

Objetivos

1. Aprender los conceptos básicos de Genética.
2. Conocer el proceso de inactivación del cromosoma X.
3. Correlacionar clínicamente este proceso.
4. Identificar la cromatina sexual en el microscopio óptico.

Corpúsculo de Barr

Conceptos Básicos de Genética

Genoma: Totalidad del **material genético** o genes que posee un organismo.

Gen: Segmento de ADN (ácido desoxirribonucleico) que codifica para una proteína o un ARN (ácido ribonucleico). Es la **unidad hereditaria** que sirve como almacenamiento de la **información genética**. Se encuentra en el cromosoma.

Fenotipo: **Atributos morfológicos y funcionales** de un individuo que se ven a simple vista como resultado de la interacción entre genes (genotipo) y factores ambientales.

Genotipo: **Totalidad de genes** de un individuo en forma de ADN que pueden o no expresarse.

Los tres posibles genotipos para una determinada característica son: **homocigoto dominante**, **homocigoto recesivo** y **heterocigoto**.

Alelo: Es cada una de las **variantes de un mismo gen** que codifica para una característica específica. En un individuo con dos alelos diferentes, uno de los alelos es predominante y se manifiesta cubriendo los efectos del otro; el primero recibe el nombre de **“alelo dominante”** y se representa con una letra mayúscula (**A**); mientras el segundo, que no se expresa, recibe el nombre de **“alelo recesivo”** y se representa con una letra minúscula (**a**).

Homocigoto: Genotipo de un individuo que tiene un par de **alelos idénticos** para una misma característica.

Heterocigoto: Genotipo de un individuo que tiene un par de **alelos diferentes** para una misma característica.

Locus (plural= *loci*): Lugar que ocupa el gen en el cromosoma.

Cromosoma: Son estructuras que se forman tras la **condensación** de la **cromatina** al unirse el ADN a proteínas intranucleares (**histonas**). La palabra es de origen griego "*chromos*" que significa: color y "*soma*" que significa: cuerpo; debido a su propiedad de teñirse con algunos colorantes. Antes de la división de una célula, durante la **Profase**, la cromatina se condensa para formar a los cromosomas, estos se observan mucho mejor durante la **Metafase**. El cromosoma tiene dos **cromátidas** (dos copias iguales de ADN), un **centrómero** que las mantiene unidas; y cada una tiene **telómeros** en los extremos.

Tipos de cromosomas

Los cromosomas pueden diferenciarse de acuerdo a su estructura:

- A. Metacéntrico:** El centrómero se ubica en el **centro**, con los brazos de las cromátidas de igual longitud.
- B. Submetacéntrico:** El centrómero se encuentra **alejado del centro**, y un par de brazos de las cromátidas es más corto que el otro.
- C. Acrocéntrico:** El centrómero se encuentra **próximo a uno de los extremos**, un par de brazos de las cromátidas es casi inexistente.

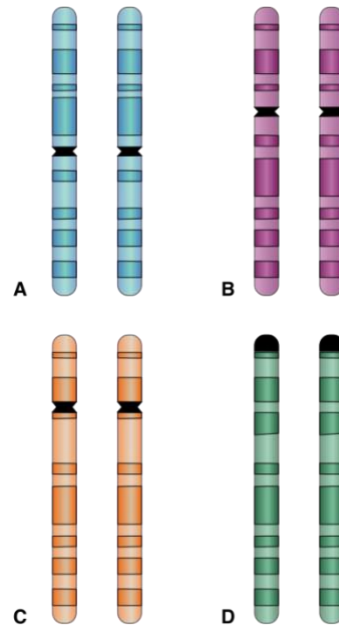


Figura 2.1. Tipos de cromosomas: metacéntrico (A), submetacéntrico (B), acrocéntrico (C) y telocéntrico (D).

D. Telocéntrico: El centrómero se encuentra en la región de los **telómeros**. Solo tiene un par de brazos de las cromátidas. *Fig. 2.1.*

Además, los cromosomas están denominados por número y los podemos clasificar en dos tipos:

Cromosoma autosómico (Autosoma): Son los cromosomas numerados del **1 al 22** en los seres humanos. Cada uno posee un cromosoma homólogo dando un total de 44 autosomas.

Cromosoma sexual: En los humanos existen dos tipos de cromosomas sexuales: "**X**" y "**Y**", los cuales determinan el sexo de una persona. Las mujeres tienen dos cromosomas X en sus células, mientras que los hombres tienen uno X y uno Y.

Cromatina: Es la forma **descondensada** del ADN, ARN y las histonas. La cromatina

se encuentra en el **núcleo** dándole un aspecto granuloso. Es observable en los núcleos de las células que no están en división.

Tipos de cromatina

A. Eucromatina: Comprende las regiones descondensadas de cromatina. Se caracteriza por la unión de **grupos acetilos** a residuos de **lisina** en las histonas, lo cual ayuda a descondensar la cromatina y a que ésta se vuelva más accesible para los factores de transcripción. Por esta razón se dice que es **transcripcionalmente activa**. Es la cromatina que sí codifica para proteínas.

B. Heterocromatina: Son regiones de cromatina que están más **condensadas**, donde las histonas están menos acetiladas en comparación de la eucromatina. Se considera **transcripcionalmente inactiva**. Es la cromatina que no codifica para proteínas. Existen dos tipos:

a) Heterocromatina facultativa: Cromatina que puede **alternar** entre eucromatina y heterocromatina. Se caracteriza por la presencia de secuencias repetidas tipo **LINE** y contiene información de genes que no se expresan o que pueden expresarse en algún momento. El **corpúsculo de Barr** es un ejemplo clásico.

b) Heterocromatina constitutiva: Es el conjunto de zonas que se encuentran condensadas en todas las células y, por tanto, su ADN **no se transcribe nunca** en ninguna de ellas. Contiene **ADN satélite**, principalmente tipo alfa, I, II y III.

Corpúsculo de Barr

Definición

El corpúsculo de Barr es una masa condensada de **heterocromatina sexual** que se encuentra en el núcleo de las **células somáticas** de las hembras, específicamente en la cara interna de la **membrana nuclear**, y es visible durante la **interfase** del ciclo celular.

El corpúsculo de Barr se ajusta a la "**regla (n-1)**", la cual establece que el número de corpúsculos de Barr de una célula es igual al número de cromosomas X que posee esa célula (n) menos 1.

Antecedentes históricos

Murray Barr y Ewart Bertram, en la década de los 40's, describieron la presencia de una **masa de cromatina** condensada en los núcleos de las células de las gatas, pero **ausente en las células de los machos**, por lo que plantearon que esta estructura representaba un **cromosoma X** condensado y al cual se le denominó corpúsculo de Barr.

Hipótesis de Lyon

A principios de la década de los 60's, Mary Lyon formuló la hipótesis de que un **cromosoma X** de cada **célula somática** de la mujer se encuentra **inactivo**, con el fin

de **compensar** la cantidad de genes ligados al cromosoma X, tanto en hombres como en mujeres.

Esta hipótesis dice que la inactivación de este cromosoma ocurre en las **primeras etapas del desarrollo embrionario** en la mujer, y que puede inactivarse el cromosoma X que proviene del padre en unas células y de la madre en otras.

En cada célula se escoge **aleatoriamente** uno de los cromosomas X para ser inactivado; de este modo la mitad de las células del embrión tiene inactivo el cromosoma X de la madre y la otra mitad tiene inactivo el del padre.

Una vez que un cromosoma X está inactivo, permanecerá así en la célula y en todos los descendientes de esa célula (**inactivación clonal**) por lo tanto, la inactivación del cromosoma X es un proceso determinado de forma **aleatoria y permanente**.

Todas las mujeres normales son **mosaicos** para la actividad del cromosoma X, porque cuentan con dos poblaciones de células diferentes: una población presenta un cromosoma X activo que provino del padre, y la otra un cromosoma X activo que provino de la madre; en cambio, los varones solo tienen una copia del cromosoma X, por lo tanto, no son mosaicos, sino que se consideran **hemocigóticos** para el cromosoma X.

Nomenclatura Cromosómica

Como se describió anteriormente, en los cromosomas encontramos el **“locus”**, que es el lugar específico donde podemos hallar un gen. Para poder identificar el

locus del gen del que se hable, se escribe de la siguiente manera:

1. El número de cromosoma: 1-23, X o Y.
2. El símbolo del brazo de este cromosoma, **“p”** para el brazo corto y **“q”** para el largo.
3. La región del brazo.
4. La banda de la región.
5. Si se tiene una sub-banda, se coloca un punto y el número de esta.

Un ejemplo de lo anterior sería:

7q31.2

Y se leería así: sub-banda 2, de la banda 1, de la región 3, del brazo largo del cromosoma 7.

Centro de Inactivación del Cromosoma X

Para que pueda ocurrir la **inactivación** en cualquiera de los cromosomas X que se encuentren en la célula, se necesita de un segmento específico del cromosoma X: el Centro de Inactivación del X (**XIC**). *Fig. 2.2.*

Esta región se localiza en: **Xq13**, y es ahí donde se encuentran los genes específicos necesarios para este proceso de inactivación. El XIC contiene los siguientes genes:

A. XIST: Este gen es el más importante, sin él no ocurre la inactivación. Su función es la transcripción de varios **ARNs no codificantes** (no generan proteínas) que cubren al cromosoma elegido para su inactivación.

B. TSIX: Este **gen antisentido** del gen XIST. Codifica ARNs no codificantes pero que se unen a los ARNs producidos por el gen

XIST bloqueando así su función. Se expresa principalmente en el cromosoma X que permanecerá activo.

C. Xite: Gen promotor que potencia las funciones del gen TSIX permitiendo su transcripción.

D. DXPas34: Es una región de metilación diferencial, la cual al activarse estimula la transcripción de TSIX y el consiguiente silenciamiento de XIST, ayudado así al proceso de selección del cromosoma X que permanecerá activo.

E. Xce: Esta región participa en la selección del cromosoma que se va a inactivar.

F. Xpr: Sitio de apareamiento entre cromosomas X de la célula.

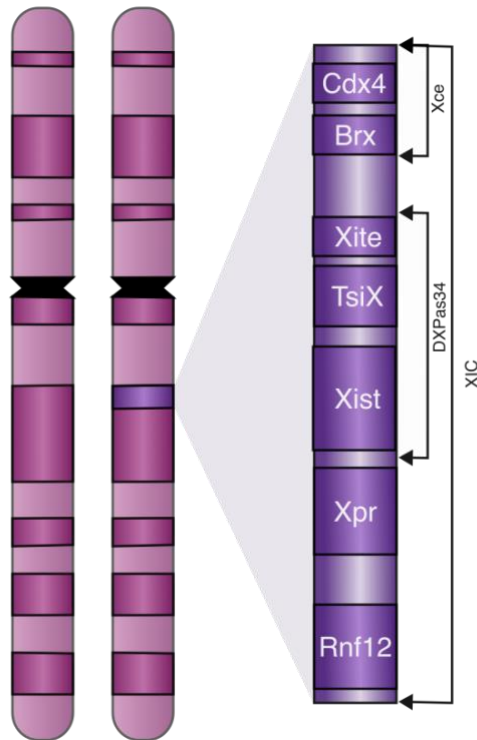


Figura 2.2. Centro de Inactivación del cromosoma X.

Inactivación

El proceso de inactivación del cromosoma X ocurre en etapas muy tempranas del desarrollo embrionario, específicamente durante la etapa de **blastocisto**, antes de la diferenciación de las tres capas germinales embrionarias principales. El estudio de este proceso en humanos ha sufrido muchas limitantes, sin embargo, su estudio en ratones ha permitido generar una idea de que este ocurre en **tres fases**: la iniciación, la dispersión y el mantenimiento. *Fig.2.3.*

Iniciación

Esta fase consiste en la elección del cromosoma que se inactivará y la activación definitiva y estable del gen XIST en este. Para iniciar este proceso, en primera instancia se realiza un **conteo** del número de cromosomas autosómicos y sexuales que se encuentran en la célula, con la finalidad de determinar la cantidad de cromosomas X que serán inactivados de forma aleatoria siguiendo la regla “n-1”.

Previo a la iniciación, en la etapa de mórula, ocurre un apareamiento entre los cromosomas X gracias al **Xpr** (X-paring region), generando una señal que provoca la expresión del gen XIST en todos los cromosomas X existentes. Esta expresión es regulada por diversos factores responsables de pluripotencialidad (**PRF**), manteniéndola en un bajo nivel, por lo que al inicio, la expresión del gen XIST es **transitoria e inestable**.

Posteriormente en la iniciación, durante la etapa de blastocisto, los PRF desaparecen, permitiendo el aumento en

la expresión de **XIST** y un apareamiento entre los genes **TSIX** y **Xite** de ambos cromosomas. Lo anterior produce una señal de elección que, por un lado, potencia la expresión de TSIX bloqueando a XIST en el cromosoma X que permanecerá activo (**Xa**); y por otro lado, esta misma señal “apaga” a TSIX en el cromosoma que permanecerá inactivo (**Xi**), permitiendo la **activación de XIST** de forma **estable y definitiva**.

Este proceso se repetirá hasta que las regiones de apareamiento ya no cuenten con una contraparte en otro cromosoma X, produciendo la **inactivación de varios cromosomas X** en aquellos casos donde existan más de uno.

Dispersión

Una vez activo el gen XIST, este comienza a **sobreexpresarse** generando innumerables ARNs no codificantes que se expandirán a gran parte del cromosoma Xi que lo mantendrán inactivo en un inicio.

Mantenimiento

Aunque el cromosoma ya está cubierto por los ARNs, este no se mantiene silenciado por completo, para esto, tienen que suceder **mecanismos epigenéticos** (principalmente la **metilación** y la **desacetilación** de las histonas), la acción de promotores génicos, la **compartimentalización** de Xi en un lugar desprovisto de maquinaria transcripcional, entre otros procesos; que tendrán como resultado la imposibilidad de que el ADN sea transcripcionalmente activo, recordando que la acetilación y la desmetilación de las histonas activarán el ADN, mientras que la metilación y la desacetilación la inhibirán.

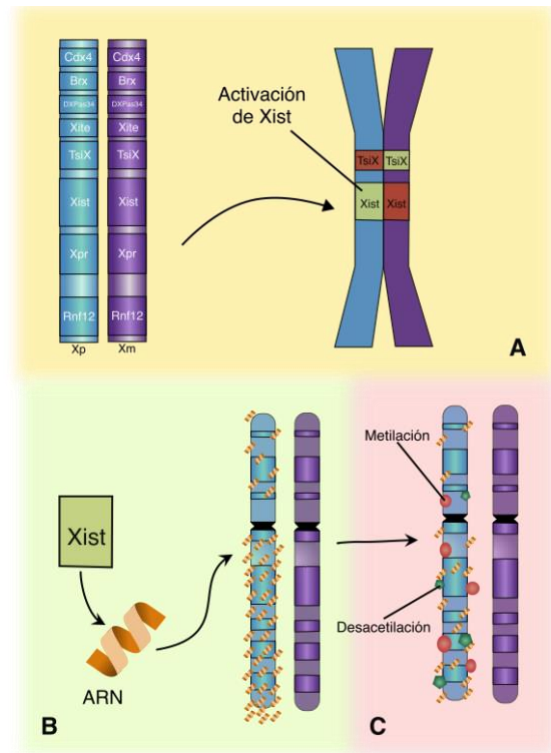


Figura 2.3. Inactivación del cromosoma X: iniciación (A), dispersión (B) y mantenimiento (C). X paterno (Xp) X materno (Xm).

Escape de la Inactivación

A pesar de estar ubicados en un entorno constitutivamente reprimido, en los humanos aproximadamente el **15%** de genes dentro del Xi **evitan la inactivación**.

Estos genes pueden variar entre especies, individuos, tejidos o tipos celulares, sin embargo, la mayoría de estos podemos encontrarlos en homológamente en el cromosoma “Y”, permitiendo un balance de genes entre ambos sexos de una misma especie y que cada uno contenga la misma cantidad de material genético funcional.

Lo anterior explica por qué, a pesar de contar con únicamente un cromosoma X activo, las personas con cariotipo **45, X**

(Síndrome de Turner) o **47 XXY** (Síndrome de Klinefelter) tienen características anormales, pues en estas personas podemos encontrar una ausencia o duplicidad de aquellos genes activos en cromosomas X inactivos.

Reactivación

Aunque la inactivación aleatoria se mantiene y transmite a las células hijas de cada célula, en los gametos de la mujer sucede una reactivación de este cromosoma. Esta activación del cromosoma X sucede en la **profase de la Meiosis I** y con esto se asegura que cada uno de los ovocitos obtenga un cromosoma X activo.

Importancia clínica

El cromosoma X tiene una gran cantidad de genes que no se encuentran en el cromosoma Y. Las hembras tienen el doble de copias de estos genes ligados al X y si no existiera un mecanismo para corregir este desequilibrio, expresarían el doble de los transcritos de estos genes.

Se podría pensar que no tener un cromosoma Y es un problema para las hembras, pero eso no es así, debido a que los pocos genes que hay en el cromosoma Y, solo son necesarios para el desarrollo de los machos.

La compensación de esta dosis génica demuestra, que, a pesar de esta diferencia, las células femeninas y las masculinas tienen cantidades equivalentes de las proteínas codificadas por los genes del cromosoma X.

Las relaciones de dosis son importantes debido a que los productos de los genes

ligados al X deben interactuar con los productos de los genes de cromosomas autosómicos en las diferentes vías metabólicas y del desarrollo.

Es muy importante recalcar que, como se mencionó anteriormente, la inactivación del X no es completa, alrededor del **65%** de los genes presentes en el cromosoma X se inactivan; el **20%** se inactivan de forma parcial y el **15%** no están inactivos.

Se piensa que el fenotipo en las personas con cariotipo 45X es debido a la disminución de dosis de todos o de algunos de los genes que no se inactivan.

En los postulados de **Mary Lyon** se menciona que la inactivación del cromosoma X se realiza al azar en células somáticas, esto podría explicar **el patrón de mosaico** de algunas enfermedades causadas por genes que están en el cromosoma X, como: la displasia ectodérmica anhidrótica, enfermedad que afecta a diversos tejidos derivados del ectodermo.

Sin embargo, en algunas circunstancias la inactivación puede ser **preferencial**, inactivándose el mismo cromosoma X en todas las células. Esto sucede, por ejemplo, en los casos de anomalías estructurales como en las **deleciones** o las **duplicaciones**, afectando a uno de los cromosomas X, en cuyo caso suele inactivarse el cromosoma que está **anormal**. En cambio, en individuos con translocaciones equilibradas entre el cromosoma X y un autosoma, se inactiva de preferencia el cromosoma normal; de lo contrario resultaría a una monosomía parcial del autosoma implicado en la **translocación**.

También se ha observado **inactivación preferencial en familias** con deleciones que afectan a *XIST* o a *TSIX*, y en familias con mutaciones del promotor de *XIST*. En otros casos raros de **enfermedades recesivas ligadas al sexo**, la inactivación preferencial del cromosoma X normal en mujeres portadoras puede dar a lugar a la aparición de la enfermedad.

La identificación del **Corpúsculo de Barr** fue de gran utilidad en décadas pasadas en los casos en donde el sexo de un individuo estaba en duda, por la presencia de genitales ambiguos al nacimiento.

En la actualidad se tienen mayor acceso a estudios más confiables como **el cariotipo**, por lo tanto, el reconocimiento del corpúsculo de Barr ha caído en desuso y su estudio se ha enfocado solo para fines didácticos.

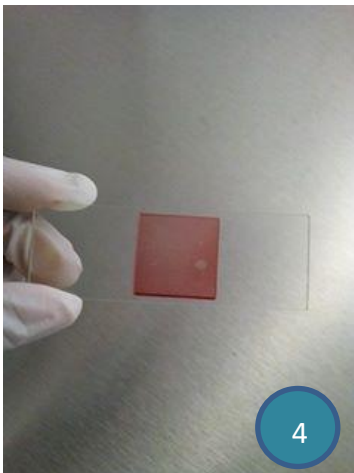
Materiales

Cantidad	Material
1	Abatelenguas
1	Portaobjetos con cubreobjetos
10 μ l	Acetato de orceína
1	Citospray®
1	Micropipeta
1 gota	Aceite de inmersión
1	Microscopio óptico



Procedimiento

1. Realizar un enjuague bucal con agua corriente.
2. Hacer un primer raspado de la mucosa oral con un abatelenguas y desechar.
3. Hacer un segundo raspado y realizar un frotis sobre el portaobjetos con un movimiento firme y rápido.
4. Fijar con metanol o Citospray®.
5. Esperar 1 minuto a que seque el fijador.
6. Con la micropipeta colocar 10 μ l de acetato de orceína sobre la muestra.
7. Colocar el cubreobjetos sobre la gota de acetato de orceína, permitiendo que ésta se expanda por capilaridad.
8. Visualizar la muestra al microscopio con aceite de inmersión.





Reporte

ACTIVIDAD UNO

Completa el siguiente cuestionario:

1. ¿Cuál es la diferencia entre la heterocromatina constitutiva y la heterocromatina facultativa? ¿Qué tipo de heterocromatina es el Corpúsculo de Barr?

2. ¿En qué fase de la mitosis se observa la cromatina sexual?

3. Menciona los postulados de Mary Lyon.

4. ¿Dónde se encuentran los genes que participan en la inactivación del cromosoma X?

5. En el caso de que hubiera 5 cromosomas X, ¿Cuántos se inactivarían?

6. Describe brevemente el mecanismo de acción del gen XIST.

7. ¿Cuándo debe reactivarse el cromosoma X?

8. ¿Qué porcentaje del cromosoma X permanece activo?

9. ¿En qué situaciones la inactivación NO ocurre al azar?

10. ¿Cuántos corpúsculos de Barr tendría una persona con cariotipo 47XXY y una con cariotipo 45,X? ¿De qué síndromes se tratan?

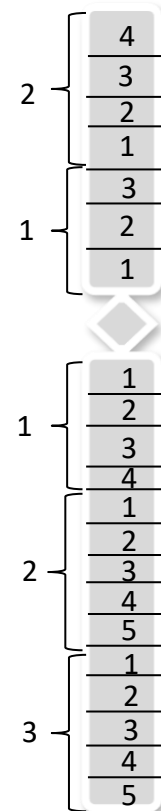
ACTIVIDAD DOS

Completa la tabla, anotando con palabras el locus que se encuentra a la izquierda.

LOCUS	INTERPRETACIÓN
21q11.2	
Xq13	
5p22.3	
12q32	
3p21.3	

ACTIVIDAD TRES

Sombrea el locus del centro de inactivación del X (XIC).



Bibliografía

1. Del Castillo, R. V, Uranga, H. R., & Zafra, R. G. (2012). *Genética clínica*. México: El Manual Moderno.
2. Solari, A. J. (2011). *Genética Humana: Fundamentos y aplicaciones*. Buenos Aires: Médica Panamericana.
3. Jorde, L. B., Carey, J. C., Bamshad, M. J. & White, R. L. (2011). Capítulo 2. *Biología celular básica: estructura y función de los genes y cromosomas*. *Genética Médica*. España: Elsevier, pp 5 – 14
4. Jorde, L. B., Carey, J. C., Bamshad, M. J. & White, R. L. (2011). Capítulo 4. *Herencia autosómica dominante y recesiva* *Genética Médica*. España: Elsevier, pp 56-59
5. Jorde, L. B., Carey, J. C., Bamshad, M. J. & White, R. L. (2011). Capítulo 5. *Modos de herencia ligados al sexo y no clásicos*. *Genética Médica*. España: Elsevier, pp 76-78
6. Brockdorff, N. (2011). Chromosome silencing mechanisms in X-chromosome inactivation: unknown unknowns. *Development*, 138, 5057-5065. 2017, Marzo 20, De The Company of Biologist Base de datos.
7. Acosta Lobo ME, Vásquez Araque NA, Londoño Franco LF. (2013). Inactivación del cromosoma X en el desarrollo embrionario mamífero. *Rev CES Med Zootec*. Vol 8(2): 108-119
8. Disteche, C. M. & Berletch, J. B.. (2015). X-chromosome inactivation and escape. *J Genet*, 94, 591-599. 2017, marzo 20, De PMC Base de datos
9. Fang, H., Disteche, C. M., & Berletch, J. B. (2019). X inactivation and escape: epigenetic and structural features. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 219.
10. Furlan, G., & Galupa, R. (2022). Mechanisms of Choice in X-Chromosome Inactivation. *Cells*, 11(3), 535.
11. Dossin, F., & Heard, E. (2022). The molecular and nuclear dynamics of X-chromosome inactivation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 14(4), a040196.