

UN METODO SIMPLIFICADO PARA AISLAR LEUCOCITOS  
DE LA SANGRE PARA SU ESTUDIO EN EL MICROSCOPIO  
ELECTRONICO

— **Lab. Clín. Gabriel Sulbarón 5.**

Instituto de Investigación Clínica.  
Facultad de Medicina.  
Universidad del Zulia.  
Maracaibo.

Para el estudio de los leucocitos de la sangre en el microscopio electrónico, se han descrito varios procedimientos con el objeto de separarlos y concentrarlos en capas más o menos puras<sup>1, 2, 3, 4</sup>. Algunos, nos parece, no satisfacen a cabalidad los fines para los cuales fueron desarrollados; y otros, aunque al final aportan una capa de células bastante pura y concentrada, exigen técnicas un tanto complicadas y equipos a veces no muy accesibles.

En la presente comunicación proponemos un método sencillo, rápido, de bajo costo, con materiales de uso rutinario en cualquier laboratorio y de utilidad tanto en trabajo con volúmenes regulares de sangre, como en aquéllos en que sólo pueden obtenerse cantidades muy pequeñas, como por ejemplo, en niños y en la experimentación en ratones.

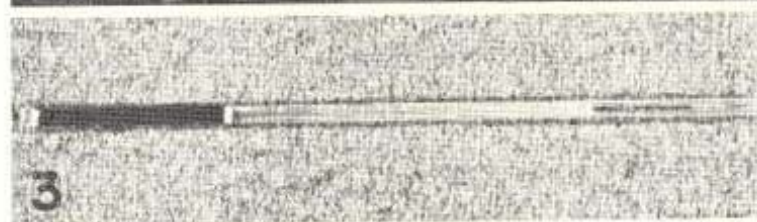
## MATERIALES

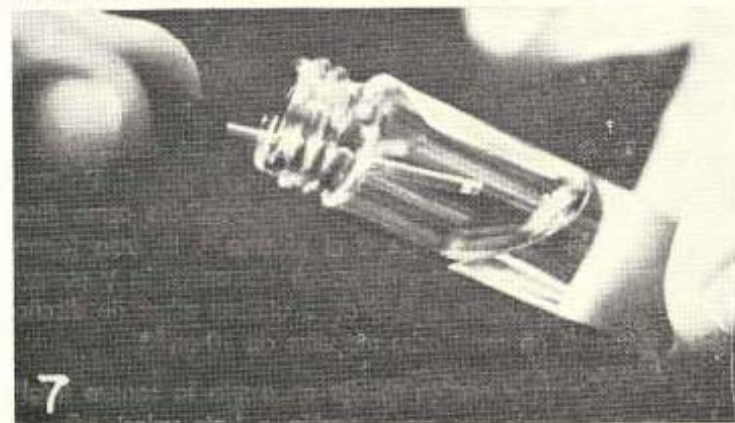
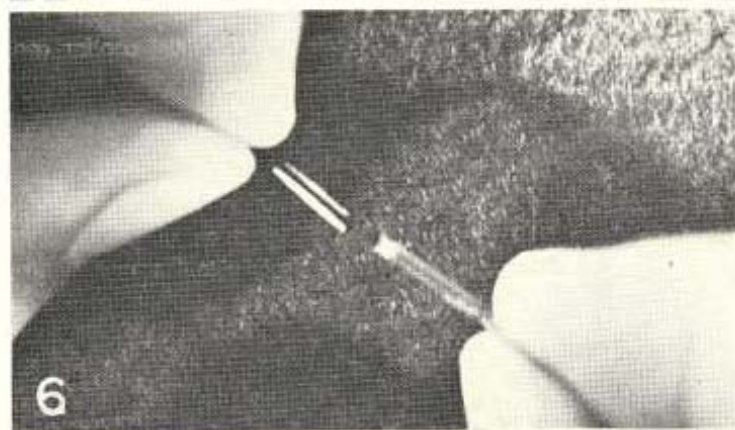
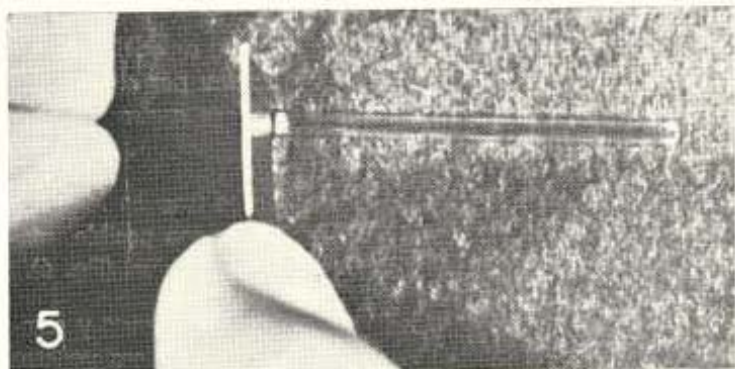
1. Tubos capilares heparinizados de 75 mm. de largo por 1.1 - 1.2 mm. de diámetro interno, de los usados para microhematócrito. 2. Plastilina. 3. Centrifuga para microhematócrito, International Modelo M. B. 4. Jeringa con aguja N° 23 larga (4 cms.). 5. Lápiz de diamante o sierra fina.

## PROCEDIMIENTO

Se toma sangre en el tubo capilar heparinado, donde entra por capilaridad, hasta un 80 - 90% de su capacidad (Fig. 1).

Con el dedo índice se tapa uno de sus extremos, en la posición de pipeteo, y el otro se introduce aproximadamente medio centímetro en el bloque de plastilina para obturarlo (Fig 2).







Inmediatamente se procesa en la centrifuga para microhematócrito durante 4 minutos. El plasma, los glóbulos blancos y los rojos, se separan en capas bien definidas (Fig. 3). La de los leucocitos es extraída en la forma siguiente: la aguja N° 23 conectada a la jeringa es introducida en el capilar por el lado del plasma, el cual es extraído completamente por aspiración suave y cuidadosa (Fig. 4).

Con el lápiz de diamante o sierra fina se lima en la unión de las capas roja y blanca (Fig. 5) hasta que sea posible, mediante una suave tracción, partir el capilar a ese nivel (Fig. 6).

Nos queda así la capa de blancos pura o casi pura y compactada, aislada dentro del tubo, la cual puede ahora verterse fácilmente dentro del medio fijador, bien soplando con una pequeña pera de goma o simplemente por contacto del capilar con el liquido (Fig. 7).

La capa de blancos se fijó según el método de doble fijación glutaraldehido-osmio usado en nuestro laboratorio<sup>2</sup>. Se deshidrató en soluciones crecientes de etanol y óxido de propileno y se incluyó en Epón 812. Los cortes se hicieron en ultramicrotomo LKB y se observaron en microscopio electrónico Siemens Elmiskop I.

## COMENTARIOS

Las principales ventajas del método aquí propuesto, además de su bajo costo y rapidez, parecen ser la poca cantidad de sangre que se utiliza y su sencillez, en cuanto a procedimiento y materiales se refiere.

Algunos autores extraen relativamente gran cantidad de sangre (10-30 cc) sobre citrato de sodio o solución A. C. D.; centrifugan y extraen los glóbulos blancos extendidos como fina película entre la capa de rojos y el plasma<sup>1-4</sup>. En esta forma no siempre es fácil obtener una buena concentración y pureza de leucocitos, para lograr lo cual otros utilizan tubos de diseño especial y sangre en cantidades mayores de 10 cc.<sup>5-7</sup>

En ciertos procedimientos se fija en osmio la sangre total<sup>8</sup> o el plasma obtenido por centrifugación a baja velocidad<sup>3</sup>, sin separación previa de los glóbulos blancos, lo que, sin duda al-



Fig. 8.

guna, debe multiplicar grandemente el número de cortes en el ultramicrotomo para obtener material estudiable.

Se ha utilizado también un método donde todo el material es siliconado y mantenido a bajas temperaturas y la sangre procesada en costosas centrifugas refrigeradas.

En la Fig. 8 podemos ver los resultados obtenidos con nuestra técnica: buena concentración de células sin menoscabo de la preservación de las estructuras de los diferentes organelos.

#### RESUMEN

Se propone un nuevo método sencillo, rápido y de bajo costo, para aislar leucocitos de la sangre para su estudio en el microscopio electrónico.

Se utilizan tubos capilares heparinizados y una centrifuga para microhematócrito.

Se observa buena concentración de células y estructuras bien preservadas.

Se hacen comentarios sobre las ventajas del método propuesto.

#### SUMMARY

A simple quick and nonexpensive method is proposed to isolate the blood leukocytes for study with the electron microscope. Heparinized capillary tubes and a microcapillary centrifuge were used. A good concentration and preservation of the leukocyte layer was obtained.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — BESSIS, M.; THIERY, J. P. "Etudes au microscope électronique sur les leucémies humaines". *N. F. R. Hémat.* 2 (3): 387-414. 1962.
- 2 — CASTEJON, O. "Fijación química de tejidos para microscopia electrónica". *Invest. Clín.* N° 22: 11-44. 1967.
- 3 — GOODMAN, J. R.; REILLY, E. B.; MOORE, R. E. "Electron microscopy of formed elements of normal blood". *Blood.* 12: 428. 1957.
- 4 — JORDAN, S. W.; LARSEN, W. E. "Ultrastructural studies of the May-Hegglin anomaly". *Blood.* 25 (6): 921-932. 1965.
- 5 — KAUTZ, J.; DE MARSH, Q. B. "An electron microscopy study of sectioned cells of peripheral blood and bone marrow". *Blood.* 9 (1): 24-23. 1954.
- 6 — KAUTZ, J.; DE MARSH, Q. B. "Electron microscopy of sectioned blood and bone marrow elements". *Rev. Hemat.* 10 (2): 314-323. 1955.
- 7 — LOW, F. N.; FREEMAN, J. A. "Electron microscopic atlas of normal and leukemic human blood". *Mc. Graw-Hill.* New York. 1958.
- 8 — PEAGLE, R. D. "Electron microscopic study of leukocytes in infectious mononucleosis". *Blood.* 17: 687-700. 1961.
- 9 — RINEHART, J. "Electron microscopic studies of sectioned white blood cells and platelets: with observations on the derivation of specific granules from mitochondria". *Am. J. Clin. Path.* 25 (6): 605-619. 1955.