

# **TRES ETAPAS EN LA HISTORIA DE LA CITOGENÉTICA CLÍNICA**

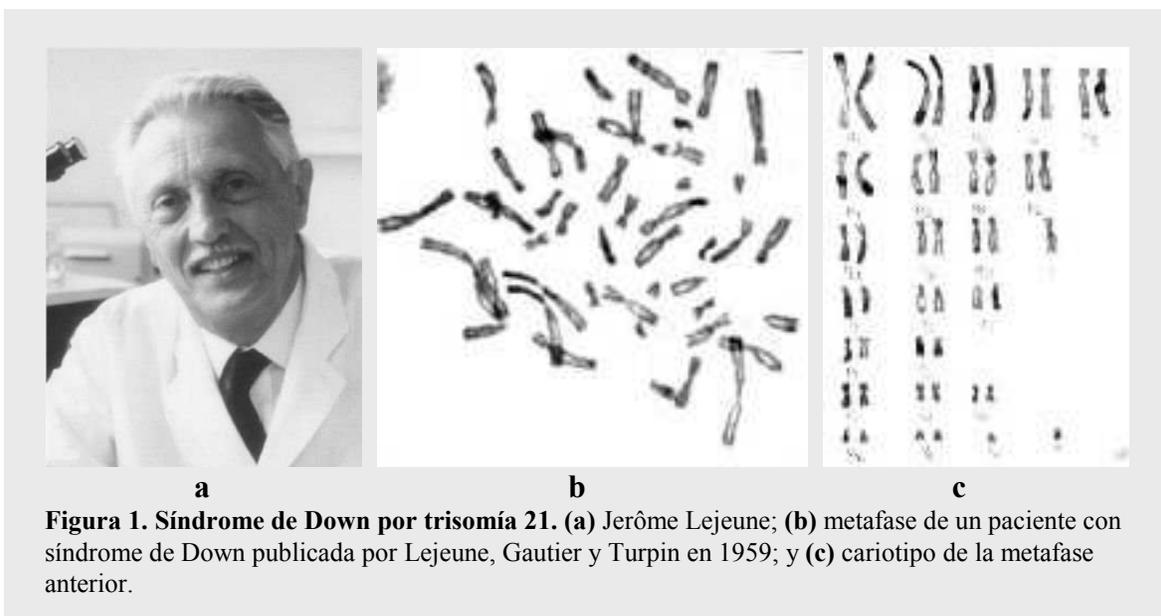
*Eduardo A. Pastene*

## **La era pre-bandeo**

Ya desde principios del 1900 se aceptaba la idea de que el material hereditario estaba contenido en los cromosomas; hipótesis que fue confirmada por los experimentos de Boveri en erizo de mar y de Sutton en saltamontes en 1902. Desde entonces el campo de la citogenética animal y vegetal fue desarrollándose hasta alcanzar la caracterización morfológica del juego de cromosomas completo de diversas especies. Sin embargo, las metodologías utilizadas en el estudio cromosómico no eran adecuadas para describir el cariotipo humano.

Hacia mediados del siglo XX diversas publicaciones pretendían demostrar que la especie humana contiene 48 cromosomas en sus células somáticas y muchas más basaban sus experiencias en dicha afirmación que era universalmente aceptada. Durante tres décadas la comunidad científica perseveró en el error hasta que en 1956 Tjio y Levan demostraron sin ambigüedad que las células somáticas humanas normales contienen 46 cromosomas. Independientemente, en el mismo año, Ford y Hamerton confirmaron esta observación.

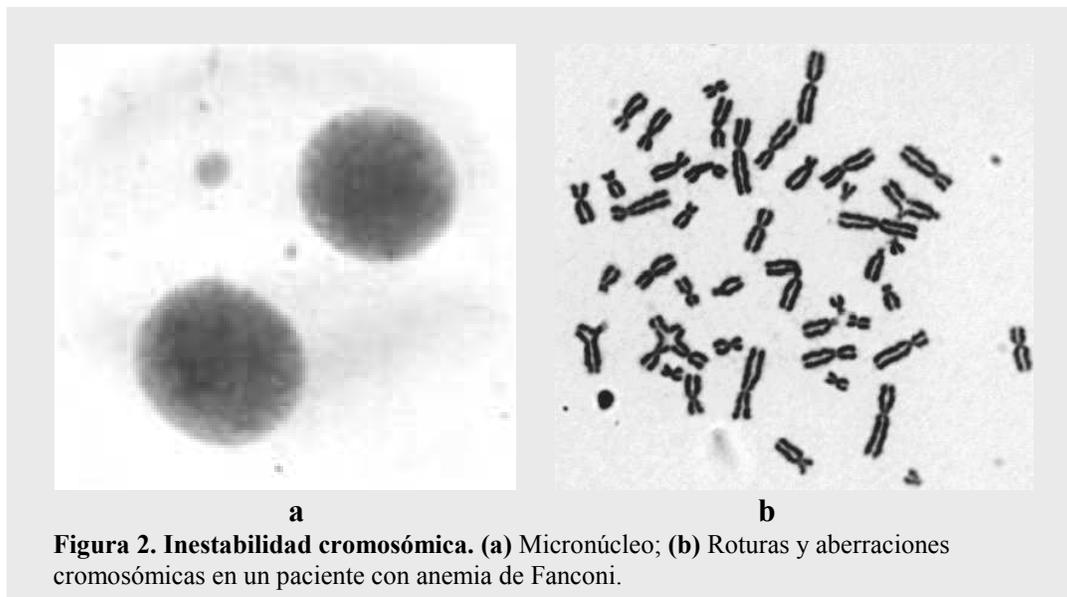
La técnica de Moorhead & cols. para obtener preparados de cromosomas en metafase a partir de muestras de sangre periférica significó un importante avance. El arresto mitótico con colchicina y la posterior hipotonización celular, facilitaron enormemente el análisis microscópico ya que permitían obtener preparados con mayor cantidad de células en metafase y con cromosomas menos superpuestos entre sí. Desde entonces se sucedieron una serie de descubrimientos de patologías humanas con aberraciones cromosómicas en número y en morfología que dejaron en claro la importancia de la citogenética en la clínica médica.



La primera patología citogenética humana en ser descubierta es también la más frecuentemente observada en la población mundial: el síndrome de Down por trisomía 21. Los primeros trabajos que revelaban la presencia de un cromosoma extra en pacientes con síndrome de Down fueron publicados por Jérôme Lejeune y colaboradores en 1959.

Entre 1959 y 1963 se publicaron trabajos relacionados con la presencia de aneuploidías de cromosomas sexuales en los síndromes de Turner y Klinefelter, así como la primera patología definida como un síndrome de aberración estructural: el síndrome de *cri du chat* (“llanto de gato”) por delección parcial del brazo corto de un cromosoma del grupo B (el cromosoma 5), y el descubrimiento del cromosoma *Philadelphia* en pacientes con leucemia mieloide crónica, producto de una translocación recíproca entre un cromosoma 9 y un cromosoma 22.

También en las décadas del '60 y '70 se destacó la utilización de la tecnología citogenética como herramienta de investigación y diagnóstico en toxicología genética. El recuento de roturas cromosómicas y de micronúcleos en individuos expuestos a radiaciones está en relación directa con el daño causado al ADN por la exposición.

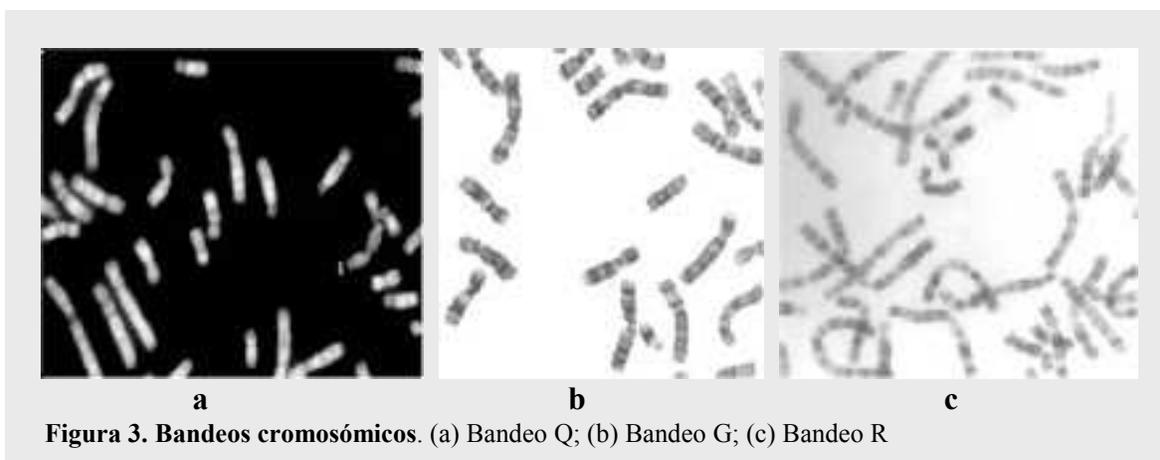


Asimismo, se detectaron diversas patologías genéticas de deficiencia en la reparación del ADN que en general presentan una cantidad inusual de roturas cromosómicas, anomalías estructurales y micronúcleos, como por ejemplo la anemia de Fanconi y la ataxia telangiectasia.

### La era post-bandeo

Hacia fines de los años '60 Torbjörn Caspersson y Lore Zech observaron que los cromosomas teñidos con ciertos colorantes del ADN como la quinacrina presentaban un patrón de bandas específico. Este hallazgo fue equiparado con lo observado algunas décadas antes por Theodosius Dobzhansky en cromosomas politénicos de *Drosophila*: cada par cromosómico humano presentaba un patrón de bandas único y reproducible que podía utilizarse para su identificación y para la detección de anomalías.

A principios de los '70 dos trabajos independientes demostraron que las bandas producidas por la quinacrina podían reproducirse en preparados teñidos con colorantes no fluorescentes como los colorantes del tipo Romanowski: colorantes de Giemsa, de Leishman y de Wright. La técnica utilizada por la Dra Marina Seabright en Inglaterra consistía en colorear los preparados luego de someterlos a una digestión con una enzima proteolítica: la tripsina. Por otro lado, Sumner y Evans, en Edinburgo, obtenían el mismo resultado luego de un pretratamiento de los preparados con una solución salina a 60 °C. En ambos casos se obtenía un patrón de bandas, luego de la tinción con colorante de Giemsa, que era enteramente equivalente al patrón de bandas Q (de quinacrina) obtenido por Caspersson. En este bandeado no fluorescente, las bandas que se teñían de oscuro (**bandas G**) eran las mismas que se observaban brillantes en la tinción con quinacrina, mientras que las bandas claras correspondían a las bandas apagadas u opacas con quinacrina. Este patrón de bandas no fluorescentes se denominó G (de Giemsa).



Durante la misma época, en Francia, Dutrillaux y Lejeune observaban que los cromosomas humanos pretratados con buffer fosfato de Sørensen a pH 6.8 y 60 °C proporcionaba un patrón de bandas inverso al patrón de bandas G de Seabright y de Sumner-Evans. Las bandas G oscuras se coloreaban más pálidas y las bandas G claras (**bandas R**) se observaban con tinción más intensa. Este patrón de bandas se denominó **R** (de reverso). El patrón de bandas R, obtenido por esta técnica, era habitualmente mucho más difuso que el patrón de bandas G obtenido por la técnica de Seabright o por la de Sumner y Evans; sin embargo se estableció en Francia como el paradigma de las técnicas de bandeado cromosómico.

Hacia fines de los años '70 el bandeado R fue perfeccionado aprovechando el hallazgo de que las bandas R replican antes que las bandas G y que las regiones heterocromáticas. El uso de bloqueo de la replicación en fase S y sustitución de la timidina por BUdR (bromodesoxiuridina) permitía colorear en forma diferencial las bandas de relicación temprana proporcionando un patrón de bandeado tipo R. La técnica consistía en incorporar timidina en la cadena de ADN durante las etapas tempranas de la replicación (previas al bloqueo) y BUdR durante las etapas posteriores. De este modo se obtenía un bandeado R con una visualización mucho más aguda de las bandas. Esta técnica se denomina bandeado R de replicación. La coloración final podía ser fluorescente (con Naranja de Acridina) o no fluorescente (con colorantes tipo Romanowski). Durante los años '80 se desarrollaron técnicas para invertir el orden de incorporación de BUdR y timidina obteniéndose bandeos G de replicación.

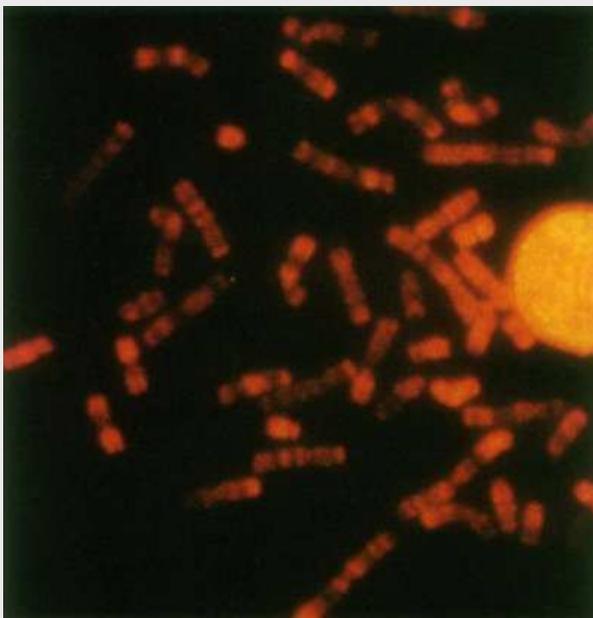


Figura 4. Bandeo R de replicación, coloreado con naranja de acridina.

En el transcurso de la década de 1980, y con el perfeccionamiento de las técnicas de microscopía de fluorescencia, se siguió indagando acerca del efecto de bandeado producido sobre los cromosomas humanos por diversos colorantes que interaccionan directamente con el ADN. Así se llegó a la conclusión de que las bandas R son ricas en pares GC y las bandas G son ricas en AT, y que los colorantes con afinidad por pares GC (como la cromomicina A3) revelan un patrón de bandas R cuando se utilizan para teñir cromosomas fijados en metafase, mientras que los colorantes con afinidad por pares AT (como DAPI y Hoechst 33258) revelan un patrón de bandas Q en iguales circunstancias.

Por otra parte, ya desde los años '70 se desarrollaron técnicas citogenéticas que permitían distinguir selectivamente diversas características estructurales de los cromosomas:

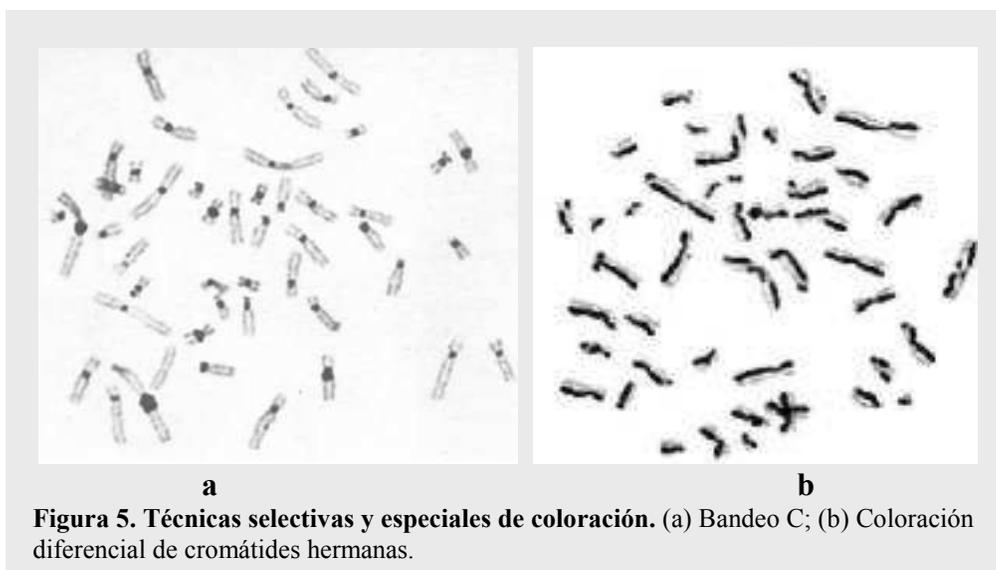
- el bandeado **C** (centromérico), que colorea selectivamente las regiones de heterocromatina constitutiva compuestas de secuencias altamente repetitivas ordenadas en tandem que se localizan en abundancia (pero no exclusivamente) en las regiones proximales (pericentroméricas);
- el bandeado **NOR** (*Nucleolar Organizer Regions*) que consiste en una tinción con nitrato de plata que colorea las regiones organizadoras nucleolares ubicadas normalmente en los tallos de los satélites de cromosomas acrocéntricos;
- la técnica “harlequín” de coloración diferencial de cromátides que permite observar intercambios de cromátides hermanas (**SCE**, *Sister Chromatid Exchange*);
- algunas técnicas como Giemsa 11 o Distamicina/DAPI que permiten observar subconjuntos de regiones heterocromáticas;
- técnicas de “patrones de replicación” basadas en la observación de bandeos de replicación parciales (G y/o R incompletos);
- el bandeado **T** (telomérico), que permite distinguir un subconjunto de bandas R con mayor concentración de pares GC que el resto, y que en su mayoría (pero no exclusivamente) se localizan en las regiones distales (teloméricas).

Toda esta batería de técnicas ayudó a distinguir anomalías cromosómicas imposibles de observar con técnicas de coloración homogénea, como por ejemplo inversiones

paracéntricas y translocaciones entre fragmentos cromosómicos de tamaño similar que no modifican la morfología de los cromosomas participantes.

Entre todas estas técnicas las que permitían diferenciar cada cromosoma en toda su extensión (bandeo Q, bandeo G y bandeo R) revelaron mayor utilidad a la hora de relacionar patologías clínicas con aberraciones cromosómicas; y dado que la microscopía de fluorescencia resultaba un medio más oneroso que la microscopía de campo claro se impusieron las técnicas no fluorescentes, en particular el bandeo G en la mayor parte del mundo y el bandeo R en Francia y países francoparlantes.

En la Conferencia de París, en 1971 quedaron establecidas las reglas de nomenclatura citogenética basadas principalmente en el bandeo G. Estas normas, hoy conocidas como **ISCN** (*International System of Chromosome Nomenclature*) fueron aumentadas y actualizadas sucesivamente en 1975, 1978, 1981, 1985, 1991, 1995, 2005 y 2009.



**Figura 5. Técnicas selectivas y especiales de coloración.** (a) Bando C; (b) Coloración diferencial de cromátides hermanas.

Hacia fines de los años '70 la técnica de bandeo G ya había alcanzado un cierto grado de desarrollo, suficiente como para resultar de suma utilidad en la descripción de anomalías cromosómicas groseras. Se definieron diversos síndromes de deleciones y se destacó la relación patognomónica entre diversas translocaciones recurrentes y neoplasias hematológicas. Se mejoró la técnica citogenética hasta posibilitar la obtención de bandas G en cromosomas en metafase temprana y en profase tardía. Los cromosomas en etapas tempranas de la mitosis presentan una cantidad de bandas que puede llegar a duplicar y hasta a triplicar la cantidad de bandas obtenidas en cromosomas metafásicos. Esta mejora en la resolución del bandeo permitió detectar anomalías cromosómicas pequeñas que no eran observables por las técnicas clásicas, o que lo eran con mucha dificultad.

Las técnicas citogenéticas en la era pre-bandeo sólo permitían detectar anomalías cromosómicas de tamaño considerable, capaces de provocar evidentes distorsiones en la morfología del cromosoma. Las deleciones en pacientes con síndrome de *cri du chat* son de tamaño muy variable, pero frecuentemente abarcan más de la mitad del brazo corto del cromosoma 5, lo cual implica por lo menos unas 8 a 10 Mb. Las técnicas de bandeo G en metafase permiten detectar anomalías mas finas como deleciones de 5 o 6 Mb y las técnicas de alta resolución alcanzan a diferenciar regiones de hasta 3 Mb.

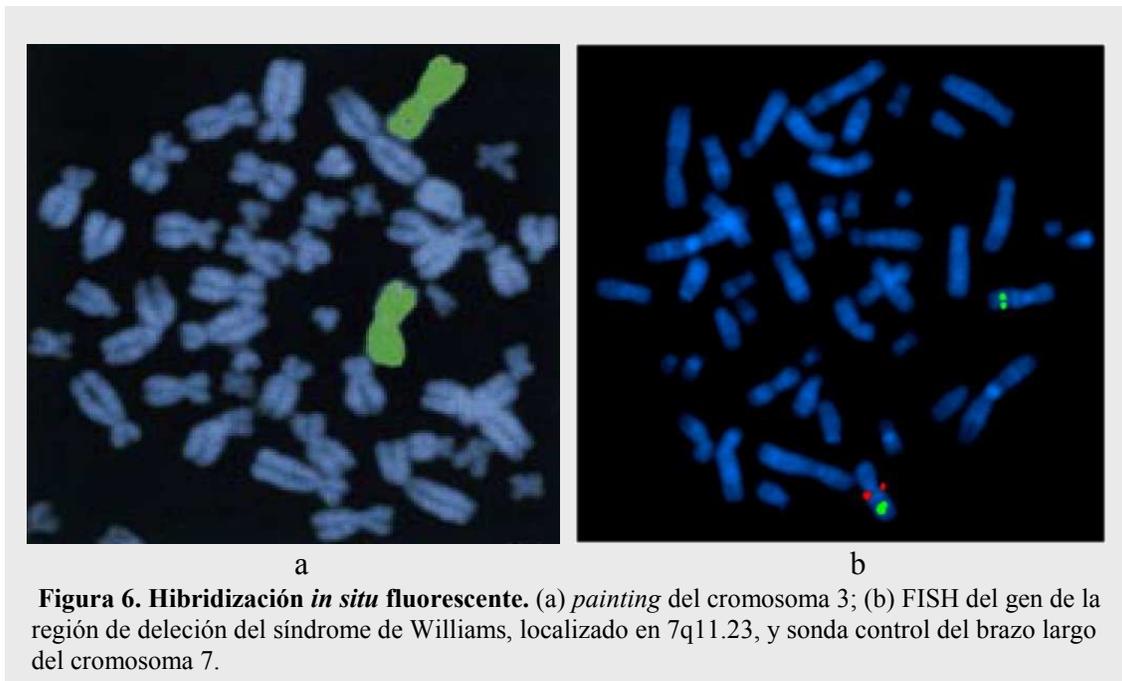
(1Mb=1 megabase=1.000.000 de pares de bases en el ADN)

## La era molecular

Ya hacia fines de los años '60 Gall y Pardue publicaron un trabajo en el cual demostraban la localización espacial del ARN ribosómico marcado radiativamente en ovocitos de *Xenopus*. Este trabajo erigió los cimientos sobre los cuales se desarrolló en años posteriores una diversidad de metodologías basadas en la hibridización de fragmentos de ácidos nucleicos sobre cromosomas en metafase y núcleos en interfase, denominadas técnicas de **hibridización *in situ***.

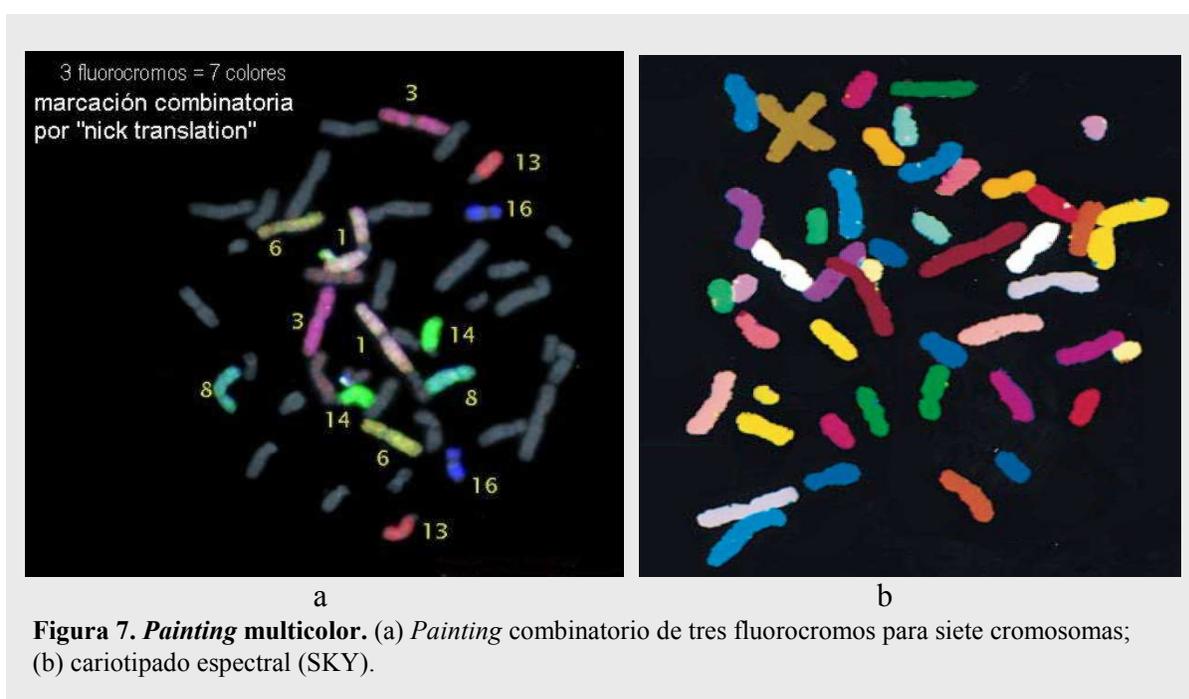
Hacia principios de la década del '80 se desarrollaron metodologías de hibridización *in situ* ADN-ADN con marcación radiactiva. Las primeras técnicas utilizaban como sondas, secuencias altamente repetitivas organizadas en tandem. Diferencias significativas entre secuencias alfoides de las regiones pericentroméricas de diferentes cromosomas, hicieron posible alcanzar una hibridización lo suficientemente selectiva como para posibilitar la identificación cromosómica. Así se desarrollaron sondas centroméricas que hibrizaban sólo

con el cromosoma 18, o sólo con el cromosoma X, por ejemplo. Sin embargo, las secuencias alfoides de algunos cromosomas, como el 13 y el 21, conservan un grado de similitud demasiado alto como para poder ser discriminadas entre sí.



Un avance importante en el desarrollo de las técnicas de hibridación *in situ* fue la detección por métodos no radiactivos, utilizando técnicas de inmunofluorescencia (Van Prooijen-Knegt y cols., 1982). Hacia fines de los años '80 y principios de los '90 se popularizaron los métodos de hibridación *in situ* fluorescentes (*Fluorescent in situ hybridization*, **FISH**) aportando mayor precisión en la detección y un procedimiento menos engorroso. Hacia 1985, Landegent y cols. localizaron un gen por primera vez utilizando técnicas de hibridación *in situ* no radiactiva. Sin embargo, todavía resultaba dificultosa la observación microscópica de sondas de secuencia única demasiado pequeñas para ser observadas con buena resolución y sin ambigüedades.

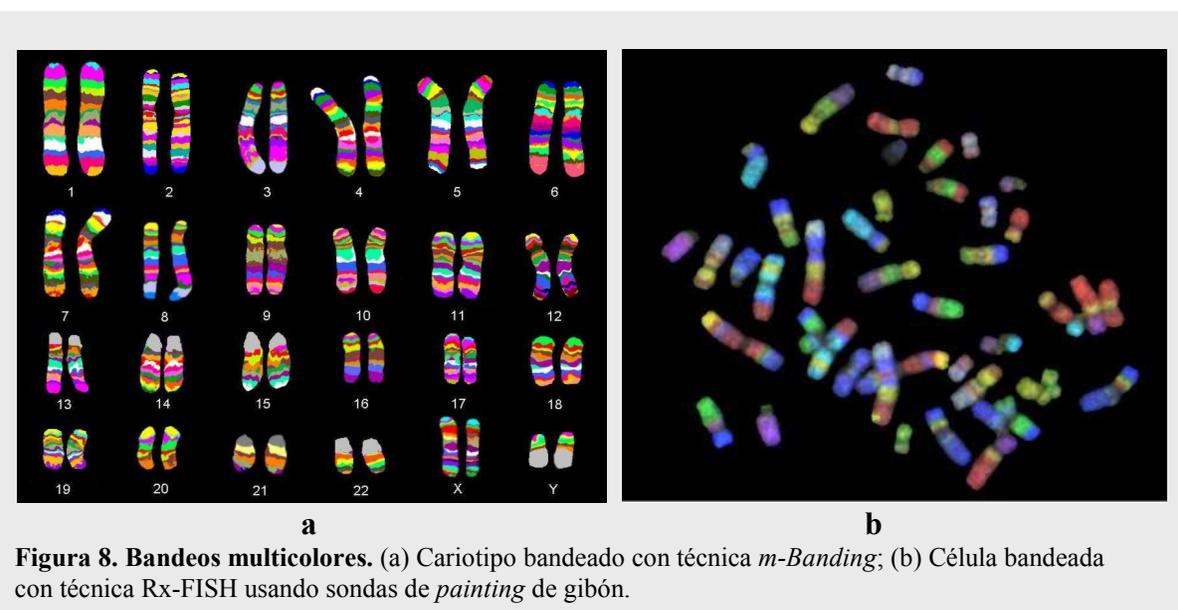
Con el advenimiento de métodos adecuados para la separación de cromosomas, tales como la citometría de flujo y la hibridación de células somáticas, se hizo posible obtener sondas de ADN específicas para un único par cromosómico que colorean un par cromosómico completo (*painting* o pintado cromosómico). Asimismo, hacia fines de los años '80 se desarrollaron técnicas de microdissección que hicieron posible la preparación de sondas específicas de regiones subcromosómicas. Estos eventos aumentaron enormemente la versatilidad de las técnicas de FISH.



Durante los años '90 las mejoras en la preparación de sondas y en la óptica microscópica, la preparación de nuevos fluorocromos y el desarrollo del procesamiento de

imágenes computarizado potenciaron aún más la difusión de las técnicas de FISH. Se desarrolló entonces una nueva batería de técnicas basadas en la combinación de fluorocromos con diferentes colores de emisión. Desde que Nederlof y cols en 1989 difundieron una metodología combinatoria para observar tres colores a partir de dos fluorocromos, esta técnica se fue perfeccionando hasta lograr diferenciar 23 o más colores, es decir, un color para cada par cromosómico. Así, las técnicas de cariotipado espectral (*spectral karyotyping*, **SKY**) y **M-FISH** diferencian cada par cromosómico con un color distintivo utilizando combinación de siete o menos fluorocromos diferentes.

La combinatoria de colores conjuntamente con la posibilidad de separar por microdissección, amplificar, purificar y marcar con fluorocromos segmentos cromosómicos de diversos tamaños, dio lugar a la idea de generar combinaciones de sondas de distintas regiones cromosómicas marcadas con diferentes fluorocromos, originando así bandeos artificiales *ad hoc* y con visualización multicolor (*multicolor banding*, **m-Banding**) útiles en casos muy específicos de difícil resolución.

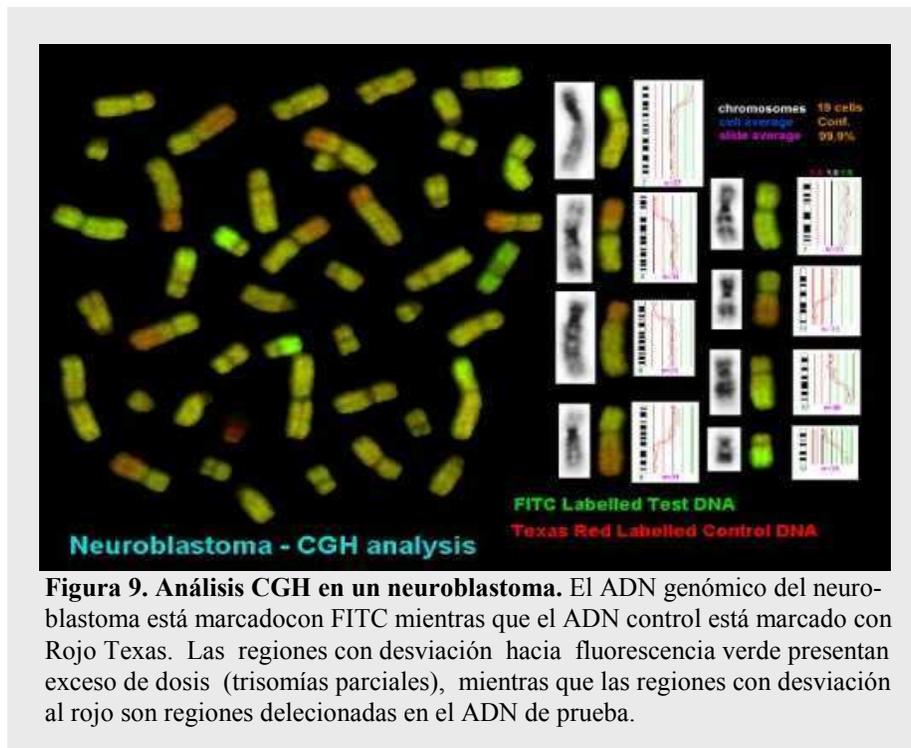


**Figura 8. Bandeos multicolores.** (a) Cariotipo bandeado con técnica *m-Banding*; (b) Célula bandeada con técnica Rx-FISH usando sondas de *painting* de gibón.

Otra técnica de bandeo multicolor, denominada **RxFISH**, se basa en la hibridización de especies cruzadas: se preparan sondas de *painting* multicolor de cromosomas de gibón y se hibridizan sobre metafases de células humanas. El patrón de bandeo obtenido revela las alteraciones cromosómicas ocurridas durante la evolución de ambas especies, pero además resulta de utilidad para la detección de diversas anomalías citogenéticas de difícil resolución por los métodos tradicionales.

La técnica Rx-FISH es en realidad una técnica comparativa entre especies. Pero otra técnica comparativa entre un genoma normal y uno patológico dentro de la misma especie ha resultado de suma importancia en el desarrollo de técnicas basadas en la hibridización *in situ* debido a su potencial para detectar desbalances cromosómicos muy frecuentes en patologías oncológicas y oncohematológicas. Se trata de la hibridización genómica comparativa (*comparative genomic hybridization*, **CGH**). Esta técnica, descrita por Kallioniemi y col en 1992, consiste brevemente en hibridizar metafases normales con una mezcla de ADN genómico marcado con un fluorocromo A (por ejemplo FITC) de un individuo normal y ADN genómico marcado con un fluorocromo B diferente (por ejemplo Rojo Texas) del individuo cuya patología se estudia. Ambos ADNs genómicos deben encontrarse en iguales cantidades, de tal manera que compitan entre sí para hibridizarse con las metafases normales que les sirven de blanco. En aquellas regiones en las que el genoma patológico tenga exceso de dosis (trisomías o polisomías totales o parciales), prevalecerá el color correspondiente al fluorocromo B, mientras que en las regiones delecionadas en el genoma patológico prevalecerá el fluorocromo A. En el resto del cariotipo se observará una coloración resultante de la combinación de ambos fluorocromos.

Generalmente el análisis se realiza a través de un software que presenta en forma gráfica un perfil de desviación de la fluorescencia hacia el verde o hacia el rojo para cada par cromosómico promediado sobre un número determinado de metafases. Esta técnica es de mucha utilidad en la detección de desbalances cromosómicos generados por aberraciones estructurales que muy frecuentemente se observan en preparados oncohematológicos. Sin embargo, el nivel de resolución alcanzado depende del tamaño de las metafases que se utilizan como blanco de hibridización.



**Figura 9. Análisis CGH en un neuroblastoma.** El ADN genómico del neuroblastoma está marcado con FITC mientras que el ADN control está marcado con Rojo Texas. Las regiones con desviación hacia fluorescencia verde presentan exceso de dosis (trisomías parciales), mientras que las regiones con desviación al rojo son regiones delecionadas en el ADN de prueba.

Una ampliación de la técnica de CGH es la técnica de *Array-CGH*. Aquí la hibridización de la mezcla de ADNs normal y patológico no se hace sobre cromosomas metafásicos sino sobre una placa que contiene varios miles de clones BAC específicos de distintas regiones cromosómicas ordenados de tal manera de abarcar todo el genoma o la región particular en estudio. La técnica de array-CGH constituye una versión totalmente molecular de una técnica citogenética-molecular y la principal deficiencia con respecto al resto de las técnicas citogenéticas reside en que la muestra problema pierde la integridad de sus cromosomas.

Tanto en CGH como en array-CGH debe extraerse y fraccionarse el ADN de la muestra para hibridizar sobre un blanco normal (cromosomas o placas de BACs), de manera que ya no resultará posible detectar anomalías balanceadas como translocaciones recíprocas o inversiones. Sin embargo, los niveles de resolución aumentan considerablemente llegando a ser detectables desbalances del orden de las kilobases. Los tamaños de desbalances que pueden ser detectados por array-CGH sólo están limitados por la construcción de los BACs.



## Bibliografia

- Tjio JH, Levan A (1956). The chromosome number of man. *Hereditas* **42**: 1-6. **PDF:** [EEAD](#) **doi:** [10.1111/j.1601-5223.1956.tb03010.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1956.tb03010.x)
- Ford CE, Hamerton JL (1956). The chromosomes of man. *Nature* **178**: 1020-1023. **PMID:** [13378517](#)
- Lejeune J, Gautier M, Turpin MR (1959) Etude des chromosomes somatiques de neuf enfants mongoliens. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **248**, 1721–1722. **PMID:** [13639368](#)
- Ford CE, Jones KW, Polani PE, de Almeida JC, Briggs JH. (1959). A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet* **1**, 711–713. **PMID:** [13642858](#)
- Jacobs PA, Strong JA (1959). A case of human intersexuality having a possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* **183**, 302–303. **PMID:** [13632697](#)
- Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA (1960). Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* **20**: 613-616. **PMID:** [13772379](#)
- Nowell PC, Hungerford DA (1960). A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* **132**, 1497–1501. **PMID:** [17739576](#)
- Lejeune J, Lafourcade J, Berger R, Vialatte J, Boeswillwald M, Seringe P, Turpin R. (1963). Trois cas de deletion partielle du bras court d'un chromosome 5. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **257**, 3098–3102. **PMID:** [14095841](#) **XML:** [Foundation J Lejeune](#)
- Gall JG, Pardue ML (1969). Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. *PNAS (USA)* **63**: 378-383. **PMID:** [4895535](#). **PDF:** [PMC223575](#)
- Caspersson T, Lomakka G, Zech L (1971). The 24 fluorescence patterns of the human metaphase chromosomes—distinguishing characters and variability. *Hereditas* **67**: 89–102. **PMID:** [4142006](#) **PDF:** [doi: 10.1111/j.1601-5223.1971.tb02363.x](https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1971.tb02363.x)
- Sumner AT, Evans HJ, Buckland RA (1971). New technique for distinguishing between human chromosomes. *Nature New Biol* **232**: 31-32. **PMID:** [4105244](#)
- Seabright M. (1971) A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* **2**: 971–972. **PMID:** [4107917](#)
- Dutrillaux B, Lejeune J (1971). Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **272** : 2638-2640. **PMID:** [4104656](#)
- Paris Conference, Supplement (1975): Standardization in human cytogenetics. *Cytogenet Cell Genet* **15**: 201-238. **PMID:** [767059](#)
- Yunis JJ, Sánchez O. (1975) The G-banded prophase chromosomes of man. *Humangenetik* **27**: 167-172. **PMID:** [50274](#)
- van Prooijen-Knegt AC, van Hoek JF, Bauman JG, van Duijn P, Wool IG, van der Ploeg M (1982). *In situ* hybridization of DNA sequences in human metaphase chromosomes visualized by an indirect fluorescent immunocytochemical procedure. *Exp. Cell Res.* **141**: 397–407. **PMID:** [6754395](#)
- Landegent JE, Jansen in de Wal N, van Ommen GJ, Baas JJ, van Duijn P, van der Ploeg M (1985). Chromosomal localization of a unique gene by non-autoradiographic *in situ* hybridization. *Nature* **317**: 175–177. **PMID:** [3839907](#)
- Julien C, Bazin A, Guyot B, Forestier F, Daffos F (1986) Rapid prenatal diagnosis of Down Syndrome with *in situ* hybridization of fluorescent DNA probes. *Lancet* **2**: 863–864. **PMID:** [2876308](#)
- Nederlof PM, Robinson D, Abukensha R, Wiegant J, Hopman AH, Tanke HJ, Raap AK (1989). Three-color fluorescence *in situ* hybridization for the simultaneous detection of multiple nucleic acid sequences. *Cytometry* **10**, 20-27. **PMID:** [2492920](#) **PDF:** [doi: 10.1002/cyto.990100105](https://doi.org/10.1002/cyto.990100105)
- Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D (1992) Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* **258**: 818-821. **PMID:** [1359641](#)
- ISCN (1995): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, *Mitelman F (ed); S. Karger, Basel. ISBN: 978-3-8055-6226-3*
- Solinas-Toldo S, Lampel S, Stilgenbauer S, Nickolenko J, Benner A, Döhner H, Cremer T, Lichter P (1997) Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances. *Genes Chrom. Cancer* **20**: 399–407. **PMID:** [9408757](#)
- Chudoba I, Plesch A, Lörch T, Lemke J, Claussen U, Senger G. (1999). High resolution multicolor-banding: a new technique for refined FISH analysis of human chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* **84**: 156-160. **PMID:** [10393418](#) **PDF:** [ITMHR](#)
- McNeil N, Ried Th (2000). Novel molecular cytogenetic techniques for identifying complex chromosomal rearrangements: technology and applications in molecular medicine. *Exp Rev Mol Med* : September 14th, pp 1-14. **PMID:** [14585138](#) **PDF:** [IGALBAUM](#)
- Trask BJ (2002) Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nature Rev Genet* **3**: 769-778. **PMID:** [12360235](#)
- Mühlmann M (2002). Molecular cytogenetics in metaphase and interphase cells for cancer and genetic research, diagnosis and prognosis. Application in tissue sections and cell suspensions. *Genet Mol Res* **1**: 117-127. **PMID:** [14963837](#) **PDF:** [GMR0013](#)
- Liehr Th, Heller A, Starke H, Rubtsov N, Trifonov V, Mrasek K, Weise A, Kuechler A, Claussen U (2002). Microdissection based high resolution multicolor banding for all 24 human chromosomes. *Int J Mol Med* **9**: 335-339. **PMID:** [11891523](#)
- Levisky JM, Singer RH (2003). Fluorescence *in situ* hybridization: past, present and future. *J Cell Sci* **116**: 2833-2838. **PMID:** [12808017](#) **PDF:** [doi:10.1242/jcs.00633](https://doi.org/10.1242/jcs.00633)
- Shaffer LG, Bejjani BA (2004). A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Hum Reprod Update* **10**: 221-226. **PMID:** [15140869](#) **PDF:** [doi: 10.1093/humupd/dmh022](https://doi.org/10.1093/humupd/dmh022)

- Smeets DF (2004). Historical prospective of human cytogenetics: from microscope to microarray. *Clin Biochem* 37: 439-446. PMID: 15183291 PDF: doi:10.1016/j.clinbiochem.2004.03.006
- Speicher MR, Carter NP (2005). The new cytogenetics: blurring the boundaries with molecular biology. *Nature Rev Genet* 6: 782-792. PMID:16145555 PDF: ITMHRT
- Shen YP, Wu BL (2009). Microarray-based genomic DNA profiling technologies in clinical molecular diagnostics. *Clin Chem* 55: 659-669. PMID: 19233918 PDF: doi: 10.1373/clinchem.2008.11821

## Sitios en internet

- ACC (Asociación de Citogenética Clínica del Reino Unido):  
<http://www.cytogenetics.org.uk/>
- AGT (Asociación de Tecnólogos en Genética de USA):  
<http://www.agt-info.org/>
- ATC (Asociación de Técnicos en Citogenética de Francia):  
<http://www.techniciens-cytogenetique.com/>
- ECA (Asociación Europea de Citogenetistas):  
<http://www.e-c-a.eu/EN/>
- ECARUCA (Registro de Aberraciones Cromosómicas Desbalanceadas de la Asociación Europea de Citogenetistas)  
<http://agserver01.azn.nl:8080/ecaruca/ecaruca.jsp>
- Atlas de Genética y Citogenética en Oncología y Hematología:  
<http://atlasgeneticsoncology.org>
- Foro de Citogenética del Centro Waisman, Universidad de Wisconsin:  
<http://www.slh.wisc.edu/cytogenetics>
- Base de Datos Mitelman de Aberraciones Cromosómicas en Cáncer:  
<http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>
- Fuentes en Citogenética Molecular, Universidad de Bari (Italia):  
<http://www.biologia.uniba.it/rmc/>
- Proyecto HC Forum®:  
<http://www.hcforum.fr>
- Grupo de Citogenética Molecular de Instituto Sanger:  
<http://www.sanger.ac.uk/HGP/Cytogenetics/>
- Recursos para Citogenética Molecular:  
<http://www.biologia.uniba.it/rmc/>
- Fundación Jérôme Lejeune:  
<http://www.fondationlejeune.org/>
- Variación Cromosómica en el Hombre (Base de Datos): Catálogo de Variantes y Anomalías Cromosómicas:  
<http://www.wiley.com/legacy/products/subject/life/borgaonkar/index.html>