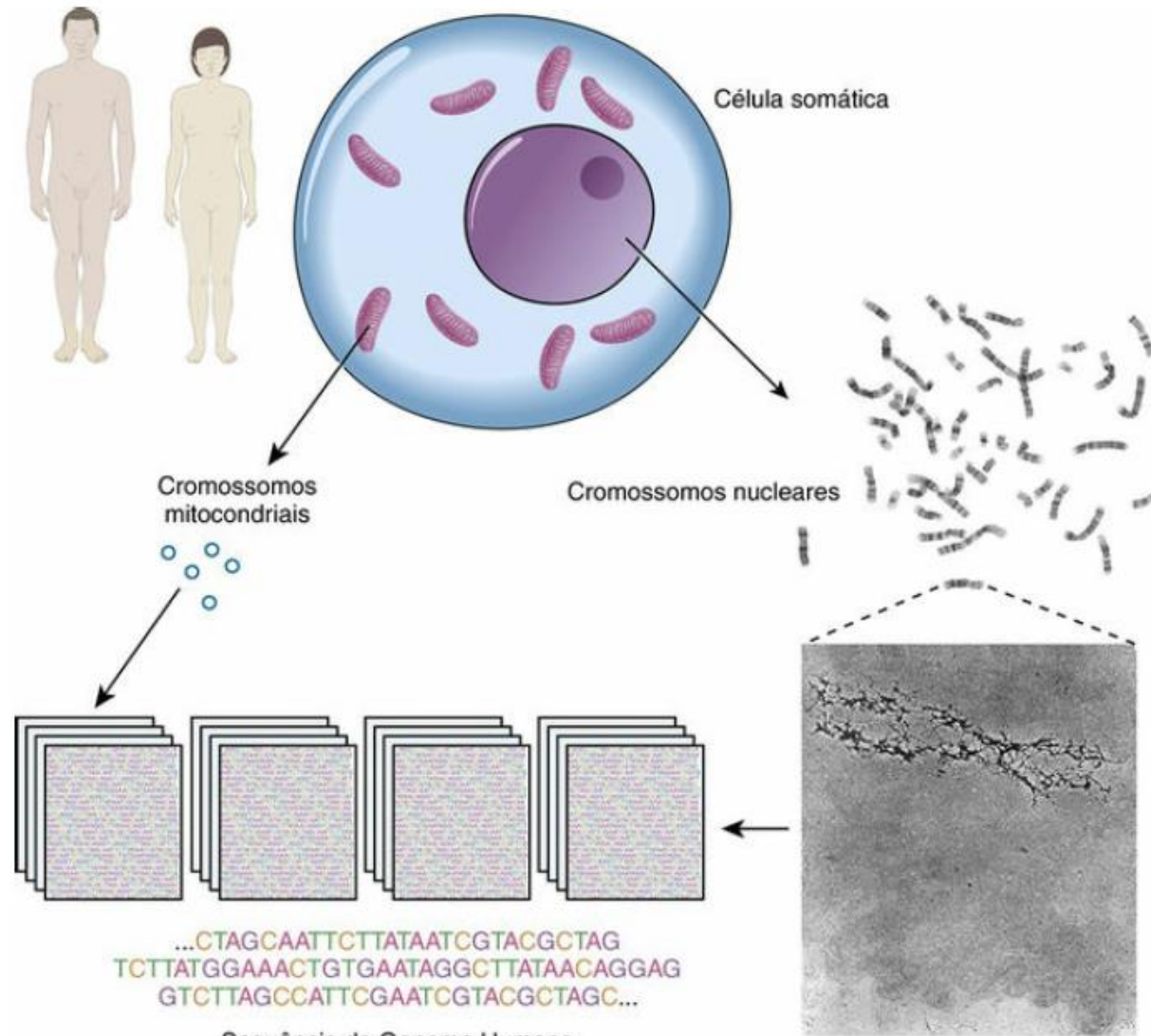
Mudanças no número ou na estrutura dos cromossomos podem ser responsáveis por várias condições clínicas, sendo referidas como transtorno cromossômicos.



Síndrome de Down -  
trissomia do cromossomo 21



## ➤ Citogenética - cromossomos

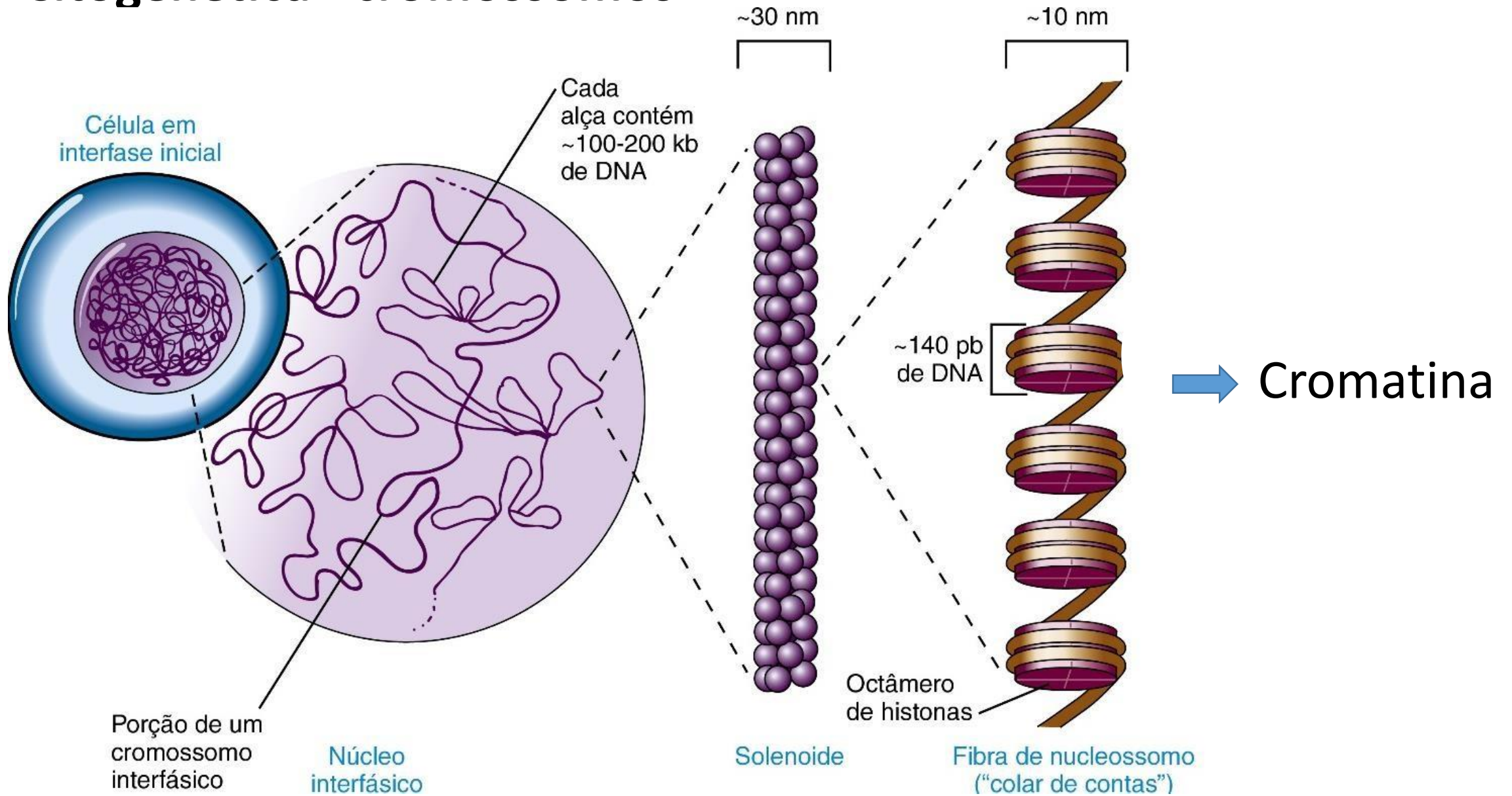


Sequência do Genoma Humano

**FIGURA 2-1** Genoma humano, codificado tanto nos cromossomos nucleares quanto nos cromossomos mitocondriais. *Veja Fontes & Agradecimentos.*

Genoma humano é codificado tanto nos cromossomos nucleares quanto nos cromossomos mitocondriais.

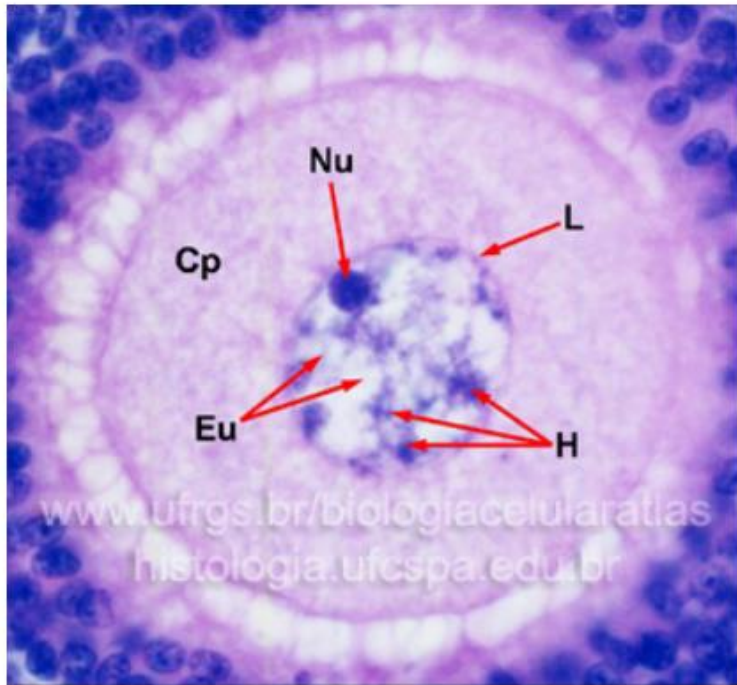
# ➤ Citogenética - cromossomos



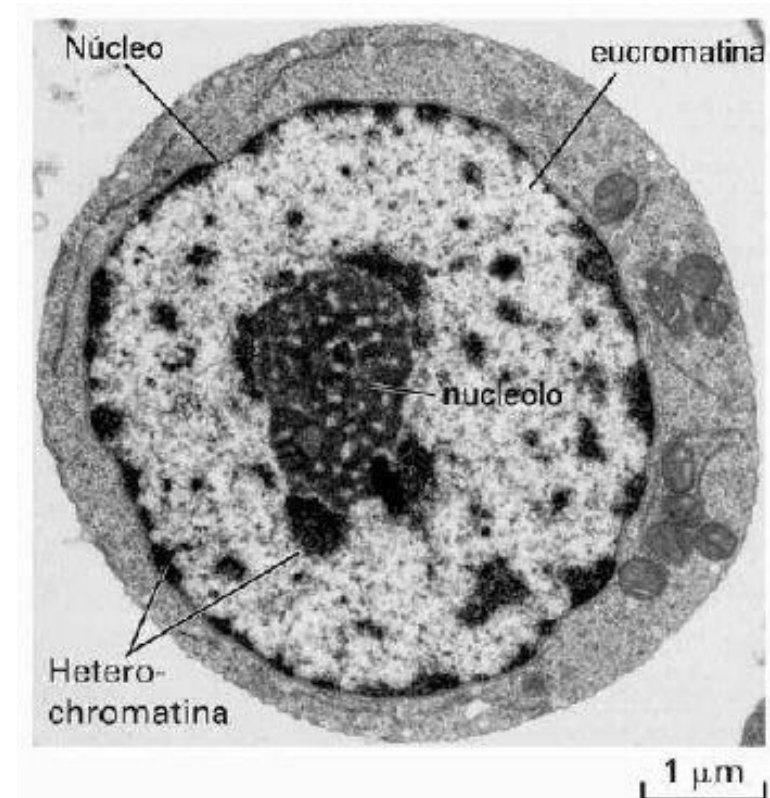
## ➤ Citogenética - cromossomos

Do ponto de vista citogenético, a cromatina como um todo pode ser classificada em duas categorias principais:

Eucromatina – regiões do DNA menos condensadas,  
Heterocromatina – regiões do DNA mais condensadas.



Micrografia de luz de um oócito



Micrografia eletrônica de uma célula tronco da medula óssea

(Lodish, H, 2014)



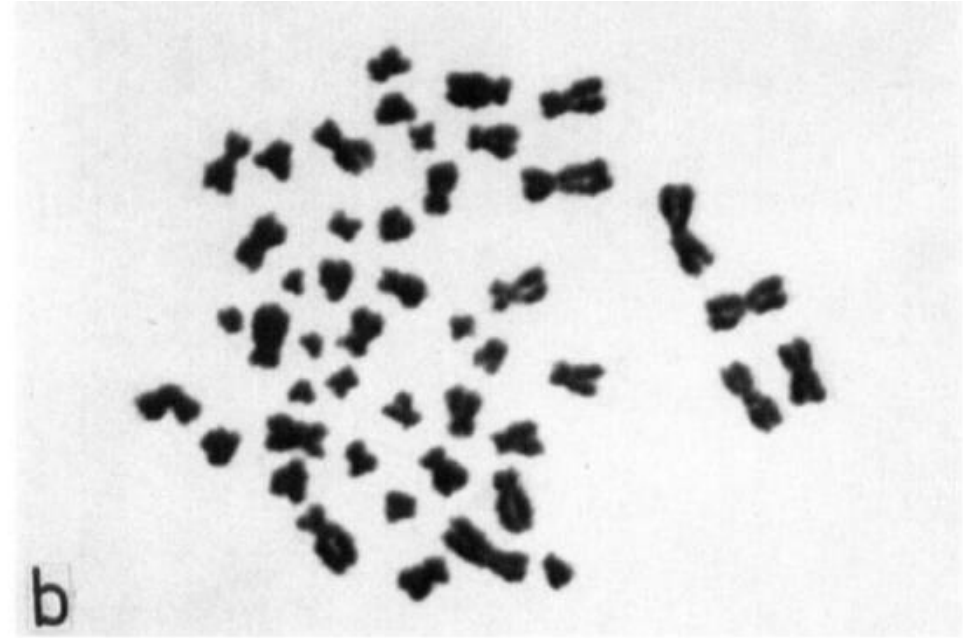
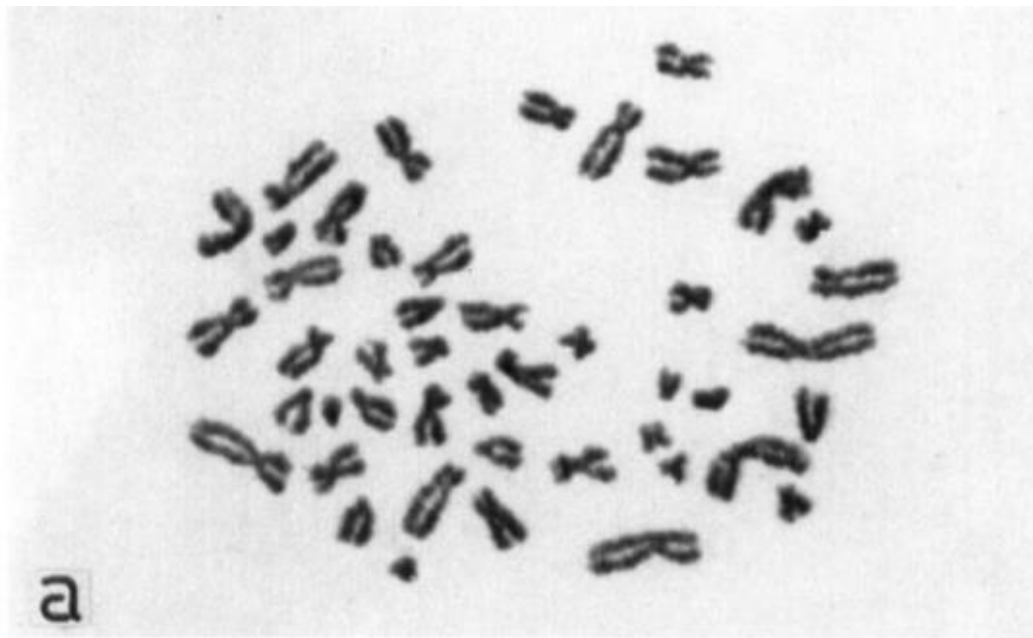
## ➤ Citogenética

### THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

By *JOE HIN TJIO* and *ALBERT LEVAN*

ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME  
LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN

Publicado em 1956



Conclusão: as células somáticas em humanos era constituída em 46 cromossomos

Como foi realizado esse estudo?

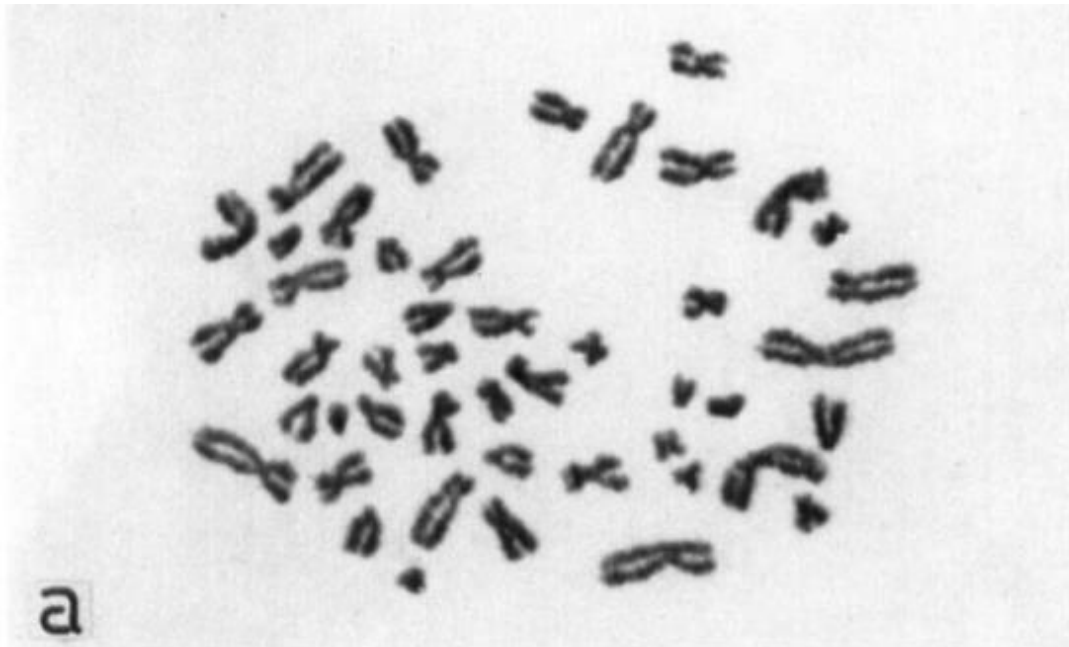
# ➤ Citogenética

## THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

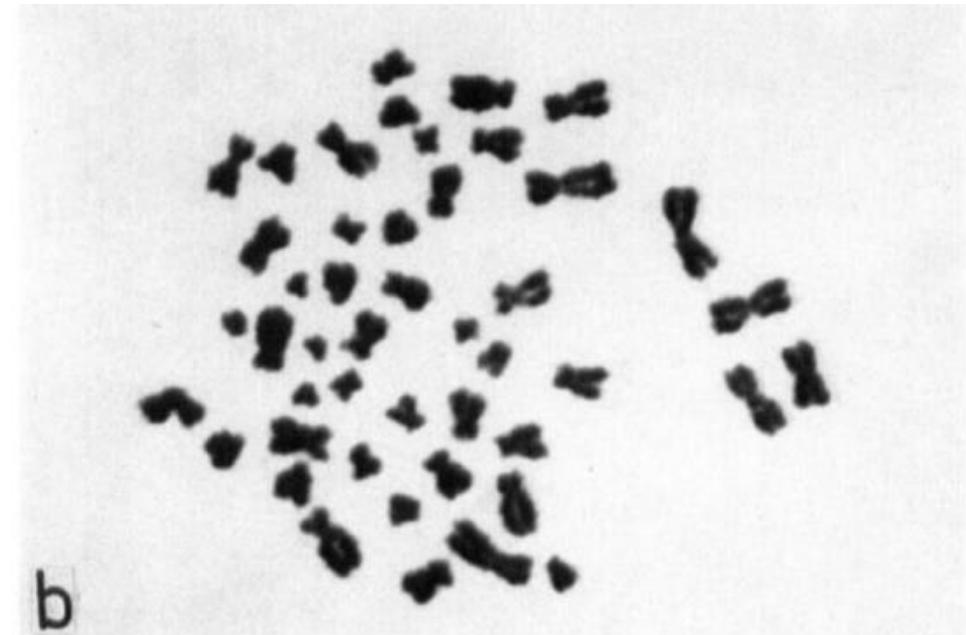
By JOE HIN TJIO and ALBERT LEVAN

ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME  
LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN

- Fibroblastos pulmonares embrionários de humanos;
- Colchicina;
- Solução hipotônica;
- Giemsa

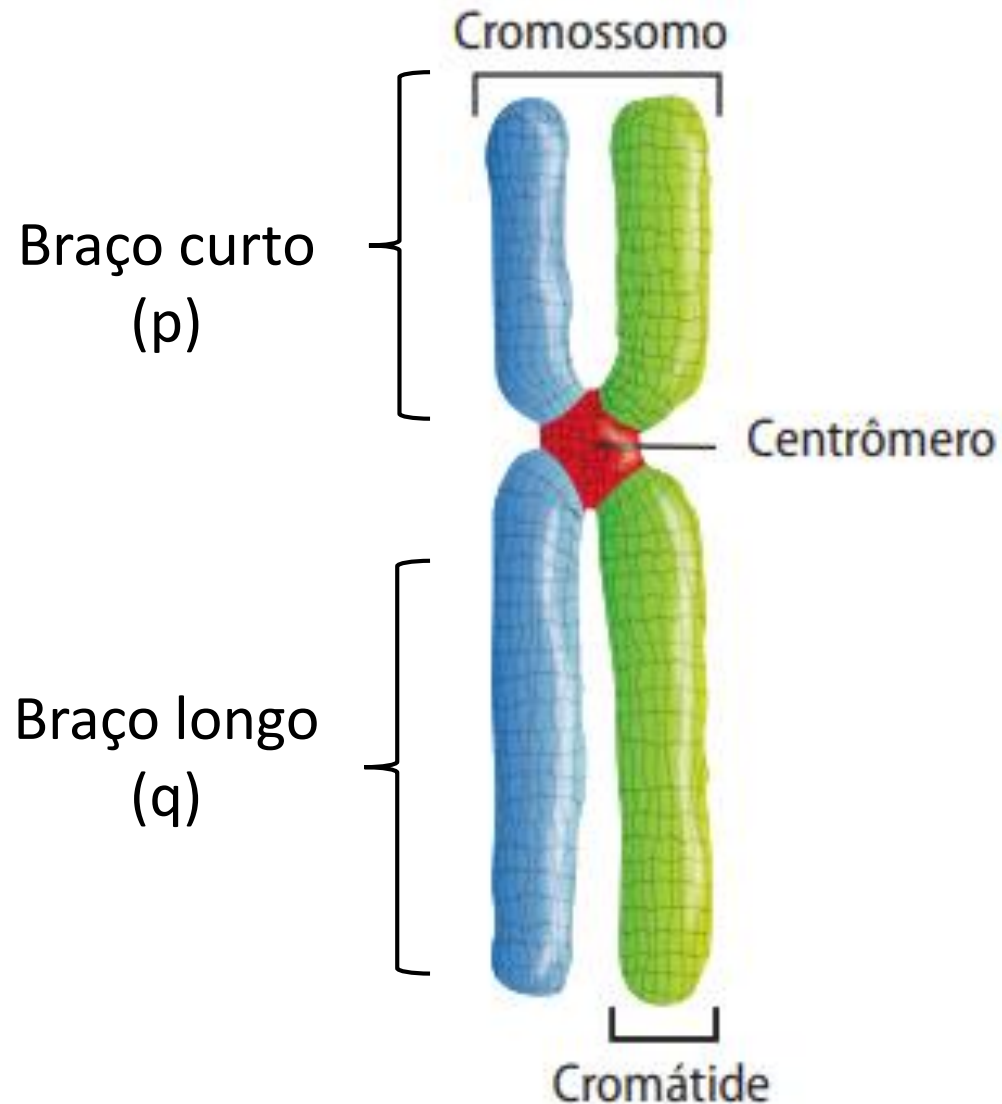


Pré-metáfase



Metáfase

# ➤ Citogenética clássica

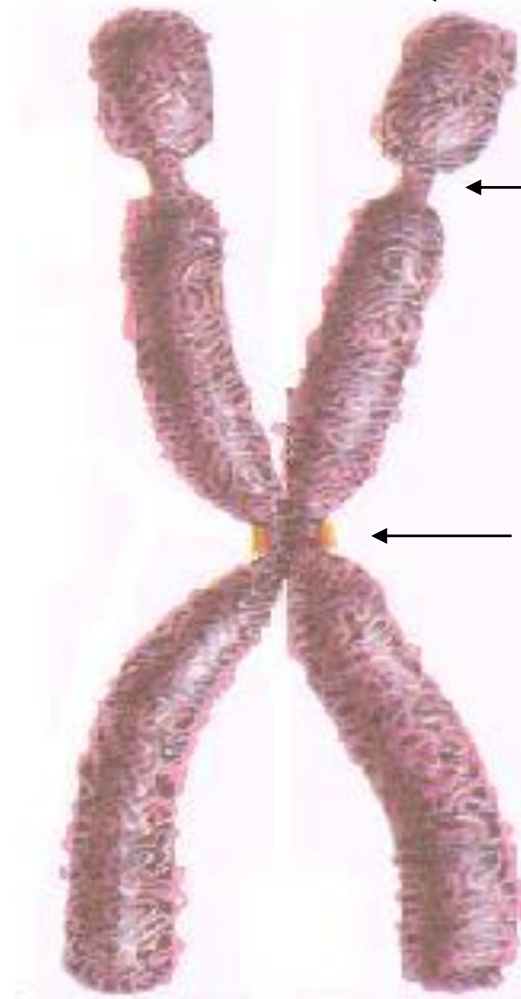


(ALBERTS, 11ª ed., 2015)

Não são todos que tem

**Satélites**

Local que fica entre o telômero e a Constrição 2ª



Associado ao nucléolo e a RNAr

Associado a divisão celular - cinetocoros

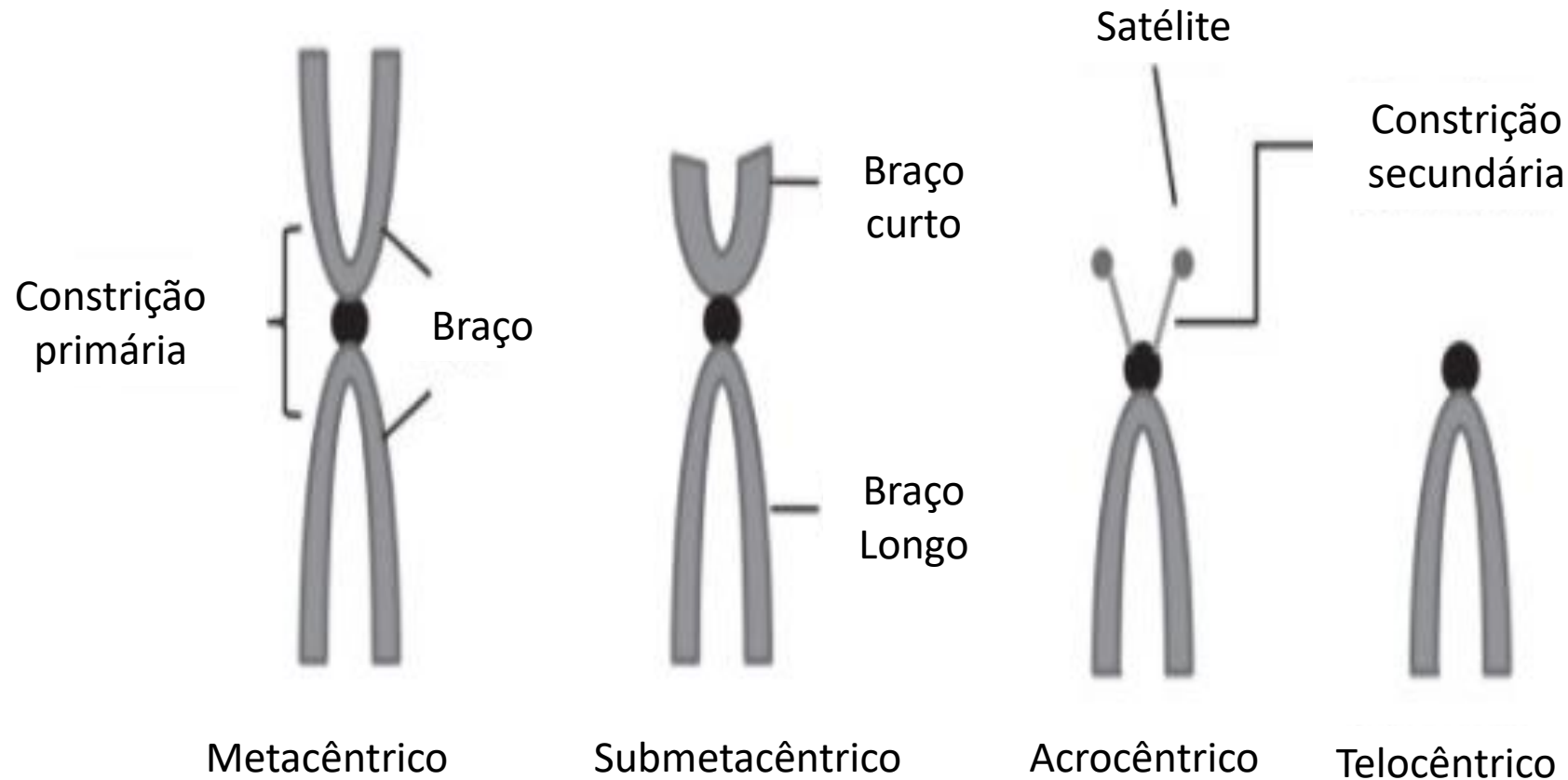
Sequências repetitivas de DNA que existem nas extremidades de todos os cromossomos.

# ➤ Citogenética

- Conferência de Denver no Colorado em 1960

➤ Ordenar os cromossomos humanos de acordo com o tamanho e forma.

## 1. Posição do centrômero



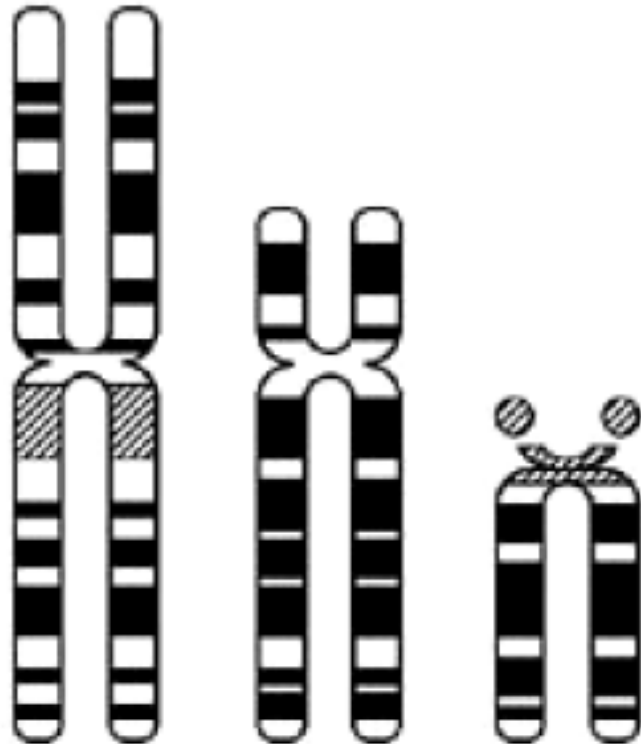
## ➤ Citogenética

- Conferência de Denver no Colorado em 1960



Ordenar os cromossomos humanos de acordo com o tamanho e forma.

### 2. Tamanho dos cromossomos (grande, médio e pequeno)



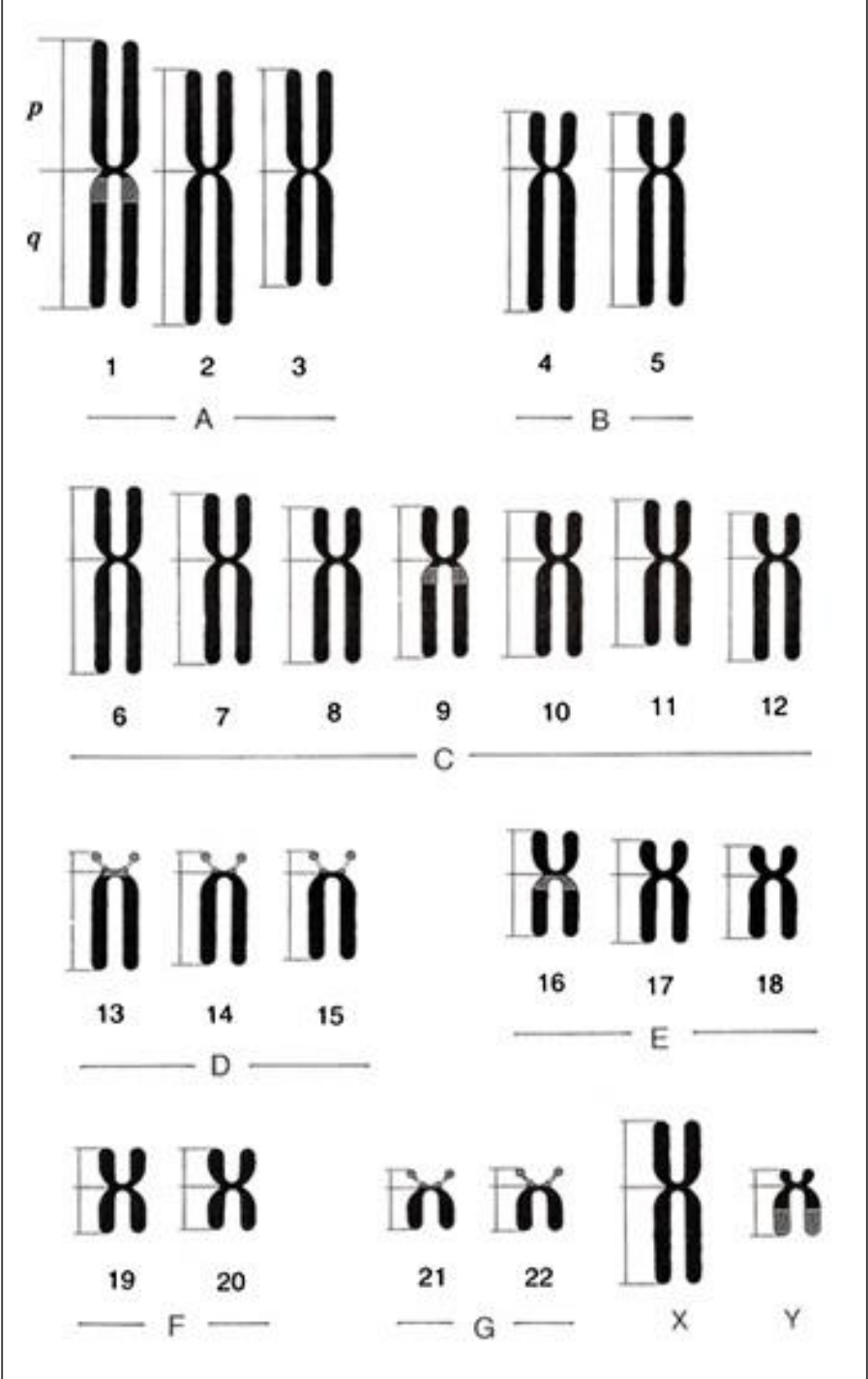


# ➤ Citogenética

■ Conferência em Londres em 1963

➡ Cromossomos foram agrupados dentro de 7 grupos.

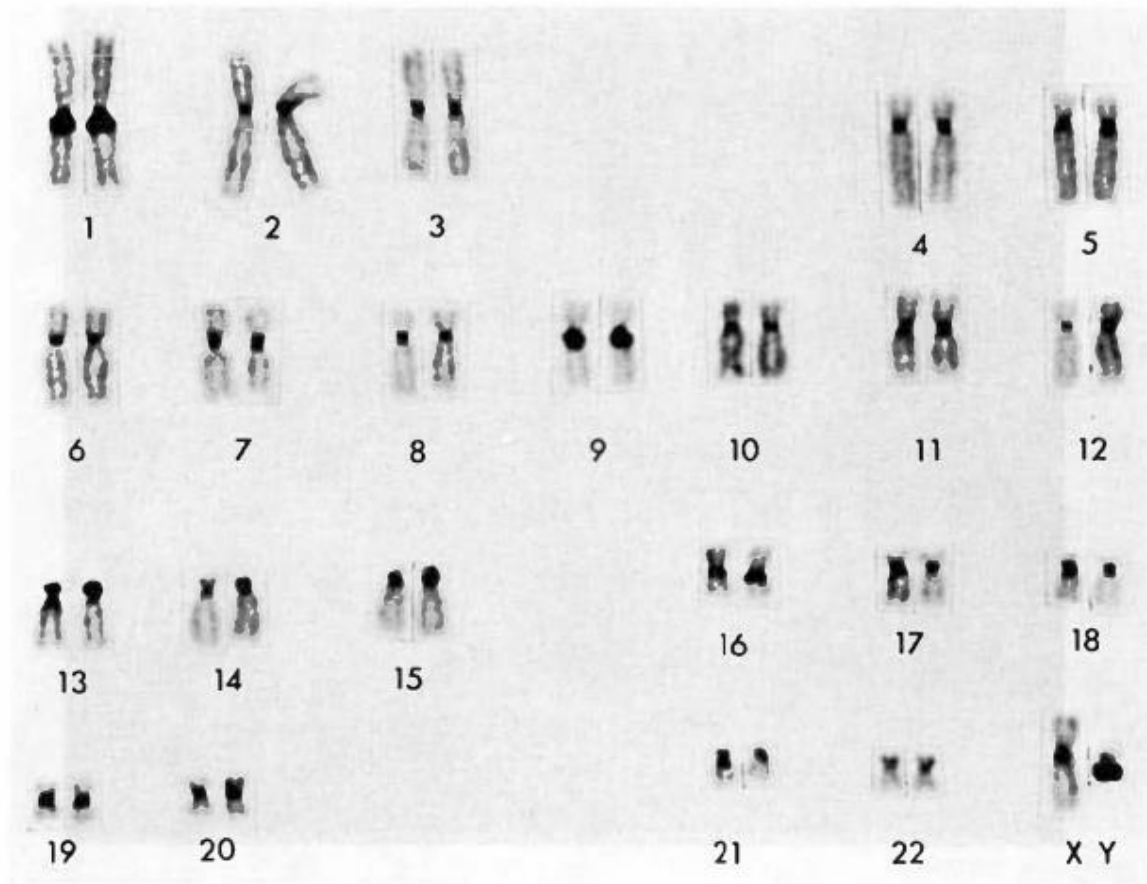
Nº	Grupo	Cromossomo	Descrição
1	Grupo A	1–3	Grandes cromossomos metacêntricos facilmente identificados com base em seu tamanho e posição do centrômero.
2	Grupo B	4–5	Cromossomos submetacêntricos grandes.
3	Grupo C	6–12, X	Cromossomos submetacêntricos de tamanho médio.
4	Grupo D	13–15	Cromossomos acrocêntricos de tamanho médio com satélites.
5	Grupo E	16–18	Cromossomos metacêntricos ou submetacêntricos moderadamente curtos.
6	Grupo F	19–20	Cromossomos metacêntricos curtos.
7	Grupo G	21–22, Y	Cromossomos acrocêntricos curtos com satélites, cromossomo Y não possui satélites.



## ➤ Citogenética

- Conferência de Paris em 1971

➤ Identificação e marcação do cromossomo usando técnicas de bandeamento.

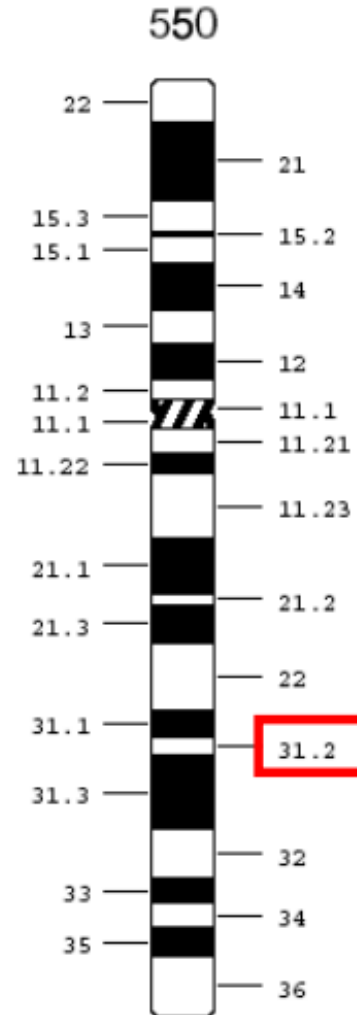


*Fig. 1. The human karyotype: C-banding (courtesy of Dr. F. RUDDLE).*

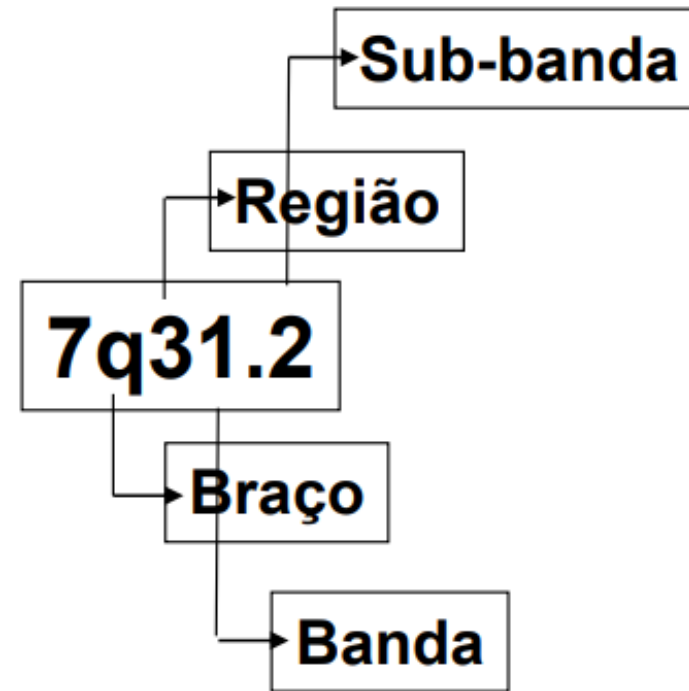
# ➤ Citogenética

- Nomenclatura de acordo **ISCN** (International System for Human Chromosome **Nomenclature**)

CHROMOSOME 7



Técnica de bandemaneto: marca as regiões  
as hetercromatinas ficam de cor mais escura e  
eucromatina mais claro

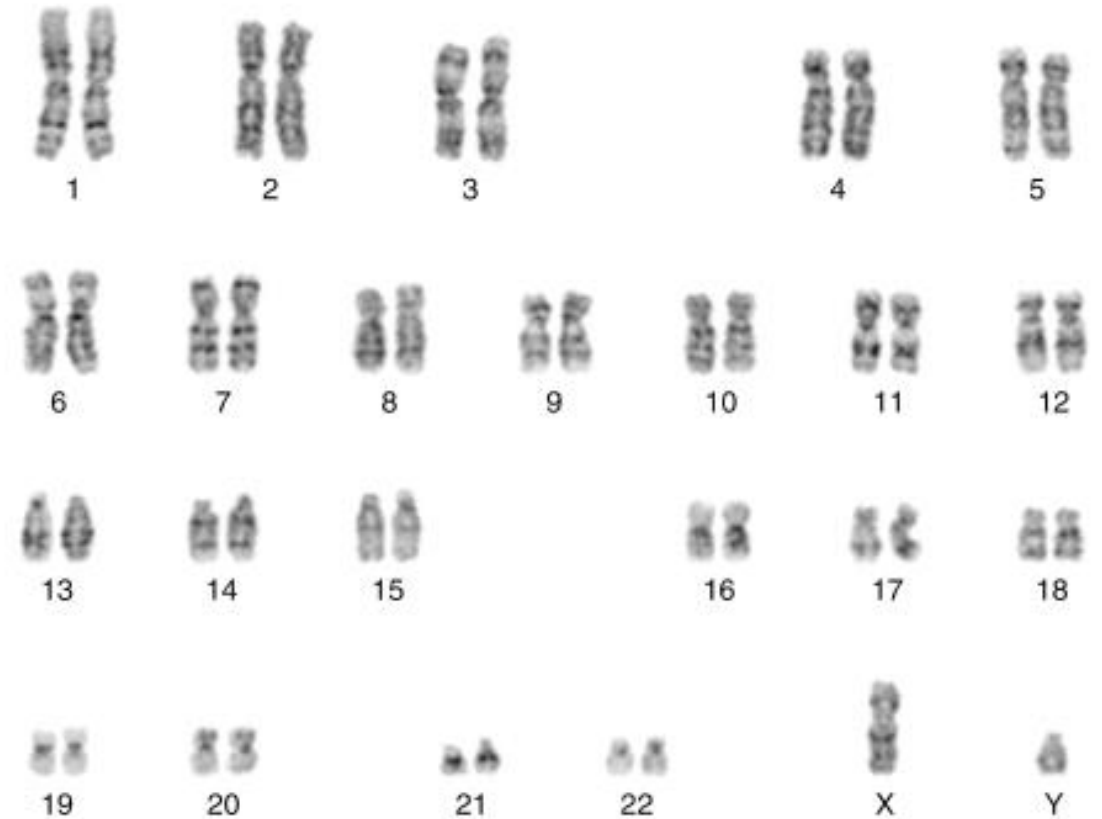


# ➤ Citogenética clássica

## ■ Cariótipo

A descrição das características do conjunto cromossômico de uma espécie

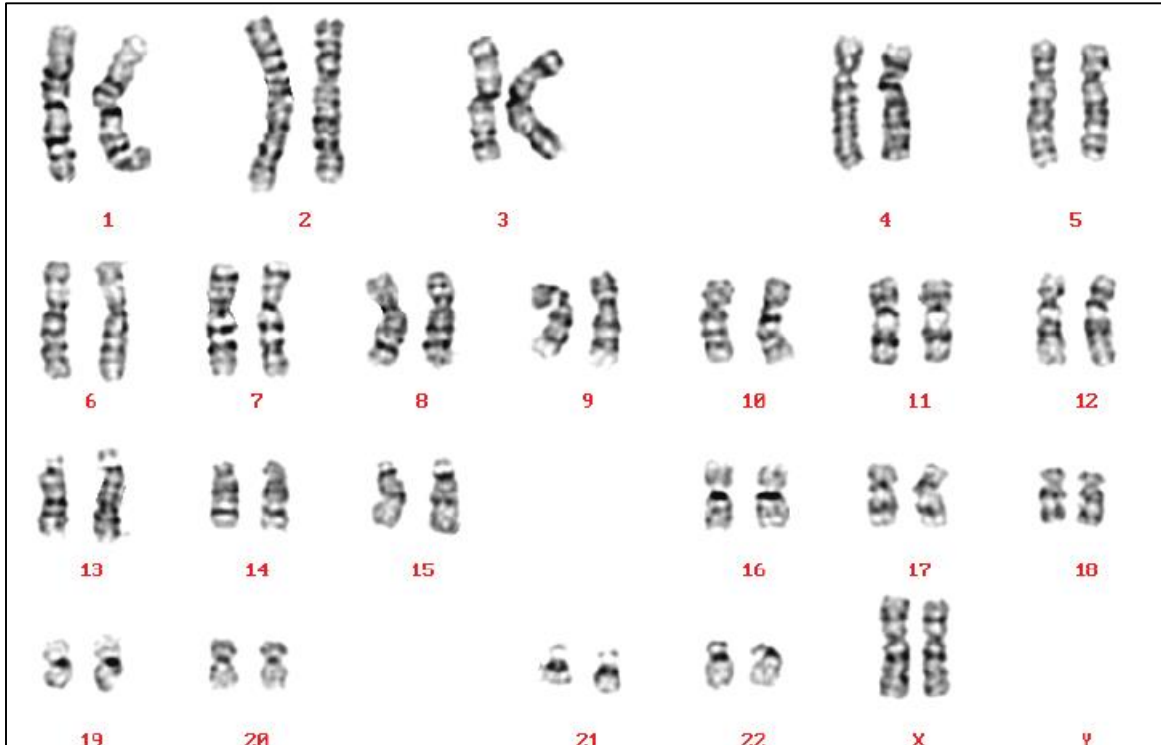
Pode ser apresentado na forma de cariótipo com as fotos dos cromossomos, ordenados de acordo com os grupos.



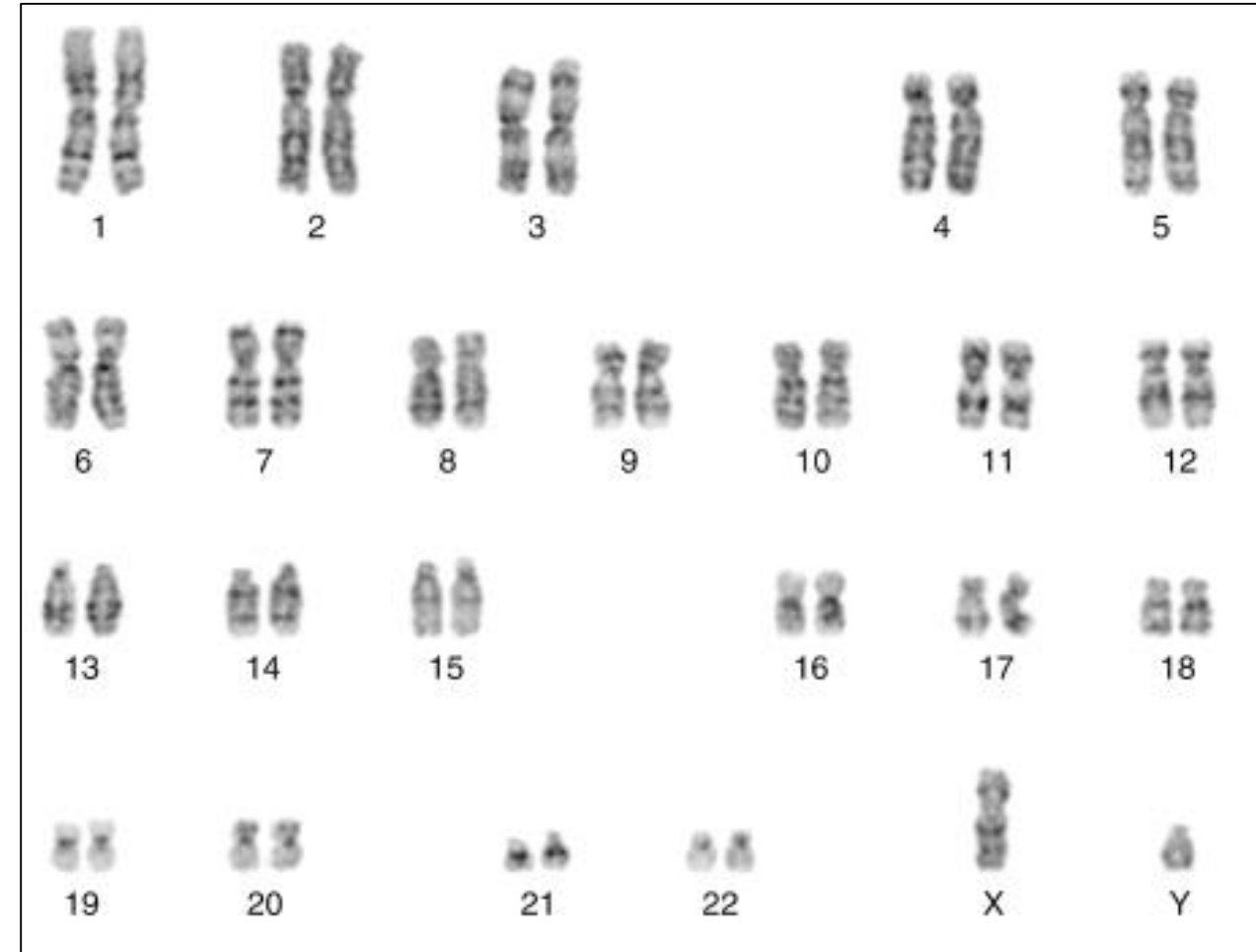
# ➤ Citogenética clássica

- Cariótipo humano feminino e masculino

Feminino



Masculino

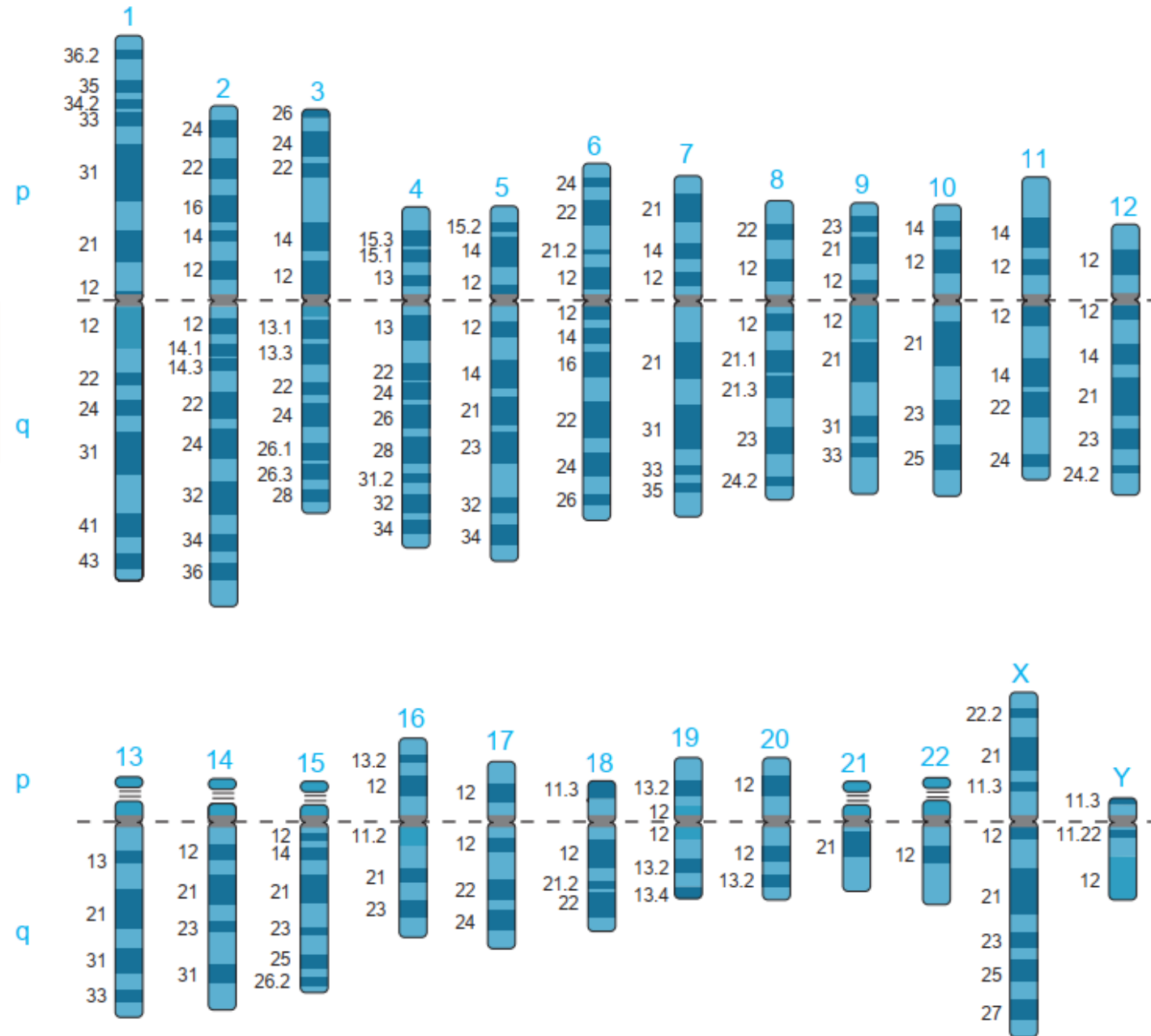


# ➤ Citogenética clássica

## ■ Cariótipo

A descrição das características do conjunto cromossômico de uma espécie

Ideograma é uma representação esquemática, utilizando valores médios da posição do centrômero e o tamanho de cada cromossomo no conjunto haploide.



# ➤ Citogenética clássica

## ■ Indicações clínicas

**Problemas de crescimento e desenvolvimento precoce:** falha no crescimento, atraso no desenvolvimento, fácies dismórficas, múltiplas malformações, estatura baixa, genitália ambígua e deficiência intelectual.

**Natimorto e morte neonatal:** incidência alta de anomalias cromossômicas entre natimortos. Cariotipagem importante para aconselhamento genético preciso. Podem gerar informações importantes para pré-natal em futuras gestações.

**Problemas de infertilidade:** Estudos cromossômicos são indicados para mulheres que apresentam amenorreia e para casais com história de infertilidade ou abortos recorrentes. Uma anomalia cromossômica é vista em um ou outro progenitor em 3% a 6% dos casos de infertilidade ou de abortos seguidos.

**História familiar:** Uma anomalia cromossômica ou genômica conhecida ou suspeita num familiar de primeiro grau é indicativa de análise cromossômica e genômica.

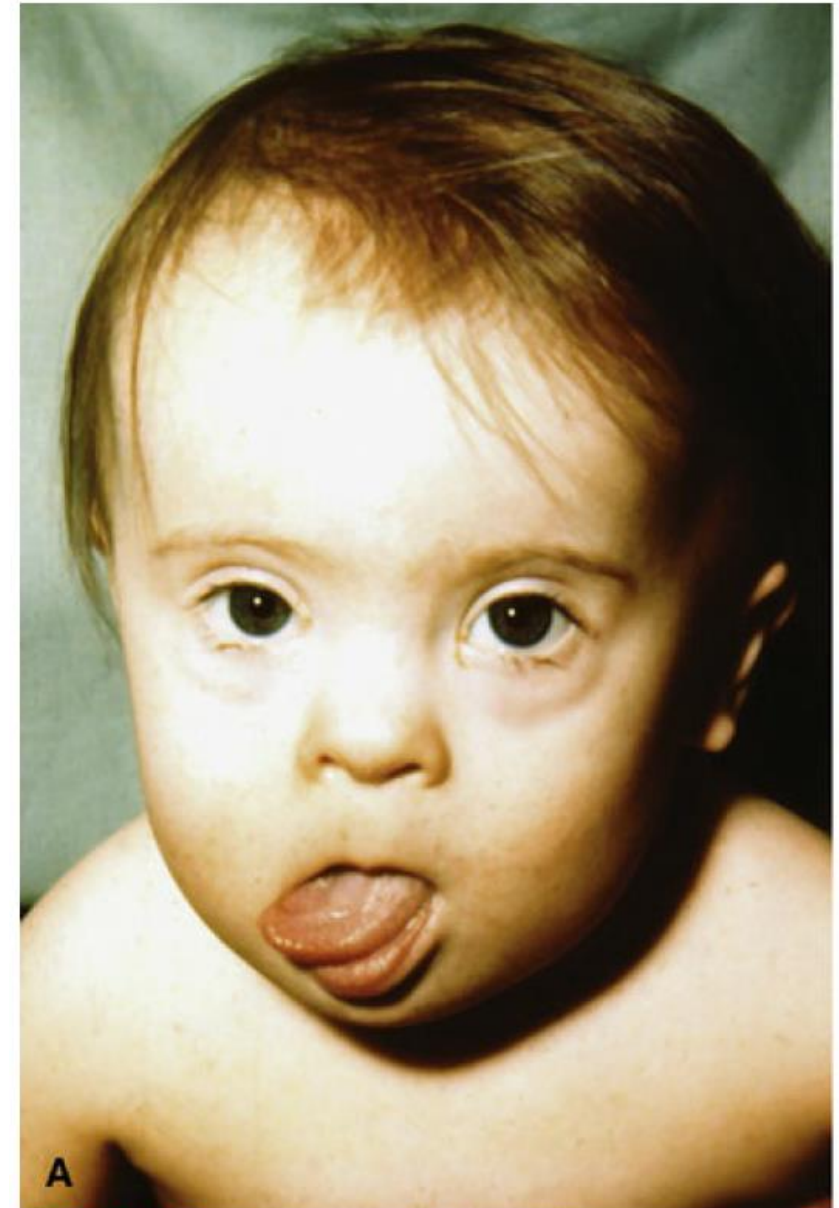
**Neoplasia:** geralmente os cânceres estão associados com uma ou mais anomalias cromossômicas. A avaliação cromossômica e genômica das células malignas pode oferecer informação diagnóstica e prognóstica.

**Gestação:** Existe um alto risco de anomalias cromossômicas em fetos concebidos por mulheres acima de 35 anos. A análise cromossômica e genômica pode fazer parte da rotina de cuidados pré-natais, nesses casos. Também pode ser realizado em fertilização *in vitro*.



## ➤ Citogenética clássica

- Síndrome de Down (47,XX, +21)



**FIGURA 6-2** Fenótipo da síndrome de Down.



## ➤ Citogenética clássica

- Síndrome de Klinefelter (47, XXY)

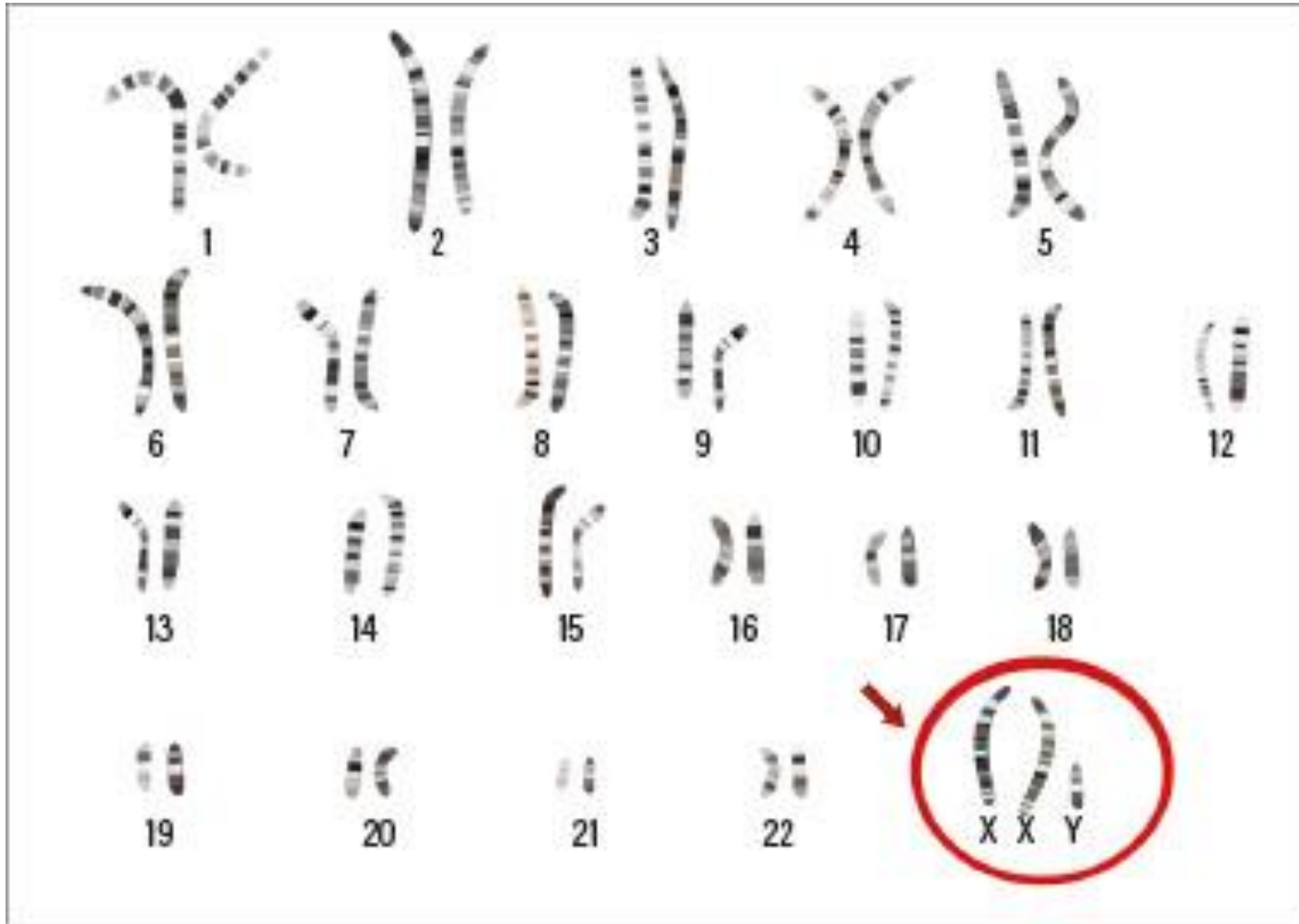


FIGURA 6-15 Fenótipo de homens com síndrome de Klinefelter 47,XXY.

Puberdade: hipogonadismo e as características 2ª permanecem subdesenvolvidas

(NUSSBAUM, ROBERT L, 11ª ed., 2015)

## ➤ Citogenética clássica

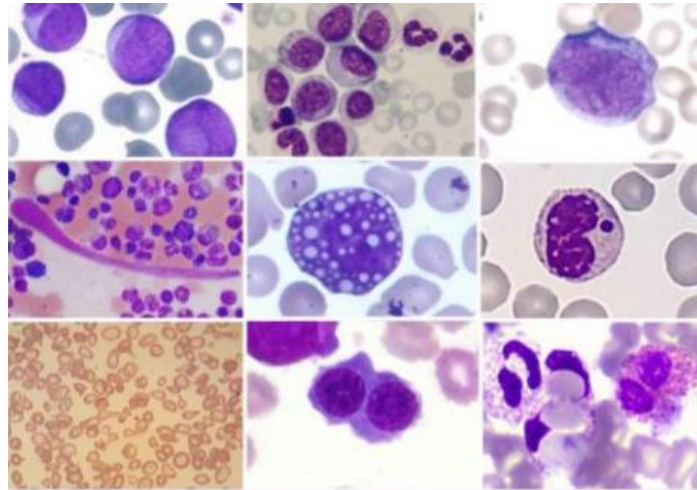
Como são realizadas essas técnicas de citogenética clássica?

## ➤ Citogenética clássica

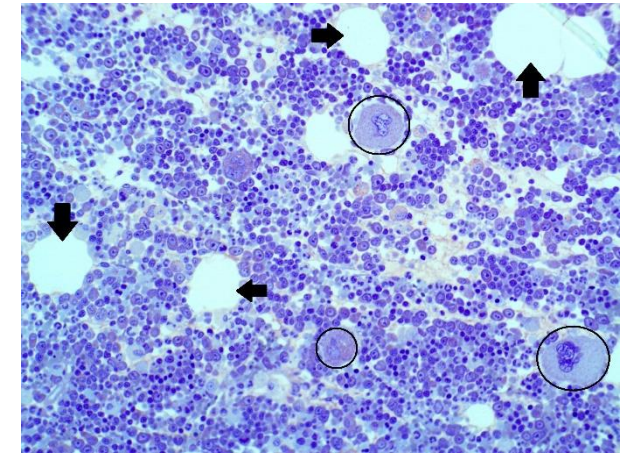
### Amostras para as análises cromossômicas

- Médula óssea
- Sangue periférico
- Fibroblastos
- Amniócitos
- Tumores

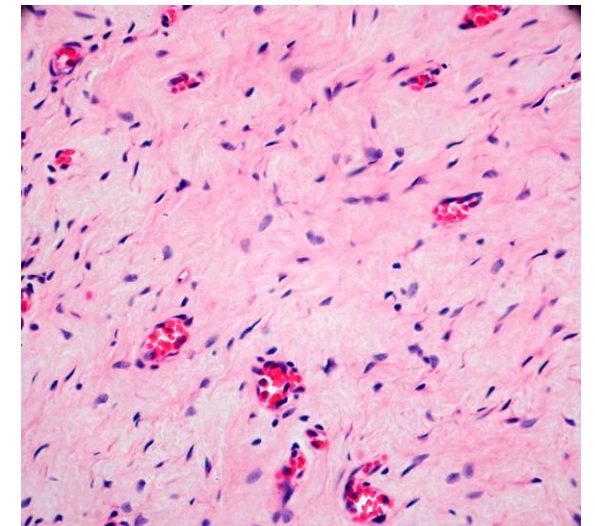
Células do sangue periférico



Células da medula óssea



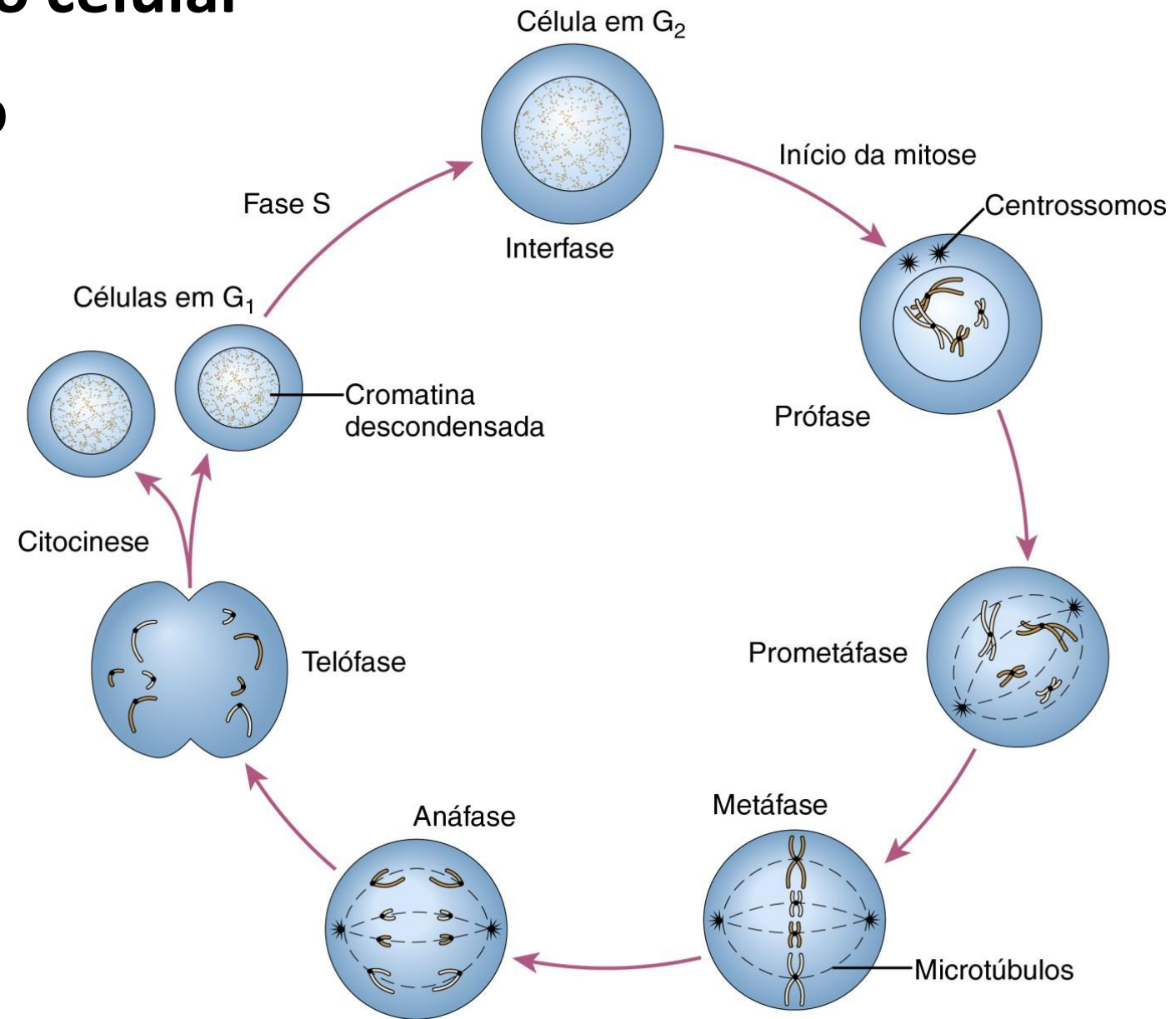
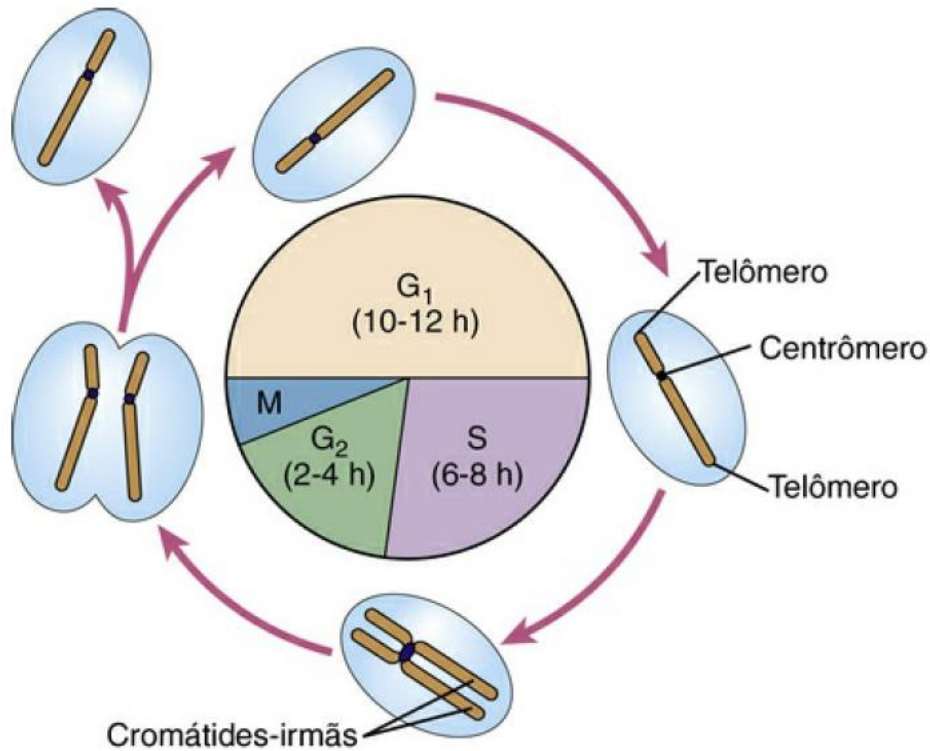
Fibroblastos



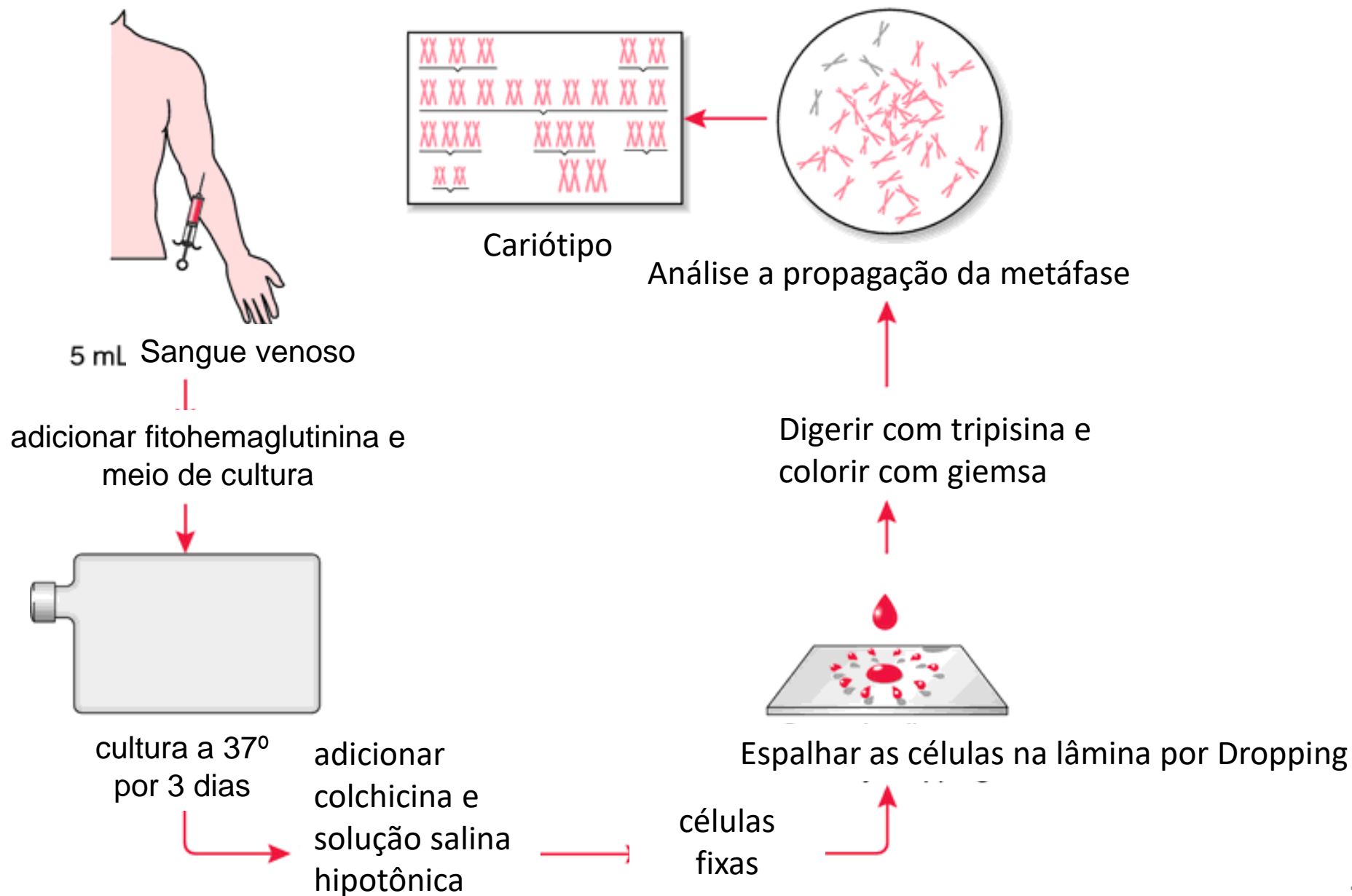


# ➤ Citogenética clássica – ciclo celular

## Ciclo celular mitótico típico



# ➤ Citogenética clássica



# ➤ Citogenética Clássica

## Bandeamento NOR



Cromossomos acrocêntricos  
13, 14, 15, 21,22

Os cromossomos são corados em suas regiões satélites, ou seja, na região organizadora do nucléolo (constricção secundária). A prata (Ag) é um dos corantes mais usados.

## ➤ Citogenética Clássica

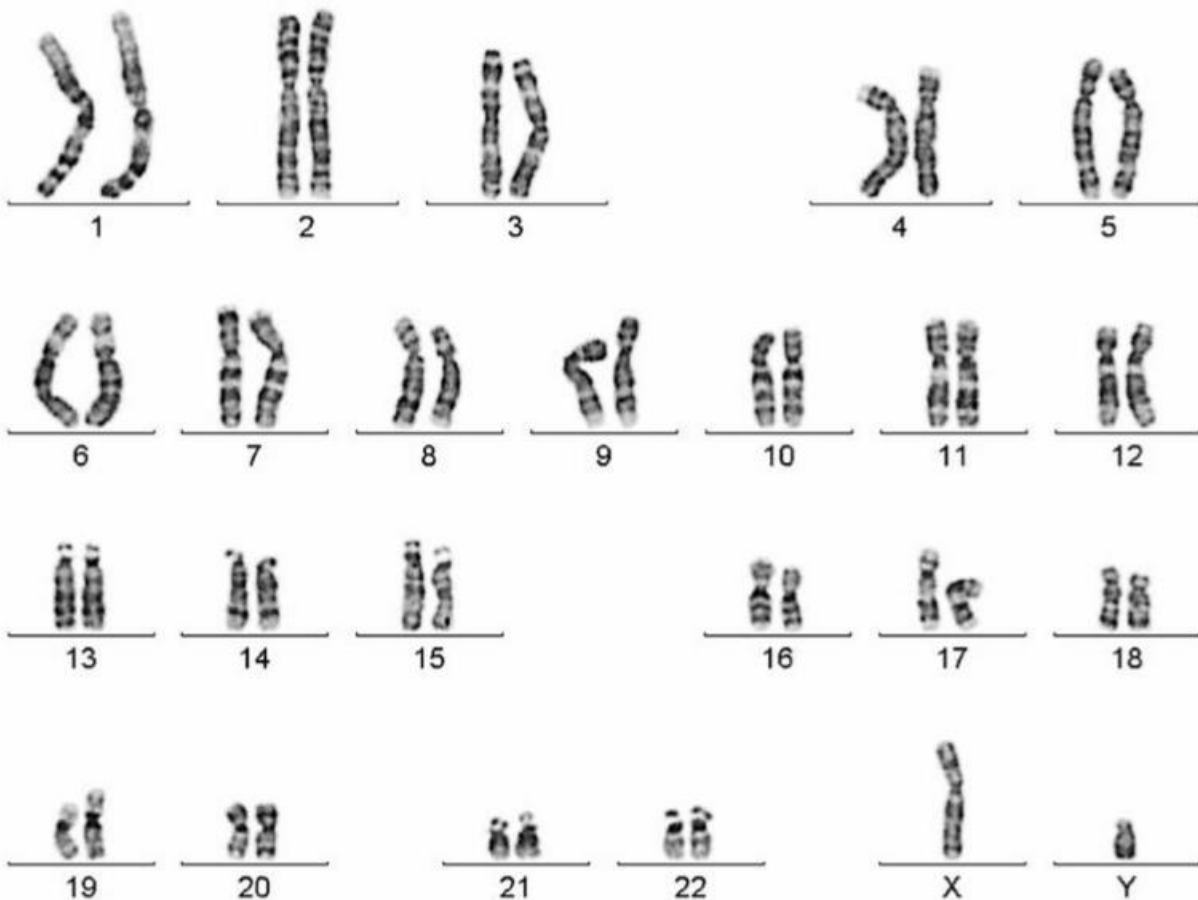
### Coloração com Giemsa



Normalmente, 20 metáfases são coradas e analisadas quanto a anomalias menores, como quebras e lacunas de cromátides; anomalias maiores, como fragmentos acêntricos e cromossomos dicêntricos.

# ➤ Citogenética clássica - técnicas de bandeamento

## Bandeamento G - Giemsa



Os cromossomos são desproteinizados por ação da tripsina e, posteriormente são corados com Giemsa;

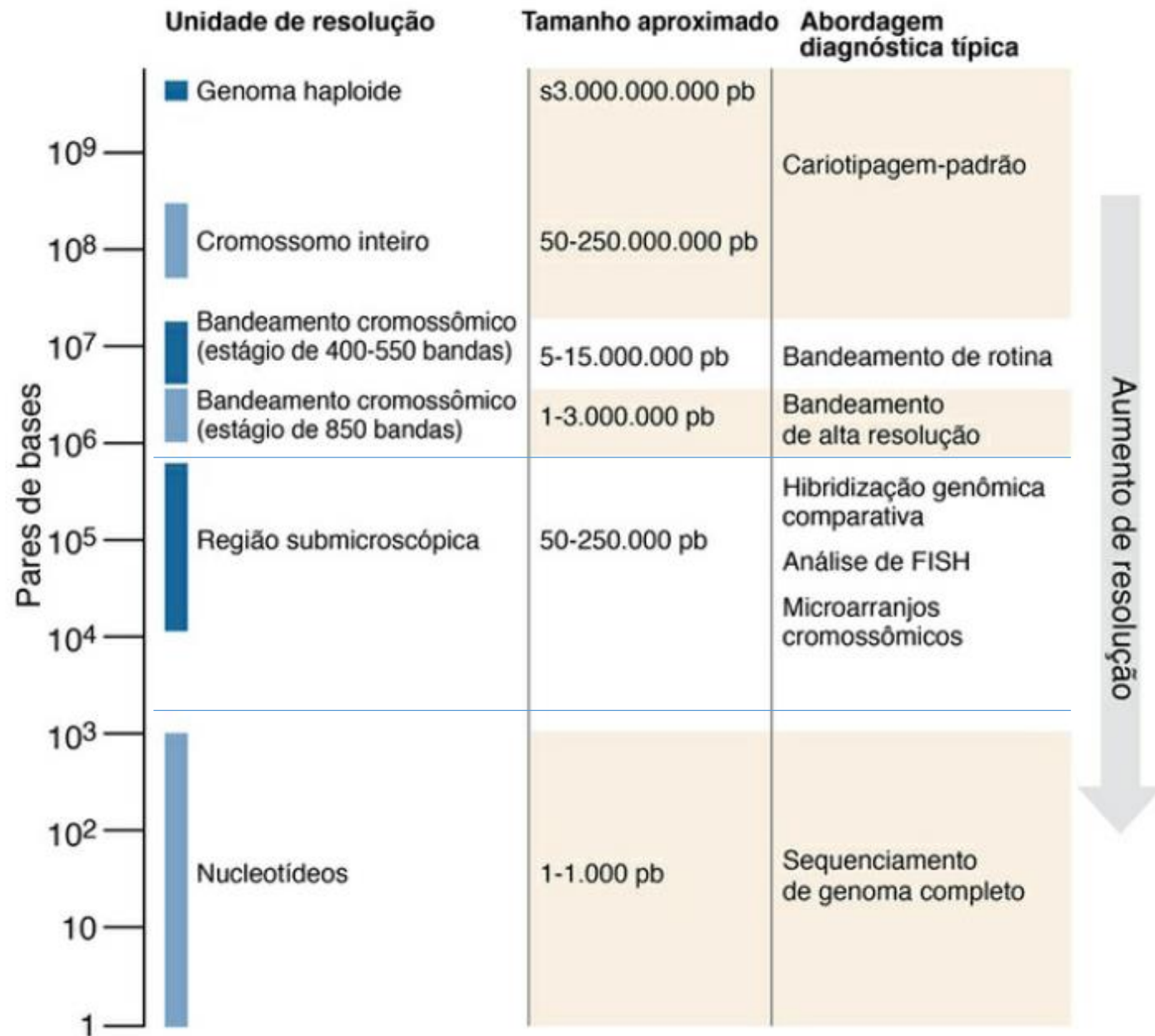
Faixas escuras correspondem ao DNA rico em bases AT e poucos genes ativos;

As bandas G claras têm DNA rico em bases GC e apresentam muitos genes ativos.

**Importância:** alterações numéricas e estruturais em humanos.



# ➤ Citogenética



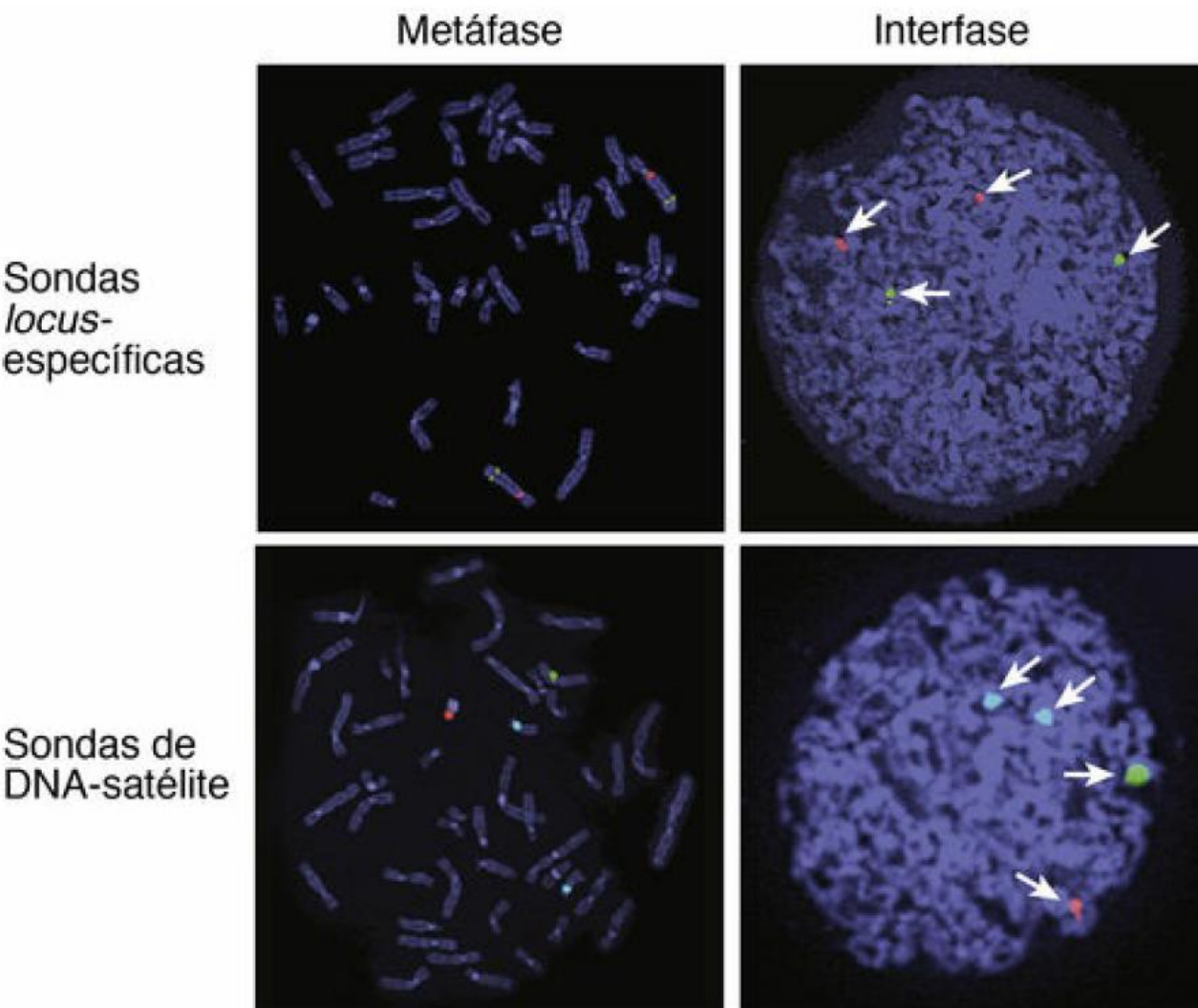
Citogenética clássica

Citogenética molecular

# ➤ Citogenética molecular

## FISH

(Fluorescence in situ hybridization)



- Determinar/Validar a presença ou ausência de sequências específicas de DNA ou RNA;
- Confirmar alterações cromossômicas observadas pela citogenética clássica;
- Detectar alterações crípticas e submicroscópicas.

# ➤ Citogenética molecular

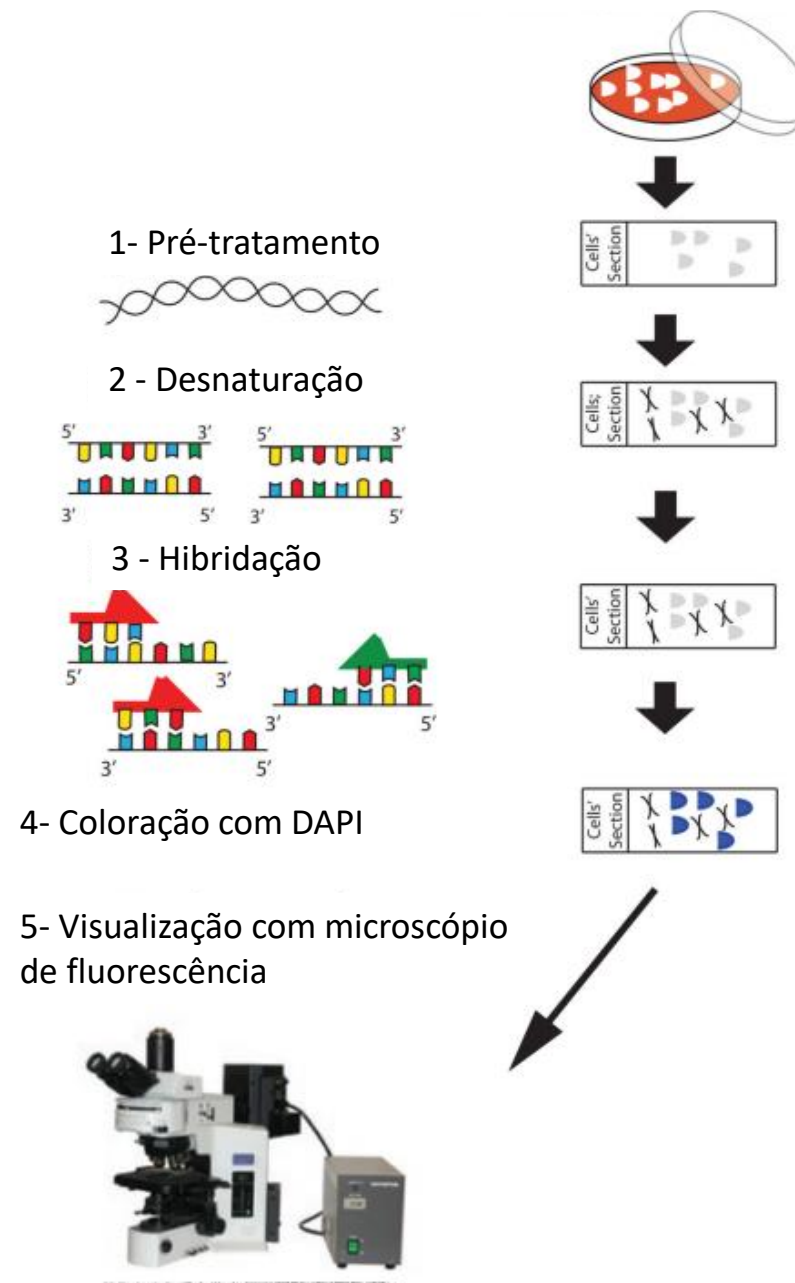
## FISH

(Fluorescence in situ hybridization)

Condições básicas:

- Especificidade da sonda pela região de interesse;
- Marcação fluorescente da sonda que permita a detecção;
- Qualidade de preservação do material biológico.

cultura celular/cromossomo disperso

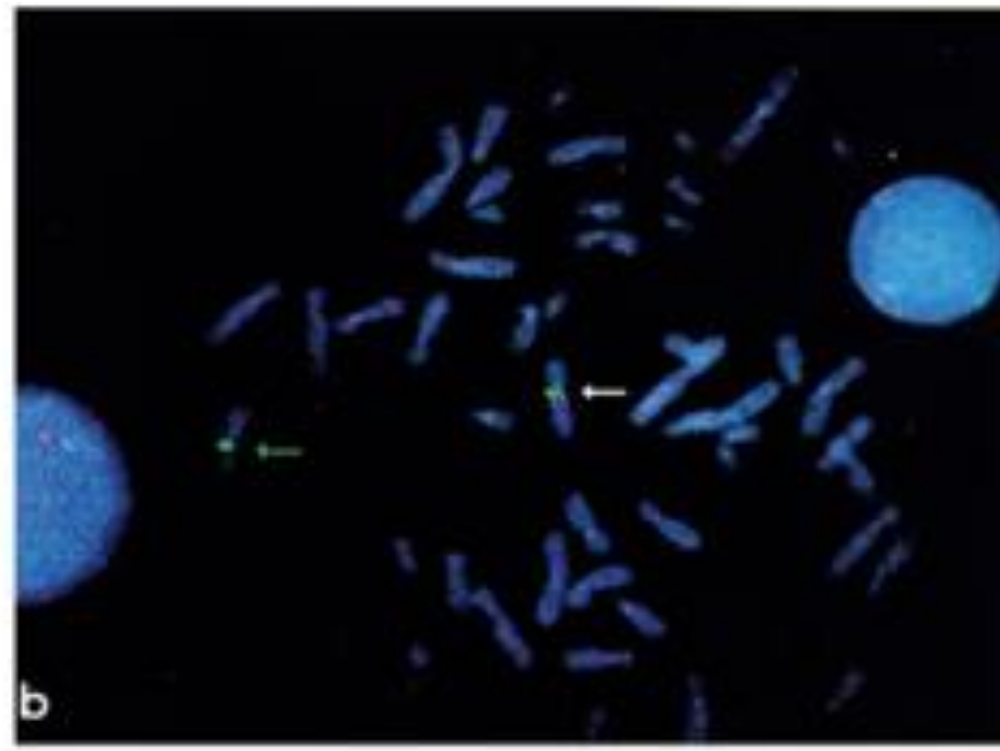
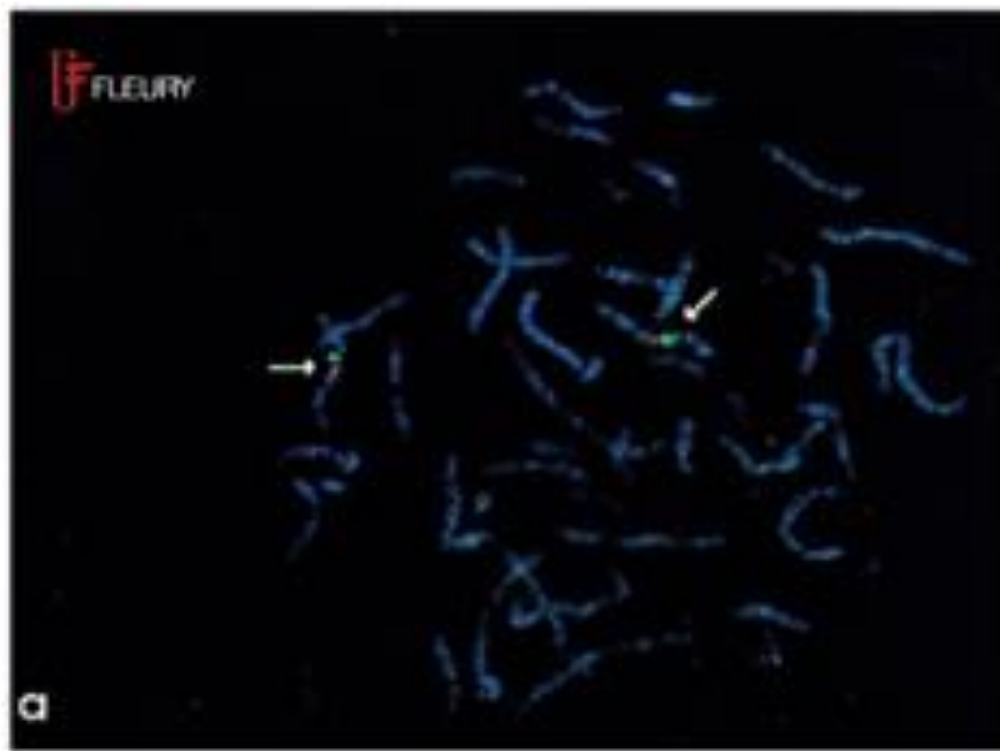


## ➤ Citogenética molecular

### FISH

(Fluorescence in situ hybridization) - exemplo

A síndrome de Williams-Beuren é uma condição genética rara causada por uma mutação no cromossomo 7, que afeta a produção de elastina.



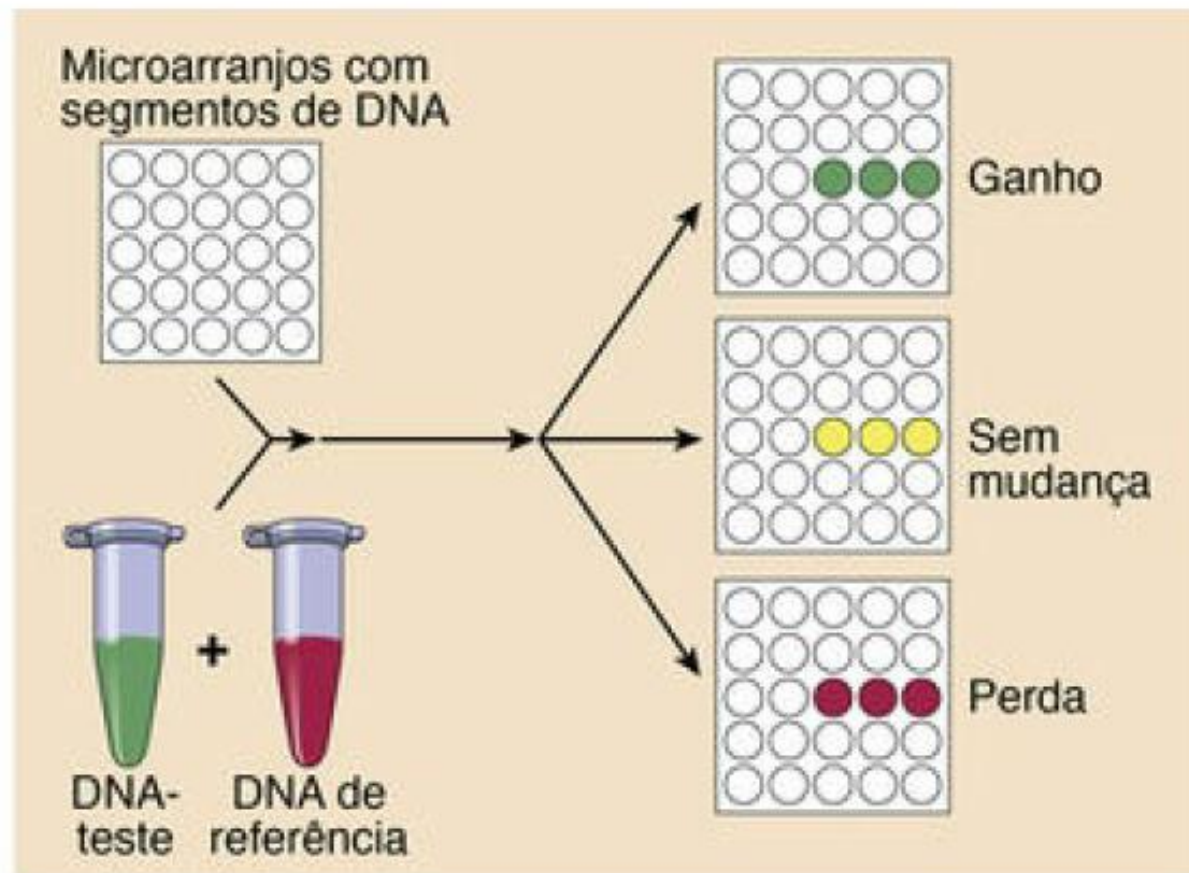
- a) Metáfase com dois sinais vermelhos (gene elastina) e dois sinais verdes (marcador do cromossomo 7).
- b) Detecção de síndrome de Williams-Beuren, apenas um sinal vermelho.

## ➤ Citogenética molecular

**Análise Genômica usando Microarranjos** - Hibridização genômica comparativa (CGH),

Genoma do paciente (*verde*) é cohibridizado com um genoma controle de referência (*vermelho*).

As sondas são misturadas e permite-se que elas hibridizem com sua sequência complementar no arranjo.

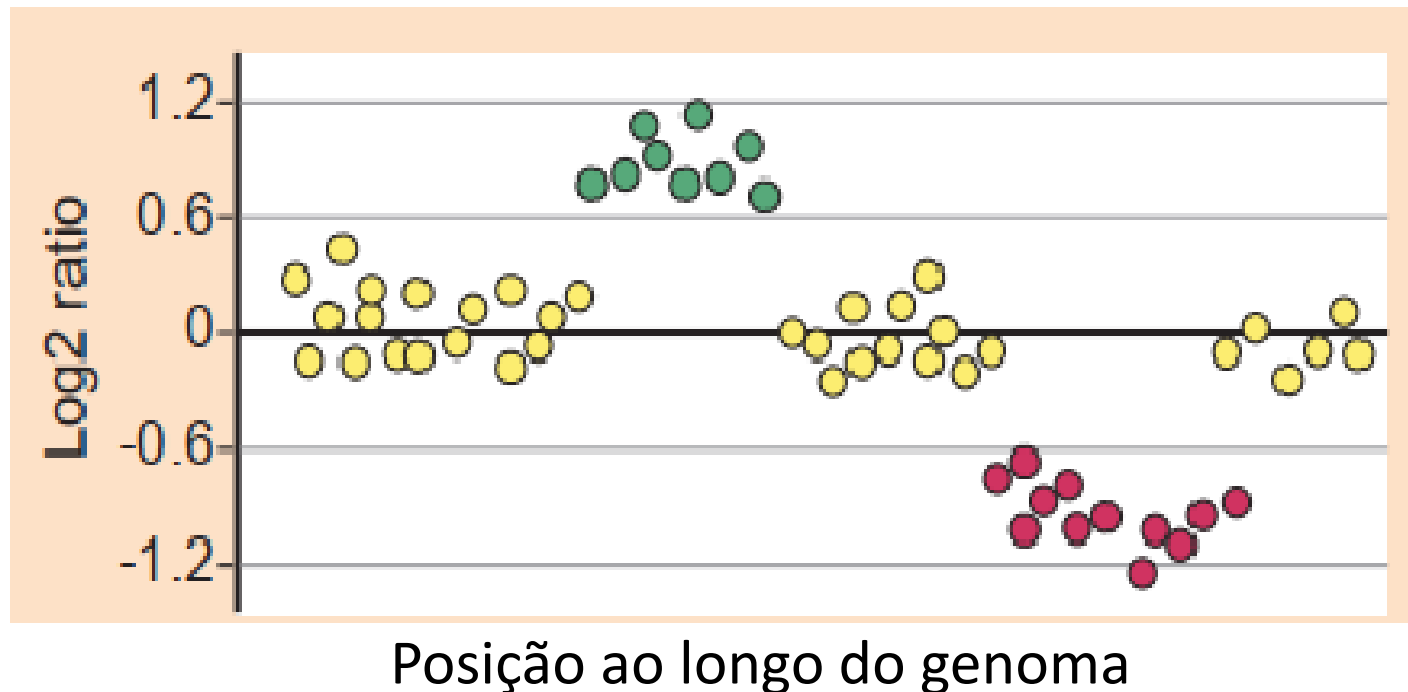


(NUSSBAUM, ROBERT L, 11º ed., 2015)

## ➤ Citogenética molecular

**Análise Genômica usando Microarranjos** - Hibridização genômica comparativa (CGH),

- As intensidades relativas da hibridização de duas sondas são mensuradas;
- Dosagem equivalente entre os dois genomas (*em amarelo*) ou um ganho (*em verde*) ou uma perda (*em vermelho*) na amostra do paciente.

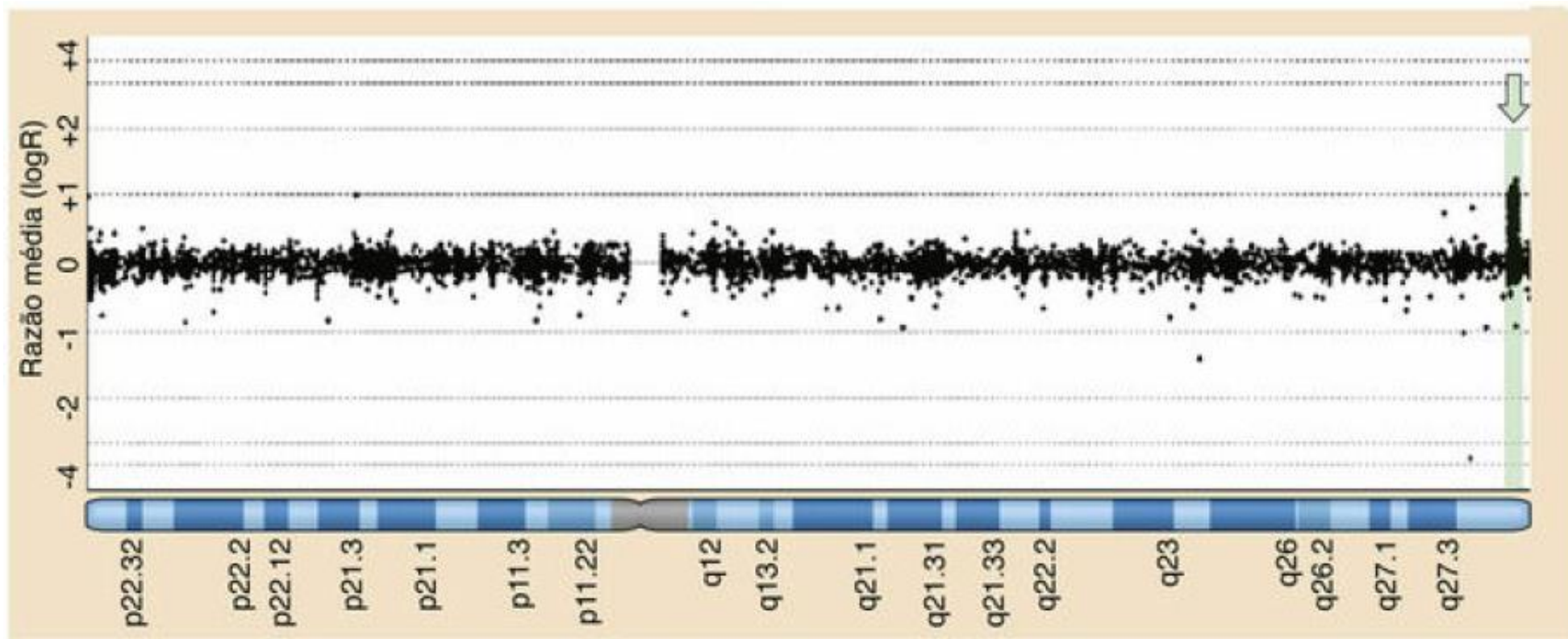




## ➤ Citogenética molecular

### Análise Genômica usando Microarranjos - Hibridização genômica comparativa (CGH)

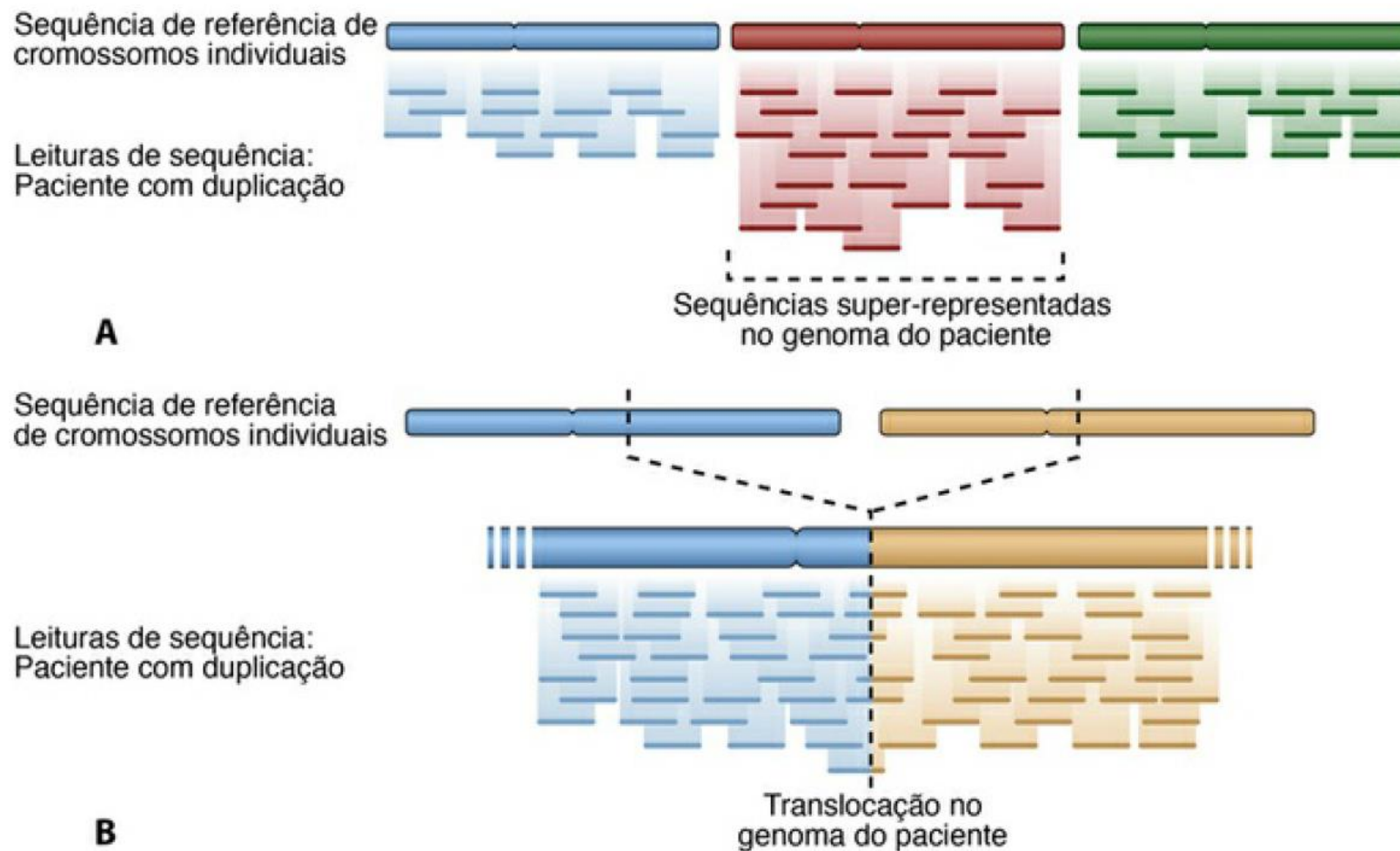
Resultado de um paciente com síndrome de Rett, indicando duplicação de aproximadamente 800 kb em uma banda Xq28 contendo o gene *MECP2*.



As razões de fluorescência foram plotadas ao longo do comprimento do cromossomo X  
Regiões duplicadas no genoma do paciente –seta verde

## ➤ Aumento de resolução

### Sequenciamento de Genoma Completo (Next Generation Sequencing - NGS)

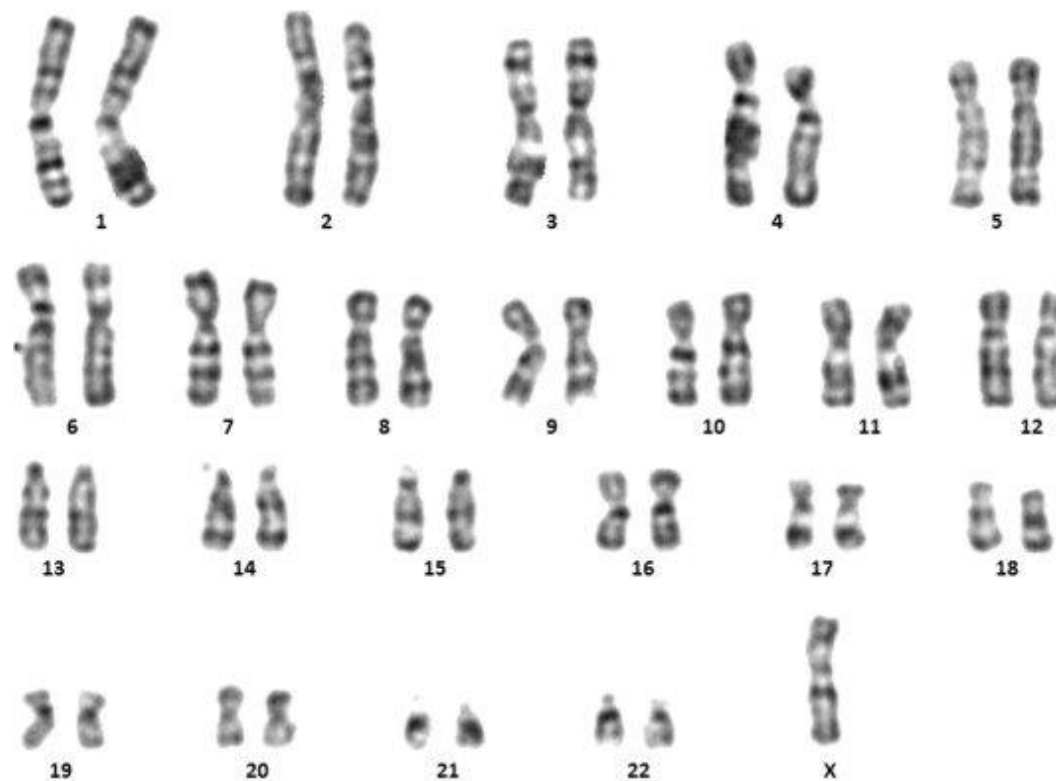


**FIGURA 5-7** Estratégias para detecção de anomalias cromossômicas numéricas e estruturais



# Caso Clínico - 1

## ➤ Síndrome de Turner – 45, X – bandeamento G



# Caso Clínico - 1

---

## ➤ Síndrome de Tuner – 45, X – bandeamento G



### Sintomas

Estatura menor que a média ao nascer;

Mamilos mais espaçados;

Atraso da puberdade;

Baixa estatura;

Pescoço curto e largo;

Orelhas baixas ou protuberantes;

# Caso Clínico -2

## ➤ Leucemia Mieloide Crônica - FISH

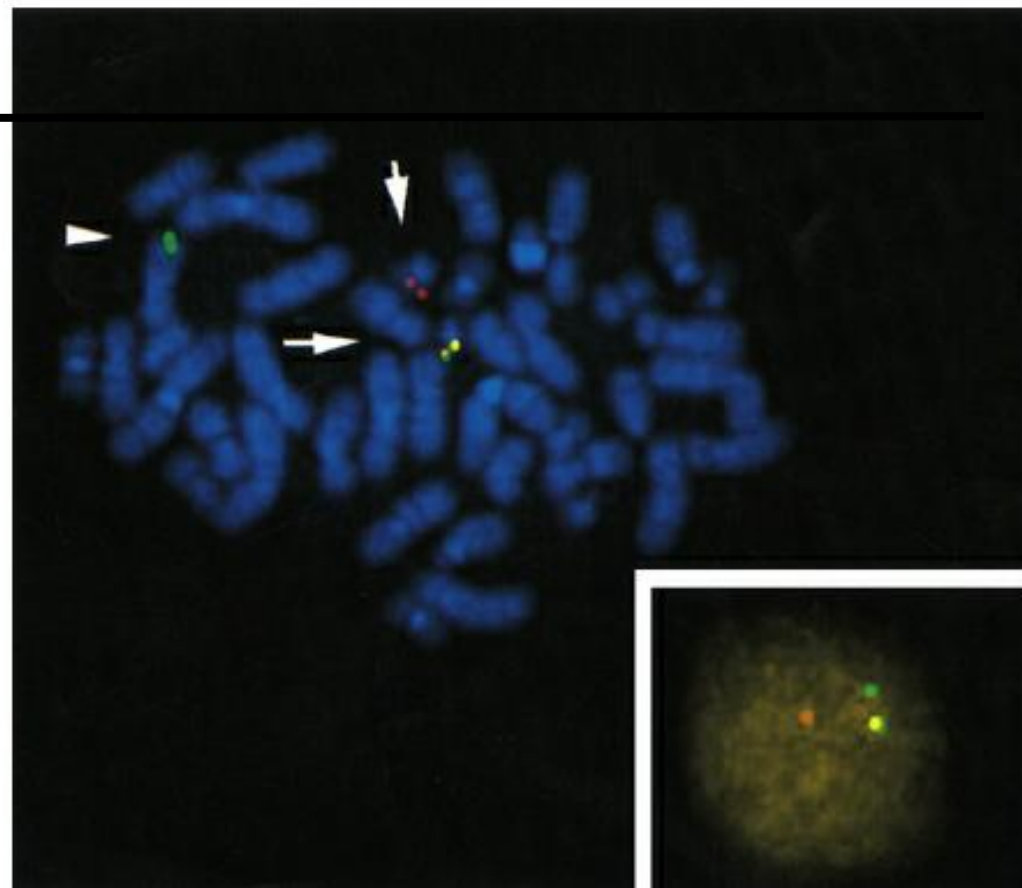
É uma expansão clonal das células progenitoras hematopoiéticas que aumenta as células mieloides.



A transformação das células progenitoras ocorre pela expressão dos oncogenes BCR-ABL1;

ABL1: está presente no cromossomo 9 e ocorre sua translocação para o cromossomo 22;

➡ Sintomas: mal-estar, perda de peso, aumento do baço e lesões ósseas.  
Quando não tratada é fatal.



Ponta da seta (verde) = cromossomo 9 (ABL1)

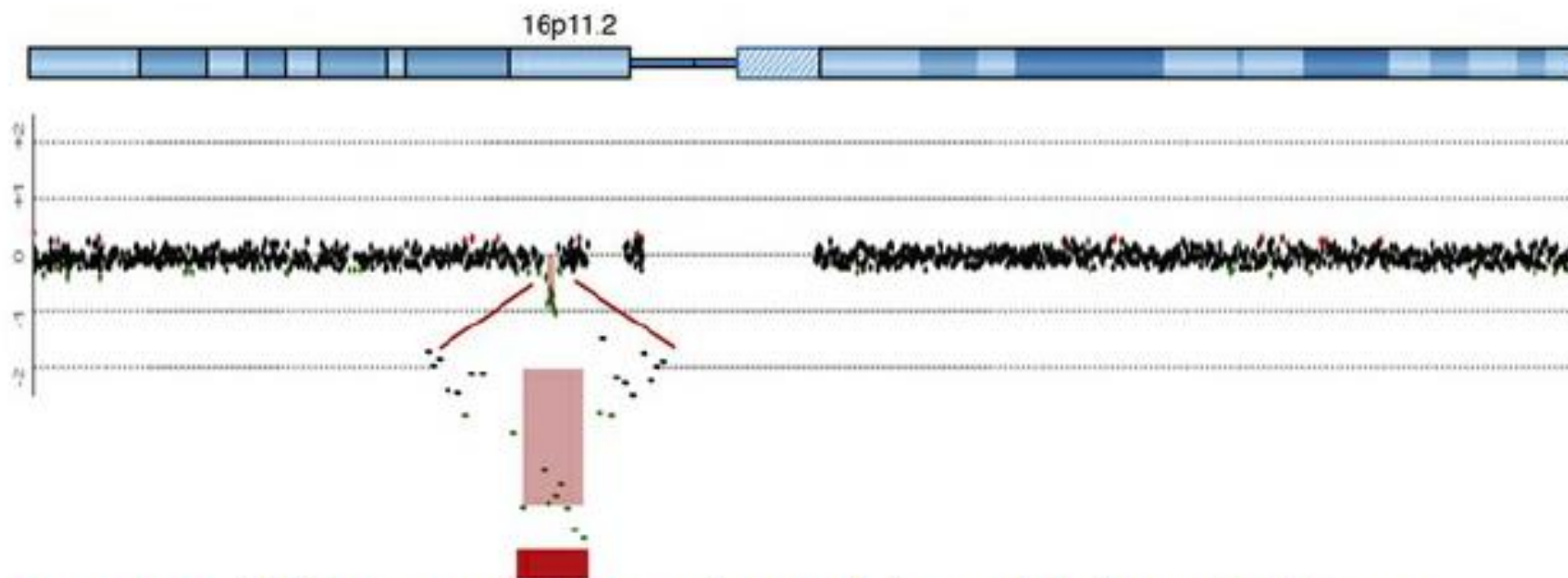
Seta curta (vermelho) = cromossomo 22 (BCR)

Seta longa (amarelo) = translocação de ABL1 9q22

# Caso Clínico -3

## ➤ Autismo – síndrome da microdeleção 16p11.2

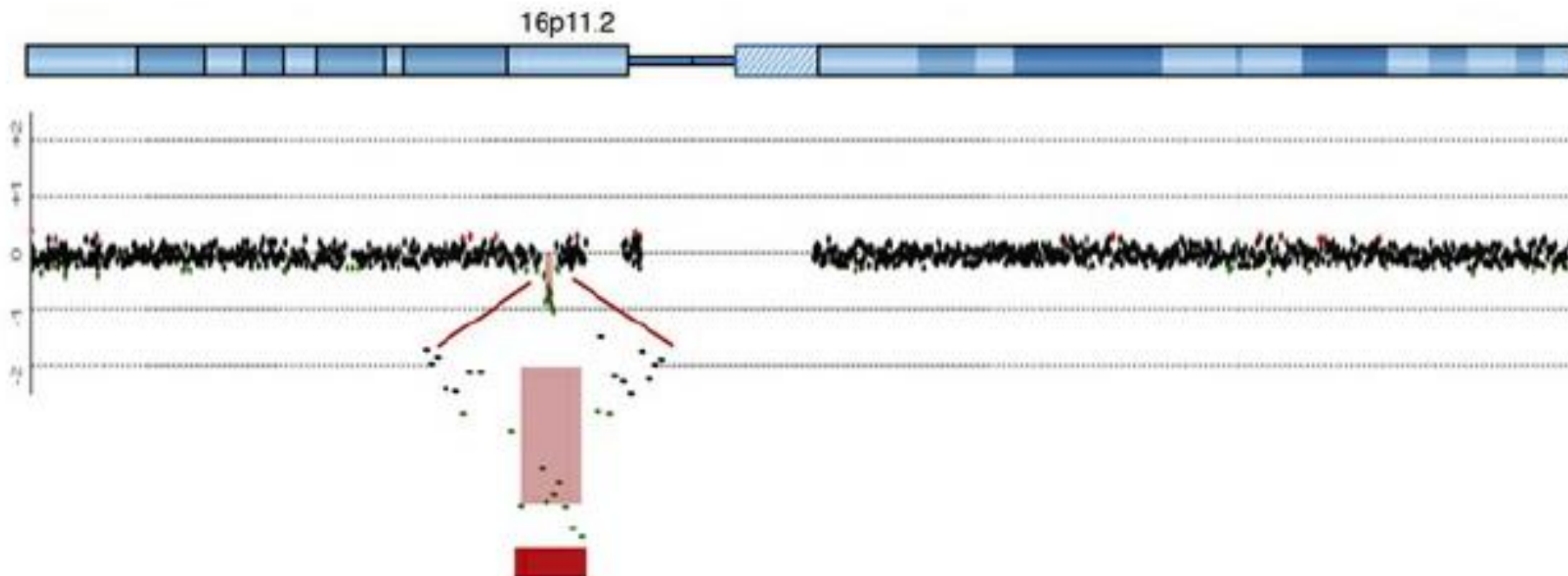
**Análise Genômica usando Microarranjos - Hibridização genômica comparativa (CGH)**



**FIGURA C-5** Análise cromossômica por microarranjo de uma deleção em 16p11.2 em um paciente com transtorno do espectro autista.

Sondas com uma fluorescência normal (preto), enquanto que as sondas com uma razão sugestiva de alguma perda (verde). A região deletada está destacada (rosa). A barra vermelha corresponde à região deletada (≈ 600 kb).

## ➤ Autismo – síndrome da microdeleção 16p11.2



Sintomas - é caracterizada por suscetibilidade ao atraso no desenvolvimento/deficiência intelectual. Normalmente, os atrasos presentes são mais pronunciados nas habilidades de discurso/idioma e socialização, em vez do funcionamento motor.

## ➤ Referências

GRIFFITHS, A.J.F.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C. & GELBART. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 11 edição, 2015.

NUSSBAUM, ROBERT L.; MCINNES, RODERICK R.; WILLARD, HUNTINGTON F. Thompson & Thompson – Genética Médica. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Oitava Edição, 2016.

Hereditas - May 1956 - TJIO - THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN



## ➤ Referências

