

significancia muy alta. Además se debe hacer énfasis en la presencia de malformaciones congénitas que confirman los resultados de la comunicación anterior sobre el perejil⁵.

Si se comparan el número de fetos muertos y el de fetos en vía de reabsorción que resultan al emplear ambos tipos de extracto, se observa que la frecuencia de fetos muertos es mayor con el perejil natural, mientras que la cifra de fetos en reabsorción es superior con el extracto hervido. Por el momento no es fácil explicar esta diferencia. Es probable que la cocción determine en los componentes del extracto algún cambio capaz de matar los fetos en sus primeras etapas de desarrollo y por esto se encuentran cuando se están reabsorbiendo. Con el extracto crudo el proceso tiene un avance de menor rapidez y los fetos se hallan en diversos estados de reabsorción, o inclusive algunos recién muertos. Posiblemente este interrogante se puede absolver durante investigaciones que se adelantan en la actualidad y que serán motivo de comunicaciones futuras.

SUMMARY

Abortions productivity in 330 pregnant white mice females was studied. Animals were divided in two groups each receiving parsley extract, either natural or boiled, for a different number of days through all of the pregnancy period. At the end of gestation time laparotomy was made

to remove fetuses. Among 150 females receiving uncooked parsley extract 54.7% had empty uteri while among 180 animals with boiled parsley only 5.6% had aborted. In both groups congenital abnormalities were seen. Apparently parsley causes abortion by activating myometric contractility.

REFERENCIAS

1. Aragón, J. A. y Mejía, M. P. de: Uso del perejil (*Petroselinum sativum*) como abortivo folclórico. *Acta Med Valle* 5: 16, 1974.
2. Moreno, R. y Schwartzman, B.: 268 plantas medicinales utilizadas para regular la fecundidad en algunos países de Sudamérica. *Reproducción* 2: 163-183, 1975.
3. Farnsworth, N., Bingel, A. S., Cordell, G. A., Crane, F. A. y Fong, H. H. S.: Potential value of plants as sources of new antifertility agents. *J Pharm Sci* 64: 535-598, 1975.
4. Aragón, J. A.: Acción del perejil (*Petroselinum sativum*) sobre la contractilidad del útero. *Acta Med Valle* 7: 41-44, 1976.
5. Aragón, J. A.: Perejil (*Petroselinum sativum*) y malformaciones congénitas. *Acta Med Valle* 7: 88-92, 1976.
6. Richaud, A. y Hazard, R.: Précis de Thérapeutique et de Pharmacologie. 7a. Ed., Masson et Cie. Ed., Paris, pp. 934-935, 1935.
7. The Merck Index of Chemicals and Drugs. 7a. Ed. Stecher, P. G. Ed., Merck & Co., Inc., Rahway USA p. 93, 1960.
8. Tsonev, I. V., Rainová, L. y Penova, M.: Upon the uterine effect of parsley (*Petroselinum sativum*). II Communication (En ruso). *Farmatsiya* 17: 39-45, 1967.
9. Pompa, G.: Medicamentos indígenas Colección extraída de los reinos vegetal, animal y mineral. Índice para sus aplicaciones. Ed. América Panamá: 190-191.

ABORTO ESPONTANEO Y ENVEJECIMIENTO DE LOS OVULOS Y ESPERMATÓZOIDES HUMANOS*

Rodrigo Guerrero V., M. D., Dr. P. H.¹ y Oscar Rojas, M. D.²

EXTRACTO

Para probar la hipótesis de que el envejecimiento de los gametos humanos en el tracto genital aumenta la probabilidad de aborto, después de la inseminación se midieron las probabilidades de aborto para un día determinado del ciclo menstrual, en relación con el día de cambio térmico en la temperatura basal de 965 pacientes. Los casos se obtuvieron de las clínicas de planificación familiar y de esterilidad, donde de rutina, se registran la actividad sexual y las temperaturas basales. La probabilidad de aborto disminuyó significativamente ($p < 0.001$) al aproximarse el día del cambio térmico y luego, 3 días más tarde, aumentó a su punto más alto (24%).

Los experimentos en animales han demostrado que el envejecimiento tanto del espermatozoide como del óvulo, antes de la fertilización, se asocian a mayores probabilidades de aborto. El presente trabajo indica que esto es también cierto en humanos.

INTRODUCCION

Blandau¹ y más recientemente Lanman^{2,3} revisaron los efectos sobre el desarrollo cuando los óvulos y los espermatozoides se envejecen antes de la fertilización. En general puede decirse que en las especies animales estudiadas, el envejecimiento de los espermatozoides en el tracto genital femenino se acompaña de una disminución gradual de su capacidad fertilizante. Excepto en la gallina, esta disminución de la fertilidad no se ha descrito acompañada de un aumento en la frecuencia de anomalías. El envejecimiento de los espermatozoides en el tracto genital masculino, se acompaña típicamente de una fertilidad declinante sin que resulten defectos en la descendencia. Sin embargo, Tesh y Glover⁴ informaron que en el conejo los esperma-

* Este artículo fue publicado originalmente por los mismos autores bajo el título "Spontaneous abortion and aging of human ova and spermatozoa" in *The New England of Medicine* 293: 573-575, 1975.

1. Profesor Asociado, Departamento de Medicina Social, Sección de Biometría, División de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
2. Fundación Hernando Carvajal, Cali, Colombia.

tozoides envejecidos en el epidídimo también conducían a pérdidas pre y post implantación y a algunas malformaciones. La evidencia existente en humanos es escasa e indirecta.

Conviene dividir el envejecimiento del óvulo en 2 categorías: envejecimiento intrafolicular (hipermadurez preovulatoria), cuando el óvulo se retiene en el folículo más allá del tiempo normal, y envejecimiento intratubario (hipermadurez postovulatoria), cuando el óvulo se expulsa a su debido tiempo pero la fertilización ocurre tardíamente. Mikamo⁵ describió bien los efectos teratogénicos de la hipermadurez preovulatoria en *xenopus* criados en el laboratorio. Butcher y Fugo^{6,7} indujeron hipermadurez preovulatoria en ratas y demostraron aumento en la frecuencia de defectos cromosómicos. Típicamente en las especies estudiadas, se ha visto asociación de la hipermadurez postovulatoria con aumento en la proporción de insominaciones estériles, con disminución en el tamaño de la camada, con aumento en la polispermia, en el número de abortos y en las anomalías cromosómicas.

El efecto de ciertas clases de retardos que ocurren alrededor de la época de la fertilización pueden tener una importancia particular en el ser humano porque la actividad coital no se limita a los períodos de celo o de ovulación inducida por el coito, como sucede en muchos animales^{2,8}. El óvulo humano parece estar desprotegido contra fertilizaciones tardías en el ciclo menstrual, y se ha sugerido que las mujeres que usan el "método del ritmo" estarían expuestas a un riesgo mayor⁹⁻¹¹. Hay varios informes que sugieren que la fertilización tardía en el ciclo menstrual puede conducir a abortos^{12,13} y malformaciones¹⁴⁻¹⁶. La similitud de las anomalías y cromosómicas vistas en abortos espontáneos humanos, con las encontradas en animales de laboratorio, condujo a Mikamo¹⁷ a postular la fertilización de un óvulo hipermaduro (probablemente hipermadurez intrafolicular) como causa de aborto. En un estudio previo, sostuvimos la hipótesis, basada en evidencia empírica, de que el envejecimiento de los gametos humanos se asociaba a un alto riesgo de aborto¹⁸. El presente trabajo confirma este hallazgo con datos adicionales.

La temperatura basal del cuerpo es una prueba simple y confiable para determinar la ovulación y su uso es de rutina en las clínicas de esterilidad y en las de planificación familiar donde se usa el método del ritmo. Se ha demostrado que la temperatura basal del cuerpo se relaciona muy bien con la ovulación^{19,20} y aunque se sabe que hay variaciones²¹, se acepta generalmente que la ovulación tiene lugar 1 a 2 días antes de la elevación térmica.

MÉTODOS

Se usaron para el estudio 1980 curvas de temperatura basal en las cuales se produjo la concepción; 1125 venían de clínicas de planificación familiar donde se emplea el método del ritmo y 855 de clínicas de esterilidad. En un trabajo previo²², se describió en detalle la recolección de los casos.

En el presente análisis no se incluyeron los casos de inse-

minación artificial. Cada caso se codificó a ciegas para considerar los siguientes puntos:

Día del cambio térmico. El día del cambio térmico se identificó con el trazo de una línea de izquierda a derecha en la curva de temperatura basal, inmediatamente por encima de las lecturas preovulatorias (excluyendo elevaciones transitorias debidas presumiblemente a enfermedad, y otros factores episódicos). El día anterior al cual la temperatura aumentó por encima de la línea descrita, se llamó día de cambio o día cero (0). Los días precedentes al día 0 o se contaron con signo menos (-) y los días posteriores con signo más (+). No se intentaron relacionar los cambios en las temperaturas basales con las ovulaciones; aunque es difícil de cuantificar, se supone que la ovulación tiene una relación constante con el día del cambio.

Inseminación responsable. Cualquier inseminación, aislada que ocurría durante el período fértil así definido se consideró responsable del embarazo. Si tuvo lugar más de una inseminación durante este período no se pudieron determinar las inseminaciones responsables excepto cuando estaban localizadas en el mismo lado del cambio. En este caso se consideró responsable la más cercana al día del cambio. Si no hubo inseminaciones en este período, los límites del período fértil se extendieron a los días -10 y +3 y se seguían las mismas reglas. Si no hubo inseminaciones en esos días el caso se descartaba. Solamente 3 casos cayeron en esta última categoría.

Después de descartar los casos donde no se pudo determinar la inseminación responsable quedaron 965 de los cuales 890 correspondían a partos a término y 75 a abortos espontáneos. Se determinó la probabilidad de aborto para cada día en relación con el cambio de temperatura, dividiendo el número de abortos de ese día por el número de abortos más los nacidos a término en el mismo día. Las concepciones que ocurrieron a la derecha del cambio térmico, (días +1, +2, +3) muy probablemente fueron resultado de la fecundación de un óvulo hipermaduro. Las resultantes de inseminaciones a la izquierda del cambio (días -3, -4, -5, etc) probablemente se originaron en espermatozoides envejecidos, mientras que las de los días -2, -1 y 0 se esperaba que vinieran de espermatozoides frescos.

RESULTADOS

El Cuadro 1 resume los resultados. La probabilidad total de aborto fue 7.8%. El día -2 tuvo la probabilidad más baja (3.2%) y el día +3 la más alta (24%). Se encontró una tendencia declinante en la probabilidad de aborto desde el día -9 al día 0 y desde este día en adelante un marcado aumento hasta el día +3 (Figura 1).

La significancia estadística se midió usando el X^2 para tendencia lineal, descrito por Armitage²³. Con base en las hipótesis biológicas planteadas previamente, se calcularon 2 tendencias separadas: desde el día -9 y al día 0 y desde el día +1 al día +3. Ambos análisis mostraron resultados altamente significantes: 13.4 (1 g de 1) $p < 0.001$ para el primer grupo y 10.1 (1 g de 1) $p < 0.01$ para el segundo.

Cuadro 1. Probabilidad de Aborto para Días de Inseminación con Respecto al Cambio de la Temperatura

Día de inseminación	Abortos	Nacimientos a término	Abortos + partos	Probabilidad de aborto (%)
-9	1	8	9	11.1*
-8	1	13	14	7.1
-7	6	25	31	19.3
-6	3	38	41	7.3
-5	5	42	47	10.6
-4	9	67	76	11.8
-3	6	102	108	5.5
-2	4	122	126	3.2
-1	14	186	200	7.0
0	10	124	134	7.5
+1	6	104	110	5.5'
+2	4	40	44	9.1
+3	6	19	25	24.0
Totales	75	890	965	7.8

* χ^2 linear (días -9 a 0) = 13.41 g l $p < 0.001$
 χ^2 linear (días +9 a +3) = 10.11 g l $p < 0.01$

Estos resultados indican que la probabilidad de que los hallazgos sean debidos al azar es remota. Los resultados no se afectaron al excluir del análisis los casos provenientes de clínicas de esterilidad pues las probabilidades de aborto permanecieron muy similares. Se intentó analizar los datos según los países de origen: En Francia, Mauricio y Canadá, a pesar del número reducido de datos en algunos estudios la probabilidad de aborto fue superior a 25% para el día +3. En los casos de Colombia, en ese día hubo sólo un embarazo que terminó en parto normal.

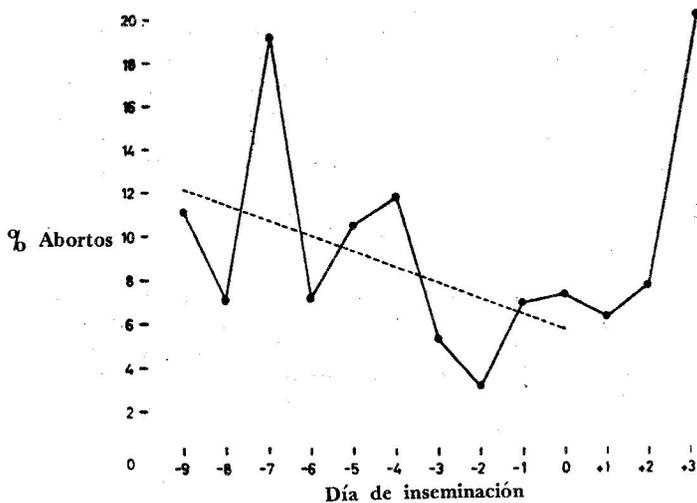


Figura 1. Probabilidad de aborto según el día de inseminación con respecto al día del cambio en la temperatura basal del cuerpo. La línea punteada representa una línea de regresión conseguida con los datos de los días -9 a 0. Observar la alta probabilidad del día +3.

La Figura 2 presenta la distribución porcentual de nacidos a término y abortos en relación con el día del cambio térmico. Como se esperaba hay un exceso de abortos entre los días -3 a -9 y +2 y +3.

El día del ciclo menstrual en el cual ocurrió el cambio térmico no mostró diferencias significantes (\bar{x} para abortos = 17,465 vs. \bar{x} para nacimientos a término = 16,672), aunque la varianza de la distribución de los abortos fue significativamente mayor que la de los nacidos a término.

DISCUSION

Siempre se debe tener en cuenta la posibilidad de equivocación en las anotaciones de la temperatura basal. En nuestro estudio no creemos que sea una fuente significativa de error o sesgo, pues en ambos casos, clínicas de planificación familiar y clínicas de infertilidad, las lecturas de la temperatura basal y la actividad sexual se anotan rutinariamente. Así se disminuye el efecto de las fallas en la memoria. Los registros defectuosos (por ejemplo, no anotar la actividad sexual durante el período fértil, en un intento de atribuir la falla al método), deberían distribuirse por igual entre nacidos a término y abortos y además es difícil ver cómo estas fallas pueden explicar nuestros hallazgos.

Estos resultados sugieren fuertemente que el envejecimiento del espermatozoide humano en el tracto genital femenino se asocia con aumento en la frecuencia de abortos espontáneos. Se podría objetar que un embarazo producido por una inseminación el día -6, no significa necesariamente que los espermatozoides fueran ya viejos desde 6 días antes de la

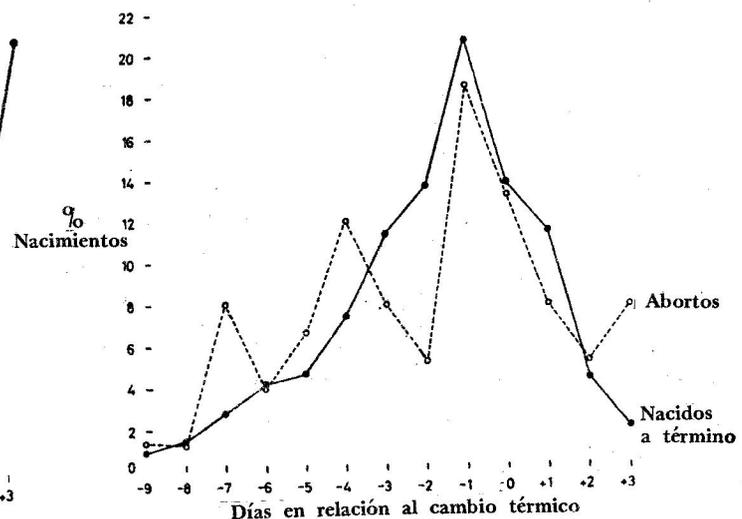


Figura 2. Distribución porcentual de nacidos a término y abortos según el día de inseminación con respecto al cambio térmico en la temperatura basal. Observar el exceso de abortos para los días a la izquierda del día -4 y a la derecha del día +2. Estos embarazos corresponden respectivamente a espermatozoides y óvulos envejecidos.

fertilización, pues la ovulación puede haberse efectuado antes del cambio térmico. Pero si presumimos que por término medio, la ovulación tiende a ocurrir alrededor del cambio, entonces estos espermatozoides serían viejos. El hallazgo más llamativo es la alta probabilidad de aborto para el día +3. Es muy poco probable que la concepción ocurra este día, según amplias evidencias^{24,25}. Sin embargo, se debe recordar el método para coleccionar los casos en el presente estudio aseguraba por sí mismo su inclusión, aunque fuesen de rara ocurrencia.

Marshall²⁶, en 81 embarazos, con metodología similar a la de este trabajo, no pudo encontrar asociación entre envejecimiento del espermatozoide y abortos o malformaciones congénitas. Su casuística era muy pequeña para descubrir la tendencia que hemos encontrado.

Puede ser más probable que las fallas del método del ritmo terminen en aborto espontáneo. Esto puede ser particularmente cierto en las usuarias del método del ritmo calendario, el cual suministra de manera muy aproximada el conocimiento del momento de la ovulación. El método del ritmo en su variedad sintotérmica, especialmente si la actividad sexual se limita a la fase postovulatoria, tiene una cantidad mínima de problemas pues la actividad sexual se inicia cuando la probabilidad de concepción es extremadamente baja.

La aneuploidia es una anomalía cromosómica descrita frecuentemente en asociación con hipermadurez postovulatoria en animales^{27,28}. Mikamo¹⁷ ha demostrado que los abortos humanos tienen un número significativo de aneuploidias. En cambio, las anomalías del tipo de no-disyunción, se han descrito en hipermadurez intrafolicular⁵⁻⁷. La asociación de trisomías con hipermadurez postovulatoria no es clara a partir de experiencias en animales. Es probable que el envejecimiento postovulatorio del óvulo humano lleve más a aneuploidias que a anomalías de no disyunción. Los datos de nuestro estudio sugieren que el envejecimiento postovulatorio del óvulo humano también conduce a pérdidas de implantación.

Las concepciones que ocurren en los términos extremos del cambio térmico es más probable que terminen en abortos, como se pudo demostrar en este estudio. La preponderancia de hombres para estos casos²², explicaría la alta proporción de este sexo, en abortos humanos que con tanta frecuencia se ha encontrado en distintos estudios^{29,30}.

SUMMARY

To test the hypothesis that aging of human gametes within the genital tract increases the chance of abortion, we measured the probabilities of abortion after insemination on a given day of the menstrual cycle in relation to day of the shift in the basal body temperature in 965 patients. Cases came from family planning and sterility clinics where basal body temperature and coital records are kept routinely. The probability of abortion diminished significantly ($p < 0.001$) as the shift in temperature was approached and then increased to its highest point (24 per cent) three days later.

Animal experiments have shown that aging of both spermatozoa and ova before fertilization is accompanied by higher probabilities of abortion. Present evidence indicates that this higher prevalence is also true for human beings.

REFERENCIAS:

1. Blandau, R. J.: The effects on development when eggs and sperm are aged before fertilization. *Ann NY Acad Sci* 57: 526-530, 1954.
2. Lanman, J. T.: Delays during reproduction and their effects on the embryo and fetus. I. Aging of sperm. *N Engl J Med* 278: 993-999, 1968.
3. _____: Delays during reproduction and their effects on the embryo and fetus. II. Aging of eggs. *Ibid* 278: 1047-1054, 1968.
4. Tesh, J. M. y Glover, T. D.: Influence of aging of rabbit spermatozoa on fertilization and prenatal development. *J Reprod Fertil* 12: 414-415, 1966.
5. Mikamo, D.: Intrafollicular overripeness and teratologic development. *Cytogenetics* 7: 212-233, 1968.
6. Fugo, N. W. y Butcher, R. L.: Overripeness and the mammalian ova. I. Overripeness and early embryonic development. *Fertil Steril* 17: 804-814, 1966.
7. Butcher, R. L. y Fugo, N. W.: Overripeness and the mammalian ova. II. Delayed ovulation and chromosome anomalies. *Ibid* 18: 297-302, 1967.
8. _____: Critical viability of human sperms and oocytes. *N Engl J Med* 278: 1121-1122, 1968.
9. Welch, J. P.: Down's syndrome and human behaviour. *Nature* 219: 506, 1968.
10. Jongbloet, P. H.: *Mental and Physical Handicaps in Connection with Overripeness Ovopathy*. Leiden, H. E. Stenfert Kroese, pp. 22-46, 1971.
11. Witschi, E.: Natural control of fertility. *Fertil Steril* 19: 1-14, 1968.
12. Hertig, A. T.: Morphologic criteria of the time of ovulation in the human being in *Human Ovulation*. Ed. C. S. Keefer, Boston, Little, Brown & Co. pp. 75-83, 1965.
13. Boue, J. G., Cohen, J. y Henry-Suchet, J.: Etude clinique et biologique de 16 cas d'avortements spontanés par aberration chromosomique. *Presse Med* 76: 1717-1720, 1968.
14. Jongbloet, P. H.: *Mental and Physical Handicaps in Connection with Overripeness Ovopathy*. Leiden, H. E. Stenfert Droese, pp. 6-21, 1971.
15. Ingalls, T. H. y Bazemore, M. K.: Prenatal events antedating the birth of thoracopagus twins. *Arch Environ Health* 19: 358-364, 1964.
16. Ingalls, T. H.: Maternal health and mongolism. *Lancet* 2: 213-215, 1972.
17. Mikamo, J.: Anatomic and chromosomal anomalies in spontaneous abortion. *Am J Obstet Gynecol* 106: 243-254, 1970.
18. Guerrero, R. y Lancot, C. A.: Aging of fertilizing gametes and spontaneous abortion: effect of the day of ovulation and the time of insemination. *Ibid* 107: 263-367, 1970.
19. Buxton, C. L. y Engle, E. T.: Time of ovulation: a correlation between the basal temperature, the appearance of the endometrium, and the appearance of the ovary. *Ibid* 60: 539-551, 1959.
20. Siegler, S. L. y Siegler, A. M.: Evaluation of basal body temperature. *Fertil Steril* 2: 287-301, 1951.
21. Abarbanel, A. R.: Transvaginal pelviscopy: further studies in infertility. *Proceedings of the Second World Congress on Fertility and Sterilit*. Vol. 1. Ed. G. Tesaro, Nápoles, Institute of Clinical Obstetrics and Gynecology, University of Naples, pp. 1140-1159, 1956.
22. Guerrero, R.: Association of the type and time of insemination within the menstrual cycle with the human sex ratio at birth. *N Engl J Med* 291: 1056-1059, 1974.
23. Armitage, P.: *Statistical Methods in Medical Research*. New York, John Wiley and Sons, p. 271, 1971.
24. Doring, G. K.: Über die Zuverlässigkeit der Temperaturmethode zur Empfängnisverhütung. *Dtsch Med Wochenschr* 92: 1055-1061, 1967.

25. Marshall, J.: A field trial of the basal body-temperature method of regulating births. *Lancet* 2: 8-10, 1968.
26. _____: Congenital defects and the age of spermatozoa. *Int J Fertil* 13: 110-120, 1968.
27. Vickers, A. D.: Delayed fertilization and chromosomal anomalies women resident in Belfast, III. Sex ratio with particular reference to nuclear sexing of chorionic villi of abortions. *Ann Hum Genet* 23: 415-420, 1959.
28. Yamamoto, M. e Ingalls, T. H.: Delayed fertilization and chromosome anomalies in the hamster embryo. *Science* 176: 518-521, 1972.
29. Strandkov, H. H. y Bisaccia, H.: The sex ratio of human stillbirths at each month of uterogestation and at conception. *Am J Phys Anthropol* 7: 131-143, 1949.
30. Stevenson, A. C.: Observation on the results of pregnancies in women resident in Belfast, III, Sex ratio with particular reference to nuclear sexing of chorionic villi of abortions. *Ann Hum Genet* 23: 415-420, 1959.

LA CITOGENETICA EN LA PRACTICA MEDICA

Jairo A. Delacruz S., M. S.*

EXTRACTO

Las evaluaciones cromosómicas se constituyen cada vez más como un medio de ayuda en el manejo de alteraciones mentales y orgánicas originadas por daños cromosómicos. En el presente artículo se describe el cariotipo normal y algunos de los trastornos cromosómicos más frecuentes tales como mongolismo en sus dos formas, síndrome de Klinefelter y Turner, etc. Se resumen las indicaciones más frecuentes y útiles de la evaluación cromosómica. Los resultados descritos se basan en la experiencia obtenida en el Hospital Universitario del Valle (HUV).

adelantado mucho en el estudio de los cromosomas y son muchas las alteraciones numéricas y estructurales que se han informado advirtiéndose que el defecto que producen en un individuo depende de la calidad del cromosoma comprometido y de la intensidad del daño. En la década 1960-1970 más de 25 desórdenes han sido catalogados como de etiología debida a anomalía cromosómica demostrable⁶.

EL CARIOTIPO

La evaluación cromosómica en humanos se hace por medio del cariotipo o la presentación ordenada de los cromosomas atendiendo a su tamaño y posición del centrómero (constricción)⁷.

INTRODUCCION

Se ha informado que 1 de cada 3 recién nacidos presenta alteraciones cromosómicas menores (rupturas, translocaciones) y 1 de cada 200 defectos mayores^{1,2} (trisomías, monosomía) hecho que nos indica que estos problemas son frecuentes. Concretamente, en el campo de la herencia, la citogenética humana a través de la evaluación cromosómica, está encontrando explicación a una serie de hechos que hasta hace poco eran difíciles de manejar como por ejemplo, el mongolismo. Es así como dentro de las alteraciones cromosómicas el consejo que se imparte se da sobre bases más firmes y no sobre simples especulaciones^{3,4}.

Los laboratorios de citogenética humana (que hacen evaluaciones cromosómicas) rápidamente se han vuelto parte esencial en la práctica médica y en la investigación.

Hasta 1956 se creyó que en humanos el número de cromosomas por célula era de 48 pero Tjio y Levan⁵ en ese año demostraron que eran 46, como se sabe actualmente. Desde la demostración en 1959 del número de cromosomas (47) en el síndrome de Down se ha

El procedimiento utilizado para el análisis es el siguiente:

1. **Muestra de tejido.** Usualmente se utiliza sangre periférica (linfocitos)⁸, fibroblastos⁹ y recientemente amnioblastos¹⁰. Se han hecho buenos montajes cromosómicos a partir de biopsia de túbulos seminíferos¹¹

Rutinariamente se utilizan linfocitos tomados por micropunción y desarrollados por técnica de micro-método¹² que reemplaza el método incómodo de la muestra tomada con jeringa.

2. Las células son colocadas en un medio de cultivo especial, TC 199, e incubadas a 37°C durante 72 horas, al término de las cuales se depositan sobre un portaobjetos.

3. **Coloración.** Rutinariamente se usa colorante de Giemsa con el cual se obtiene un buen grado de definición de la forma y tamaño de los cromosomas en metafase.

Con algunas técnicas diferentes, a base de fluorescencia y colorante de Giemsa, se han descrito bandas claras y oscuras de diferentes tamaño a lo largo de los cromosomas que permiten establecer marcadas diferencias entre ellos. Aunque las bases bioquímicas de estas reacciones de coloración son oscuras la mayoría de ellas dan resultados citológicos similares.¹³

Otro método utilizado es la marca con isótopos para de-

1. Profesor Auxiliar, Departamento de Morfología, División de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.