

Error por Dilución Sanguínea en el recuento  
de Células Nucleadas en Médula Osea

T E S I S  
QUE PARA OBTENER  
EL TITULO DE;  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A  
NORMA HORTENSIA BAZAN ALARCON

1972



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA**

Presidente	Prof.:	Fernando Vélez Orozco.
Vocal	"	Dea Coronado Perdomo.
Secretario	"	Paulina J. Castro Ardon.
1er. Suplente	"	Isabel Resano González.
2do. Suplente	"	Socorro Cao Romero Martínez.

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio de Tumores.  
Hospital Infantil de México.

Sustentante: Norma Hortensia Bazán Alarcón.

Asesor del Tema: Q.F.B. Fernando Vélez Orozco.

Supervisor Técnico: Dr. Alejandro Aguirre Torres.

Con gratitud y respeto:

Al Dr. Alejandro Aguirre Torres por su inestimable contribución, orientación e interés, que hicieron posible la realización de este trabajo.

A la Srta. Q.F.B. Raquel López Lira por sus valiosísimas aportaciones y observaciones.

A la Srta. Q.B.P. Guillermina Berumen Martínez por su apoyo y cooperación.

---

Al Sr. Q.F.B. Fernando Vélez Orozco por la orientación y ayuda prestadas.

A mis padres con inmensa cariño y gratitud.

A mis familiares con todo cariño.

A mis maestros con agradecimiento por todo lo que me han entregado.

A todos mis compañeros y amigos por los ideales que compartimos.

A todo aquel a quien pudiera serle útil este trabajo para ayudar a aliviar el dolor humano.

---

## INDICE

	Págs.
I    PREAMBULO	1
a).- INTRODUCCION	
b).- ANTECEDENTES	
II    METODOS	13
III   MATERIAL	27
IV    RESULTADOS	30
APENDICE I	54
APENDICE II	61
V     DISCUSION DE RESULTADOS	69
VI    CONCLUSIONES	79
VII   REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	81

## I.- PREAMBULO

### a).- INTRODUCCION

En la mayoría de las instituciones hospitalarias ha caído en desuso el efectuar cuentas totales de elementos nucleados en las muestras de médula ósea obtenidas por aspiración en pacientes afectados de leucemia y sometidos a estudios, ya sea de detección o tratamiento con determinado tipo de fármacos, ésto debido a que existe un error en dichas cuentas porque al ser obtenida por aspiración la muestra de material medular, sufre una dilución con sangre periférica. Por este motivo, la cuenta nucleada total ha sido substituída por una apreciación más o menos subjetiva de la "celularidad" observada en el frotis y solamente se realiza la cuenta diferencial.

Como consideramos que el dato de la cuenta total de elementos nucleados en el material medular es sumamente valioso en el tratamiento de estos pacientes se ha realizado el presente trabajo con el fin de hacer un estudio sobre la magnitud del error por dilución cuando se extraen determinados volúmenes de médula ósea para de esta manera llegar a proponer la cantidad más adecuada que debe ser extraída para su estudio completo, ésto es, cualitativo y cuantitativo, en que el error de dilución sea constante y al mismo tiempo, mínimo, y éste es el objetivo de este trabajo.

b).- ANTECEDENTES

El estudio de la médula ósea constituye un medio auxiliar en el diagnóstico de una variedad de padecimientos hematológicos, y es de especial importancia en anemia perniciosa, agranulocitosis, histiocitosis y leucemias, padecimientos donde llega a proporcionar los datos más valiosos y frecuentemente diagnósticos definitivos.

Con los progresos del uso de agentes médulosupresores en la quimioterapia múltiple y a dosis masivas, en tumores sólidos malignos, y leucemias y linfomas más frecuentemente, se presenta el dilema de continuar el ensayo terapéutico de un protocolo, elaborado para ser curativo y llegar a producir una aplasia medular quizás "irreversible" o fatal, o bien, hacer un tratamiento insuficiente desechando el protocolo de una droga en realidad útil, al guiarse exclusivamente por la biometría hemática y por la estimación muy rudimentaria o simplista, y sometida obviamente a variaciones subjetivas, de la celularidad observada en un frotis de médula ósea cuya obtención además, ha sido inadecuada. El criterio de "esterilización total de células malignas" como paso previo a una inmunoterapia posterior con buenas posibilidades de curación del enfermo, queda limitado por la dificultad de dar un valor real a las cuentas totales de elementos nucleados medulares. Con la ayuda de las transfusiones selectivas de eritrocitos, plaquetas y glóbulos blancos, hoy ya accesibles, se plantea la duda de si existe la aplasia medular terapéutica irreversible o si simplemente es problema de sostener a un enfermo con transfusiones selectivas el

tiempo requerido para que su médula se regenere, colocándolo en la situación ideal, para ser candidato a la curación y no simplemente sobreviva un largo plazo.

A menudo el quimioterapeuta se enfrenta a la situación conflictiva de clasificar una médula ósea como diluida o hipoplásica con una cuenta nucleada total (C.N.T.) de menos de 10,000 elementos y a veces ausencia casi total de células que sólo se encuentran en médula: proeritroblastos, megacariocitos, etc. Si la biometría hemática es de menos de 2,000-3,000 células nucleadas se interpreta como un caso hipo o aplásico, pero si está en límites normales, la C.N.T. baja se considera causada por dilución. De hecho ¿cuál es la situación en médula en ambos casos?; ¿se debe o no, continuar el tratamiento agresivo de una leucemia? y si es un agente en estudio por primera vez, en un caso ya resistente a otros agentes, ¿pudo haberse evitado una leucopenia marcada y prolongada, con sus inherentes complicaciones: hemorragias e infecciones mortales?. Si pudiéramos darle valor a las C.N.T. seriadas podríamos contestar a estas preguntas y proporcionar un dato valiosísimo al quimioterapeuta para hacer realmente mejores tratamientos, menos a ciegas, y sin tanteos o suposiciones que lo único que exponen es la vida de estos pacientes, por sí misma ya en peligro.

Casi todos los autores están de acuerdo en considerar a Arinkin, en 1927, como el primero en describir el método de estudio de la médula ósea (M.O.) obtenida por aspiración, en vida del paciente, de una punción esternal.

A partir de esa fecha se ha venido utilizando el material medular obtenido por aspiración, con fines diagnósticos, pero siem-

pre ha sido su estudio un punto de controversia, sobre todo desde el punto de vista cuantitativo: de si aporta datos adecuados o éstos no son confiables, pues parece ser que de los numerosos intentos para darle valor a las C.N.T. desde que se inició por primera vez el estudio de M.O. obtenida por este método de aspiración, un solo obstáculo fundamental ha quedado definitivamente confirmado: la dilución con sangre que sufre el tejido medular a medida que se extrae mayor volumen del mismo. Los estudios recientes a este respecto están de acuerdo en señalar que entre mayor es la cantidad de M.O. extraída, sufre una mayor dilución con sangre periférica. Para salvar este obstáculo casi todos los autores actuales recomiendan no aspirar una muestra mayor de 0.2 ml. La pregunta es obvia por sí misma: con dicho volumen ¿no existe dilución con sangre? o si la hay, ¿cuál es su magnitud?. Derivado de lo anterior ¿cuál sería la cantidad mínima de médula suficiente para hacer la C.N.T. y frotis para su estudio histológico, y cuyo grado de dilución pudiera ser razonablemente constante en el mismo enfermo, puncionando el mismo sitio, usando igual calibre de trocar, etc., es decir, la misma técnica?.

En 1942, Reich y Kolb (14) realizaron un estudio cuantitativo de las variaciones en muestras de aspiraciones múltiples de médula esternal, tomadas simultáneamente en dos centros hematopoyéticos diferentes, en él rechazaban el estudio cuantitativo del material medular obtenido por aspiración, reconociéndole validez únicamente histológica e cualitativa. Dichos autores para su estudio extraían una cantidad considerable de médula ósea: 2.5 ml en cada una de las dos aspiraciones realizadas en el mismo sitio, o

sea que de cada una de las dos punciones obtenían un total de 5 ml de M.O., lo cual es una cantidad de 12 a 25 veces mayor de la que se recomienda actualmente aspirar de un mismo sitio para "evitar" su dilución con sangre. Obviamente, el material medular así obtenido, estaba en efecto, sumamente diluido. Con este estudio los autores pretendieron dejar establecido que el estudio de la M.O. obtenida por aspiración esternal no debía ser hecho con fines de obtener datos cuantitativos precisos, como se venía haciendo desde que se introdujo este procedimiento diagnóstico.

En 1947, Schleicher (15) describía el aislamiento de partículas de M.O. para su posterior utilización realizando improntas para su estudio histológico después de haber sido fijadas. Partía de una cantidad también muy considerable de M.O. (de 2 a 5 ml) y el aislamiento se llevaba a cabo a partir de una muestra heparinizada sometida a posteriores diluciones, primero con suero fisiológico y luego con solución fijadora, ayudándose para localizarlas, con una fuente luminosa. Este aislamiento de partículas tiene como fin el estudio de los elementos presentes en la M.O. pero con sus relaciones porcentuales originales en la médula misma, tal cual se observarían en el tejido medular, ya que se ha visto que dichas partículas pueden ser porciones íntegras de tejido en las cuales no se han desligado los elementos unos de otros.

El trabajo anterior, realizado por Schleicher llevó a varios autores a seguir esta misma tendencia en el estudio de la M.O., es decir, el estudio histológico que, aunque realizado a partir del material obtenido de las aspiraciones, por aislar las partículas solas que en él se encuentran, revestiría la característica

de una biopsia. Por lo tanto, este estudio y todos los que hacen referencia a él, se derivaron, tuvieron como objetivo principal el estudio histológico de la M.O.

Así tenemos, que Berman y colaboradores, en 1947, llevaron a cabo una serie de trabajos sobre: la técnica para obtener lecturas volumétricas, extensiones, improntas y secciones histopatológicas (4), la estimación de la celularidad de la médula esternal (5), y las técnicas usadas en el estudio de la médula esternal aspirada (3). En ninguno de los estudios anteriores estos autores realizaron C.N.T. en las muestras obtenidas y, siguiendo la tendencia establecida por Reich y Kolb hicieron únicamente la estimación de la celularidad desde el punto de vista volumétrico, por los valores obtenidos por centrifugación de la muestra aspirada y examen del sedimento. Amén de lo poco práctico para hacerlo de rutina llegaron a concluir que los valores obtenidos de esta manera no dan datos sino aproximados de la celularidad de una muestra y sólo puede ser útil este método volumétrico para estimar la celularidad media de un grupo de casos. Además, siguiendo la línea de Schleicher, del estudio histológico de partículas de M.O., proponían un método modificado para obtener partículas, pero de una manera artificial, englobando una pequeña muestra de M.O. en un coágulo formado por el plasma heparinizado puesto en presencia de trombina, lo cual no mejoraba los resultados.

También en 1947, Pizzolato y Stasney (12) realizaron un estudio citológico cuantitativo de muestras múltiples de médula esternal tomadas simultáneamente, de dos sitios diferentes del cuerpo del esternón, separados aproximadamente 2-3 cm uno de otro, con

el fin de comprobar que la médula de todo el cuerpo tiene composición similar. Desgraciadamente, no especificaban de que volumen exacto fué cada aspiración, aunque mencionaban que se tuvo cuidado para no extraer mayor cantidad que 1 ml. de M.O. en cada aspiración, lo que obviamente es un volumen exagerado, con la dilución sanguínea correspondiente (cinco veces mayor del que se recomienda actualmente). Además, la muestra así obtenida la mezclaban con una cantidad (2 mg) de anticoagulante (oxalato de amonio y potasio), para prevenir la coagulación. Así, en casi todos los casos, estudiados por ellos, las dos diferentes muestras tenían muy diversas C.N.T., pero realmente el estudio no está enfocado a determinar el grado de dilución de la muestra con sangre periférica, aunque ellos mismos la citaban al referirse a esta diferencia de cuentas nucleadas totales: "otra posible causa para las diferencias numéricas es la inevitable mezcla con sangre periférica. Entre más grande sea la cantidad extraída es más probable que las paredes de los sinusoides se rompan, con la consiguiente mezcla con sangre".

En 1948, Sturgis en su Hematología (16) recomendaba no aspirar más de 0.2 a 0.5 ml de médula en razón a que es suficiente cantidad para realizar su estudio y la colección de una cantidad mayor implica una dilución mayor con la sangre circulante.

En 1949, Leitner y col. (10) informaban que solamente extraían de 0.1 a 0.3 ml ya que "de hecho la extracción de mayor cantidad conduce a una mezcla excesiva con sangre y por lo tanto, a alteraciones de la cuenta diferencial de las células de la M.O. y debe ser evitada".

Así tenemos que hasta entonces, se seguía la tendencia general de no realizar cuentas del aspirado medular, pero en 1950, Berlin y col. (2) hicieron una reconsideración de las C.N.T. en el material obtenido por aspiración esternal, y en su estudio intentaron una evaluación de la dilución con sangre periférica. Ellos citan a Grief y Segerdahl \*, quienes hicieron una demostración de la dilución con sangre periférica (S.P.) de muestras de médula realizando las C.N.T. en gotas sucesivas.

Este trabajo de Berlin y col. es, de todos los estudios realizados para comprobar la dilución con S.P. en una muestra de médula ósea obtenida por punción y posterior aspiración, el que indudablemente cuenta con mayor validez, por la exactitud que alcanza, ya que en él se demuestra la dilución utilizando glóbulos rojos marcados con fósforo radioactivo ( $P^{32}$ ), detectándose los elementos marcados en la muestra de M.O. tomada por punción y aspiración, estableciendo así, un factor de dilución experimental, en cada muestra. Pero desafortunadamente, a pesar de la exactitud que podría alcanzarse con este método sobre el grado de dilución que sufre una muestra obtenida por aspiración, no se puede llegar a ninguna conclusión (sobre si la muestra así obtenida resulta adecuada y justificado el realizar C.N.T. en ella), ya que por la naturaleza misma del método ellos tienen que partir de una cantidad considerable (0.25 - 0.50 ml) de muestra aspirada, que ya está diluida, y tampoco especifican en cuales casos extrajeron una u otra cantidad y menos aún, volúmenes intermedios.

\* Grief, S.: Methodische Unterlagen zu einer quantitativen Auswertung des Sternalmarkpunctates, Folia Haemat. 59: 328, 1938.

\* Segerdahl, E.: Ueber Sternalpunktionen, Upsala, 1935, Appelbergs Boktryckeriaktiebolag.

Con este trabajo, se volvió a dar un nuevo impulso al estudio cuantitativo del material medular obtenido por aspiración y por lo tanto, se reconsideró el efectuar C.N.T. como parte del estudio normal de la muestra de M.O. obtenida por aspiración, ya que es un dato valioso para fines diagnósticos, pronósticos y terapéuticos.

Poco después, al año siguiente, Fadem y Berlin (8) realizaron un estudio combinado: la comparación entre cuentas diferenciales preparadas de partículas, y de muestras al azar de material medular aspirado y también de nuevo, las determinaciones de la dilución con sangre periférica en el material aspirado utilizando  $P^{32}$ . En la primera parte de este estudio hicieron dos tipos de comparaciones, la apariencia gruesa del fluido aspirado en cuanto a celularidad (esto se hace por observación y apreciación únicamente), contra la cuenta nucleada total calculada y además, una comparación entre las cuentas diferenciales de extensiones preparadas con muestras al azar del fluido medular.

En la segunda parte de este trabajo hicieron dos tipos de estudios: el de la dilución de los aspirados medulares con S.P. y el de la dilución de las partículas aspiradas, también con S.P., ambos estudios, utilizando fósforo radioactivo como elemento marcador.

En ambas partes del trabajo se coincidió en recomendar el estudio de las extensiones preparadas con las partículas, ya que representan más exactamente la composición medular, que aquellas extensiones preparadas de muestras al azar del fluido aspirado. Además, por el estudio con  $P^{32}$  probaron que las partículas no sufren

dilución con S.P. ya que no se detectó radioactividad en ellas. Sin embargo, las conclusiones a que llegaron los inclinaron a rechazar el realizar C.N.T. en el producto de la aspiración, ya que le negaban validez a un conteo de elementos, y solamente reconocían la efectividad de realizar el estudio sobre las partículas (pero con la limitación obvia de ellas, de solo aportar datos histológicos y no proveer del dato cuantitativo).

En 1951, Fadem y Yalow (9) hicieron un estudio en cien personas normales sobre la uniformidad que existe en sus cuentas diferenciales realizadas en extensiones hechas con partículas de M.O. El promedio de las cien personas demostró dicha uniformidad y se consideró representativo de valores normales. Además, en diez personas normales, llevaron a cabo un estudio comparativo de partículas de M.O. obtenidas de dos diferentes sitios (esternón - cresta ilíaca, o esternón - apófisis espinosas vertebrales) y llegaron a la conclusión de que no existen diferencias significativas entre unos y otros. Pero siempre siguiendo la tendencia anterior, es decir, no daban valor a las C.N.T. en médula.

En un intento por obtener muestras de M.O. sin diluir, en 1952, Reddy (13) describió una nueva aguja. El autor mencionaba que el material obtenido por aspiración no es verdaderamente representativo de la médula ósea (M.O.), ya que está compuesto de una mezcla de partículas de M.O. y, de sangre periférica. De tal manera, el autor pasaba a describir una aguja para obtener por punción esternal, material medular sin diluir y el cual conservaba las células con sus relaciones anatómicas inalteradas; esto se lograba rotando la aguja que se había introducido en la cavidad

médulas. La aguja tenía una cavidad vertical profunda en su extremo distal de 1.75 cm, con un desnivel con filo, por medio del cual, prácticamente se rebanaba el tejido medular, que se iba acumulando a todo lo largo de la cavidad ya descrita, obteniéndose de esta manera, la médula sin diluir, y en su estudio, se asejaba al de una biopsia. El inconveniente grave de este método es el grosor de la aguja, lo cual lo haría impracticable en niños pequeños por el trauma provocado. Además, no se podría realizar C.N.T. en el material medular así obtenido.

En la actualidad, se siguen más o menos los mismos lineamientos en el estudio del material medular, es decir, no realizar las C.N.T.; hacer únicamente una estimación de la celularidad por conteo o simple apreciación microscópica a seco débil, de la abundancia de células por campo; realizar las cuentas diferenciales de los elementos celulares únicamente; y a veces, el estudio histológico de las partículas que pudieran encontrarse en los frotis. Se sigue recomendando no extraer una cantidad mayor de 0.2 ml de M.O. para "evitar" la dilución con sangre periférica.

Por todo lo anterior, tenemos, que lo que constituye realmente el motivo de este trabajo es el de encontrar un argumento para respaldar y justificar el empleo de una muestra de médula ósea tomada en las condiciones citadas a lo largo de él, como un medio de aportación de valiosísimos datos no sólo cualitativos, sino cuantitativos. Nos resistimos a admitir que el producto de una aspiración medular sea valorado más o menos subjetivamente y únicamente tenga significado desde el punto de vista histológico, ya que hay razón justificada para estudiarlo como un fluido que puede apor--

tar cifras si no exactas, si muy apegadas a la realidad de lo -  
que podrían ser las cuentas totales de elementos nucleados del  
tejido medular en sí, y en esta investigación realizamos un in--  
tento de hacer este dato de mayor utilidad en el tratamiento se--  
cuencial del paciente, cuyos estudios medulares y hemáticos se--  
riados aportarían criterios terapéuticos más racionales.

## II.- MÉTODOS

En el presente trabajo se estudia, la posibilidad de la existencia de una relación cuantitativa en el grado de dilución con sangre periférica al extraer una muestra de médula ósea por aspiración y, en última instancia, cual podría ser la cantidad mínima aspirada que se consideraría como representativa de una muestra de médula ósea adecuada y sin dilución (o dilución mínima), pero suficiente para efectuar la cuenta nucleada total (C. N.T.) y dos frotis. Para un estudio de esta índole el método a seguir conjuga varios pasos: 1º.- Extracción de cantidades sucesivas de médula ósea de un mismo sitio, es decir, de un mismo centro hematopoyético, y medidas lo más exactamente posible. -- 2º.- Cuenta total de elementos nucleados (C.N.T.) en las diferentes fracciones extraídas. 3º.- Observación de los frotis hechos con las diferentes tomas de médula ósea.

Entonces tenemos que el primer paso sería el de efectuar la punción en el lugar adecuado y obtener la muestra de médula ósea. El esternón fué el sitio a elección, aunque también ésto ha sido punto de controversia, porque no obstante que algunos autores mencionan que "casi cualquier área de médula en actividad cerca de la superficie del cuerpo, puede ser escogida" indistintamente para realizar la punción y "el esternón al nivel del segundo espacio intercostal, la parte anterior del hueso ilíaco, y la apófisis espinosa de una vértebra lumbar" (6) son los tres sitios más usados, en ocasiones, la punción esternal ha sido motivo de objeciones, principalmente debido a que, según otros autores, es

patente su peligrosidad por las numerosas muertes que se han reportado relacionadas a este procedimiento (a causa de lesión de otros tejidos vitales al realizar la punción) (7).

Sin embargo, a pesar de sus detractores, la punción esternal parece ser la más adecuada, habiéndose incluso realizado estudios comparativos de punciones medulares del esternón, cresta ilíaca y apófisis espinosas vertebrales (1), resultó ser la esternal la punción más adecuada.

Parece ser además, que el esternón es el centro hematopoyético más sensible a responder a estímulos que causen cambios en la médula, asimismo se ha comprobado que la médula del esternón permanece activa durante toda la vida (16) y refleja la actividad de la M.O. con más exactitud (16). Estudios posteriores parecen demostrar que hay una mayor probabilidad de dilución de la médula con sangre sinusoidal en la punción ilíaca que en la punción esternal (11). Esto, unido a que es muy remota la probabilidad de un accidente fatal al realizar la punción, más aún si ésta la lleva a cabo un hematólogo experimentado, nos hizo inclinarnos por la punción esternal.

El equipo para realizar la punción se tiene preparado de antemano y ha sido esterilizado previamente. Está formado por guantes, compresa que deja al descubierto la zona en donde se va a efectuar la punción, aguja de punción lumbar de calibre # 18 cortada y biselada a 1.5 cm de la embocadura, mandril y jeringas para hacer la aspiración de la muestra. Se utilizaron generalmente tres jeringas de 10 ml y otras tres de 1 ml para cada estudio, que fueron acondicionadas en la forma que enseguida describimos,

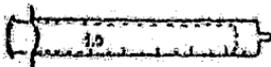
para poder hacer la aspiración de cantidades pequeñas de médula ósea exactamente medidas.

La adaptación hecha consiste en recortar una jeringa de 1 ml en su porción opuesta a la punta, es decir, en su base, de manera que quede como se esquematiza en la figura 1. Por separado, a una jeringa de 10 ml se le adapta en su punta un tubito de polietileno flexible, como los tubos usados para los equipos desechables de transfusión, pero recortado del tamaño de la punta de la jeringa, de manera que ésta, con el aditamento de polietileno, embone perfectamente en la base recortada de la otra jeringa de 1 ml, la punta de la cual, ya se conecta al trócar que se ha introducido en el sitio de la punción.

La jeringa grande, de 10 ml, con su aditamento de polietileno no se esquematiza en la figura 2, y en la figura siguiente (3) se vé como queda el sistema de las dos jeringas.

Los tubitos de polietileno con los que se hace la conexión de las dos jeringas se tienen aparte en un recipiente con antiséptico y se toman con pinzas estériles en el momento en que van a ser utilizados, ésto es con el objeto de evitar que se aflojen con la esterilización, si se dejaran ya conectados a la jeringa de 10 ml.

Esta adaptación, que se ideó en el presente trabajo para tener el sistema de las dos jeringas conectadas, tiene como objeto que el líquido medular aspirado se mida exactamente, y como la primera cantidad que se aspira es muy pequeña, solamente se puede hacer su medición exacta valiéndose de la jeringa de 1 ml, ya que tiene la graduación apropiada. La jeringa de 10 ml adaptada



a).- Jeringa de 1 ml sin recortar.



b).- Jeringa recortada en su base.

Fig. 1

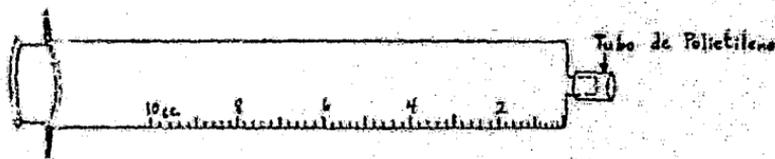


Fig. 2.- Jeringa de 10 ml con el aditamento de poliestileno en su punta.

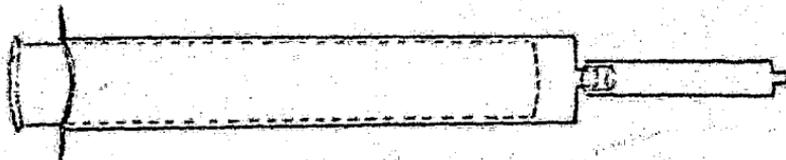


Fig. 3.- Sistema de dos jeringas (de 10 ml y de 1 ml), adaptadas para hacer la aspiración de M.O. en el presente trabajo.

a continuación de la de 1 ml tiene como único objeto hacer la succión necesaria para extraer la muestra de médula ósea, puesto que la ejercida por la jeringa de 1 ml fué muy pequeña e insuficiente para hacer salir la muestra de la cavidad medular.

Todas las jeringas que van a ser utilizadas en cada estudio se preparan poco antes de hacer la punción, manejando todo el material con guantes estériles y se dejan conectadas de la manera ya descrita en los párrafos anteriores para ser utilizadas inmediatamente después.

La zona de la punción se aseptica con mertiolate y se cubre con la compresa estéril, que deja la zona esternal donde se va a efectuar, al descubierto. El operador se cubre las manos con guantes estériles, y aunque ésta es una precaución en que muchos autores no insisten, es recomendable para disminuir los riesgos de infección.

La aguja es insertada en la parte media del cuerpo del esternón (manubrio), al nivel del segundo espacio intercostal.

Como una referencia, sobre todo tratándose de niños pequeños, como fué en la mayoría de los casos, se palpan los bordes del cuerpo del esternón entre el pulgar y el índice de la mano que no está siendo usada en la punción, como medio de aproximación al centro del esternón. Esta precaución es de importancia, ya que si la punción se desvía lateralmente, la cavidad medular no sería penetrada (16).

Una vez insertada la aguja en el sitio indicado, se retira el mandril y se comprueba si la punta de la aguja se encuentra en la cavidad medular (ésto se vé claramente, ya que si se está

en cavidad medular, al sacar el mandril se observan partículas de médula ósea adheridas a él). Después de que se retira el mandril se conecta una de las jeringas ya preparadas como se indicó anteriormente y se procede a la extracción de la primera muestra de médula ósea. Al terminar de aspirar el volumen requerido, se desconecta únicamente la jeringa dejando la aguja insertada en el mismo sitio. Rápidamente se coloca en un portaobjetos esta primera muestra y de ahí se toma inmediatamente, la cantidad necesaria para el recuento de elementos nucleados con una pipeta de las usadas para el recuento de glóbulos blancos (que tienen la relación del 1 al 10 entre los volúmenes del vástago y del bulbo). La dilución generalmente se hizo 1:20 que es la normal para este recuento, pero en contados casos ésto no fué posible, porque al aspirar la muestra se notaba dificultad para que subiera por el vástago hasta la marca de 0.5 y entonces el muestreo se hacía con una dilución 1:100, 1:50, 1:33.3, 1:25, según alcanzara la muestra, o se pudiera aspirar hasta 0.1, 0.2, 0.3 ó 0.4 respectivamente.

Con el resto de la muestra se procede rápidamente a preparar una o dos extensiones por el método de los dos portaobjetos. Las pipetas y los frotis se identifican con sus números correspondientes para indicar la toma o muestra de la cual proceden para continuar después con su estudio.

Mientras están efectuándose estos pasos se conecta rápidamente otra jeringa limpia y estéril, y con la misma adaptación de la primera, a la aguja o trócar que está introducido en el lugar ya indicado, se procede entonces a extraer la segunda porción

de M.O. y repetir el proceso ya descrito para la toma de la primera muestra, identificando pipetas y frotis con sus números correspondientes. En la misma forma se efectúa la tercera aspiración.

Errores de Método.— En este método de aspiración de tomas sucesivas de médula ósea, obtenidas de una misma punción, se pueden mencionar dos defectos o errores de método.

1º.— Al hacer la aspiración para cada toma, queda siempre una cantidad de M.O. en la embocadura y/o la luz del trócar, la cual al conectar la otra jeringa, llega incluso a derramarse al ser desplazada por el pivote de la misma.

2º.— El llanto del niño ocasiona un aumento de la presión intramedular, por lo cual hay goteo espontáneo de M.O. entre las tomas sucesivas. Este fué un inconveniente que se presentó en casi todos los estudios.

Por otra parte, tenemos una variante en el método de muestreo, llevada a cabo en dos estudios, ya que en ellos se realizaron dos punciones en diferente sitio. La primera, en el sitio descrito para todos los demás estudios, es decir, en el centro hematopoyético correspondiente a la parte media del cuerpo del esternón (manubrio), al nivel del segundo espacio intercostal. De este sitio se hizo la primera aspiración y a la cuenta de elementos nucleados y extensiones se les denominó como Ia. En uno de estos estudios, se hizo una segunda aspiración en el mismo centro hematopoyético, con una jeringa limpia y estéril. La cuenta de elementos nucleados y la extensión, correspondientes a esta aspiración, se identificaron como Ib.

La segunda punción en estos casos se realizó inmediatamente después de la primera, en el centro hematopoyético inmediato inferior, ésto es, el correspondiente al nivel del tercer espacio intercostal. De esta punción solo se hizo una aspiración en ambos casos; a las cuentas y extensiones se les identificó como IIA.

Más adelante, en los capítulos de Material y Resultados se observará que este grupo, constituido por los casos en que se realizaron dos punciones, se amplió a tres casos, al incluir uno más, en el cual también se realizaron dos punciones. En este caso, de la primera punción se realizó solamente una aspiración, pero de la segunda punción fueron dos las aspiraciones hechas.

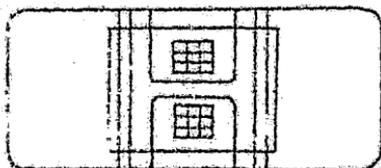
El emplear este método de las dos punciones "simultáneas" (una a continuación de la otra) en diferentes centros hematopoyéticos, tuvo como objeto realizar una comparación en la misma persona, del efecto que tiene sobre la cuenta total de elementos nucleados, el hacer una aspiración pequeña, y hacer otra de mayor volumen, siendo las dos, las primeras aspiraciones hechas en ese sitio, para poder tener punto de comparación. Este método no se siguió usando en el estudio de casos posteriores, ya que la punción en dos sitios diferentes es doblemente molesta en niños. Además, como ya se dijo antes, el sitio para realizar la punción en todos los demás estudios, y la 1ª punción en este grupo, fué el manubrio del esternón, correspondiente al segundo espacio intercostal, pero, el lugar en donde se realizó la segunda punción, en los tres casos de este grupo, fué el centro hematopoyético inmediato inferior (el correspondiente al tercer espacio intercostal),

y éste, es un centro más difícil de localizar, donde las referencias no son tan claras, sobre todo en niños pequeños, corriendo el riesgo de atravesarlo y no hacer la aspiración en la cavidad medular correspondiente, o perforar órganos vitales más profundos.

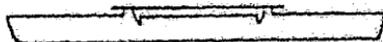
Las punciones, en todos los casos fueron efectuadas por el Supervisor Técnico de este trabajo, ya que para ello es indispensable un profundo conocimiento y práctica, sobre todo tratándose de niños pequeños, como lo fueron la mayoría de los pacientes; además se necesitó del auxilio de otra persona para hacer las extensiones.

Hasta aquí, tenemos en sí, la primera parte del método, en cuanto se refiere a la toma de la muestra. Proseguiremos explicando los pasos siguientes.

El paso inmediato es la cuenta total de elementos nucleados, o cuenta nucleada total (C.N.T.), en las diferentes fracciones extraídas en cada caso. Como ya se explicó en el paso anterior, de cada porción o muestra se toma para la cuenta correspondiente, haciendo la dilución en una pipeta de las usadas para el recuento de glóbulos blancos, con el mismo diluyente que se emplea para dicho recuento, el cual consiste en una solución de ácido acético al 3%, a la que se le agrega un poco de violeta de genciana. Este diluyente, por llevar ácido acético tiene la propiedad de hemolizar los eritrocitos maduros (sin núcleo), dejando intactos los glóbulos blancos y todos los demás elementos nucleados existentes en médula ósea. El llenado de la cámara se efectúa en la misma forma que para el recuento de leucocitos.

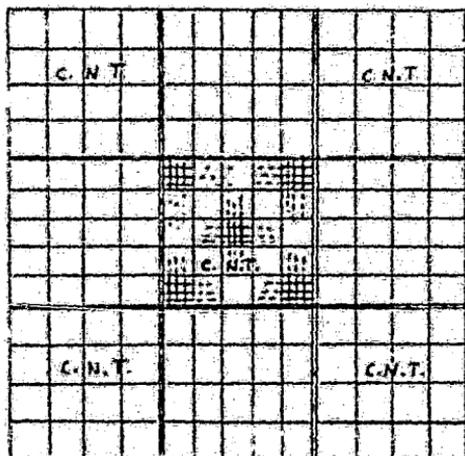


a).- Cámara vista por arriba.



b).- Cámara vista de perfil.

Fig. 4



c).- Cuadrícula de Neubauer. (Los cuatro cuadrados de los extremos, de  $1 \text{ mm}^2$  c/u, marcados como C.N.T. son los que se utilizaron para el recuento de elementos nucleados de M.O.; ocasionalmente se utilizó el central, marcado también como C.N.T.)

En casi todos los casos, los recuentos se hicieron en la forma indicada para leucocitos, es decir, los 4 mm<sup>2</sup> de los extremos de la cuadrícula de Neubauer. Pero en ocasiones, la médula era sumamente hiperplásica, por lo que sólo se contaba 1 mm<sup>2</sup>, el del centro, ó 2 mm<sup>2</sup>, según se observara la profusión de elementos nucleados, con objeto de no prolongar demasiado la cuenta y evitar la evaporación del diluyente y consiguiente concentración de elementos por contar, lo cual falsea los resultados y hubiera dado mayor error al recuento. Ocasionalmente, cuando la médula se veía sumamente hipoplásica se contaron 5 mm<sup>2</sup>, incluyendo el del centro. El número de mm<sup>2</sup> contados en todos los casos se toma en cuenta para los cálculos, haciendo la salvedad de que entre mayor es el número de mm<sup>2</sup> contados, más confiable es el recuento.

En la fig. 4 se tiene un esquema de la cámara de Neubauer y una de sus dos cuadrículas, en donde se vé, cuáles fueron los mm<sup>2</sup> utilizados para contar.

La fórmula que se usó para calcular las cuentas nucleadas totales en cada caso, es la misma que se emplea para el recuento de leucocitos (17):

$$L = \frac{N \times 10 \times 20}{4}$$

En donde:

L = Número de leucocitos, y en este caso, número de elementos nucleados por mm<sup>3</sup>.

N = Número de elementos nucleados contados en las áreas utilizadas, que casi siempre fueron los 4 mm<sup>2</sup> de los extremos de la

cuadrícula de Neubauer (a ésto se refiere el número 4 del denominador), como ya se mencionó anteriormente, y cuando la cuenta era muy elevada se contaron 3, 2 ó en ocasiones, únicamente 1 mm<sup>2</sup>; entonces el denominador en la fórmula quedaría convertido en 3, 2 ó 1 respectivamente.

10 = Inverso de la altura de la cámara.

20 = Dilución que se hizo al tomar la muestra con la pipeta para la cuenta de glóbulos blancos. Aunque en ocasiones, como ya se dijo, la dilución fué 1:25, 1:33.3, 1:50, 1:100, quedando en la fórmula como 25, 33.3, 50, 100, respectivamente.

El último paso en cada estudio es la observación microscópica y cuenta diferencial de los elementos nucleados en los frotis hechos con cada una de las diferentes fracciones de M.O. extraídas.

La tinción utilizada para las preparaciones es la Pan-óptica de Pappenheim, que emplea la combinación de dos colorantes: el de May Grünwald inicialmente y el de Giemsa después.

El colorante de May Grünwald es eosinato de azul de metileno (en esta forma se adquiere el polvo seco en el comercio) y se prepara al 0.5% en metanol. Se deja reposar cuando menos una semana antes de usarse.

El colorante de Giemsa está compuesto por una mezcla de Azur II - Eosina y de Azur II (y se vende en el comercio ya hecha la combinación y en forma de polvo, como colorante de Giemsa). Para la tinción, el colorante se prepara de la siguiente forma:

Giemsa.....	3.8 g
Glicerol.....	250 ml
Metanol.....	250 ml

Se deja envejecer esta mezcla por un tiempo (aproximadamente un mes). Cuando se va a utilizar para la tinción se diluye 1:10 con agua o de preferencia con una solución amortiguadora de pH 6.4, para evitar que la tinción sea muy basófila. Esta solución amortiguadora se puede preparar de la manera siguiente (17):

Fosfato monopotásico.....	6.63 g
Fosfato disódico.....	3.20 g
Agua c.b.p. ....	1000 ml

Este amortiguador se debe usar también de preferencia, cuando se hace la dilución del primer colorante (May Grünwald) al estar efectuando la tinción.

Los pasos que se siguen para la tinción son los siguientes

1ª.- Se cubre el frotis con el colorante de May Grünwald durante cinco minutos.

2ª.- Se añade el mismo volumen de agua (o de amortiguador), dejando por tres minutos más.

3ª.- Se escurre el colorante, cubriendo la extensión durante 25 minutos, con el colorante de Giemsa diluido al décimo.

4ª.- Se lava con agua, se espera a que seque y se procede al estudio microscópico de la preparación.

El estudio microscópico de las preparaciones comprendió una observación a seco débil para darse una idea de la celularidad de la muestra, comparando de esta manera las extensiones diferentes hechas con cada una de las muestras de un mismo caso; además se realizó una observación de la presencia de megacariocitos.

Después se pasó a la cuenta diferencial de elementos nucleados, que en casi todas las extensiones fué a 500 elementos, para obtener un valor más representativo. Pero en ocasiones, cuando la

médula era sumamente hipoplásica, la cuenta se hizo a 300 ó a 200 elementos. Para hacer la cuenta diferencial se tomó un fro-tis de cada una de las diferentes porciones de muestra aspirada en cada estudio y se hizo en él la cuenta con el objetivo de inmersión, recorriendo la extensión en la forma acostumbrada para una cuenta diferencial común, en sangre periférica. En la cuenta se incluían todos los elementos nucleados, tanto de serie leucocitaria, como eritrocítica en sus elementos inmaduros nucleados.

En todos los casos, las cuentas diferenciales se calcularon en % y en cifras absolutas, pero no se incluyen en el presente trabajo, ya que serían datos de utilidad relativa, o por lo menos, su consideración sería objeto de un estudio más exhaustivo que queda fuera de las limitaciones de este trabajo.

### III.- MATERIAL

El material que se utilizó en el presente estudio lo constituye la médula ósea obtenida por punción esternal y aspiración en 13 pacientes afectos de leucemia aguda, ya fuera en recaída o remisión, y que servía con fines diagnósticos, pronósticos y terapéuticos, en beneficio de los niños enfermos, la edad de los cuales fluctuaba entre 3 y 15 años. Estos pacientes estaban siendo tratados con: trimercapto purina, nitrógeno mostaza, prednisona, o bien con Endoxan, ciclofosfamida, Leukeran; todos ellos, agentes citotóxicos usados para el tratamiento de la leucemia.

El material obtenido de la aspiración, en este trabajo, se puede clasificar en tres grupos:

1º.- Material considerado como óptimo, el cual se obtuvo de aspiraciones satisfactorias, en función del volumen extraído - (múltiplos exactos de la primera en la segunda y tercera tomas), de la succión ejercida (ésto es, que no fué necesaria succión excesiva para extraer el volumen planeado) y de la obtención de la muestra con defectos o inconvenientes mínimos del método, señalados en ese capítulo. Además, en todos los estudios de este grupo, se recogieron las cantidades suficientes para hacer las diluciones 1:20 en las pipetas cuentaglóbulos para el posterior recuento total de elementos nucleados, excepto en los estudios 6 y 21, lo que permite tener mayor confianza en el resultado del conteo.

2º.- Material incompleto o defectuoso, en el cual está com-

prendido todo aquel en cuya obtención se presentaron uno o varios de los siguientes inconvenientes: aspiraciones no satisfactorias por la imposibilidad de obtener el volumen planeado; volúmenes de tomas sucesivas que no fueron múltiples exactos; principios de coagulación de la muestra en la jeringa; principios de coagulación o quizá, obstrucción del vástago por partículas (de tejido medular) al aspirar la muestra con la pipeta cuentaglóbulo; diluciones más altas (1:33.3, 1:50, 1:100), que la óptima para el recuento (de 1:20 en casos de médulas no muy hiperplásicas), provocadas en ocasiones, por escasez de material.

3°.- Material obtenido de dos punciones diferentes, realizadas en centros hematopoyéticos adyacentes. En este grupo se consideraban inicialmente dos casos (18 y 19), pero se incluyó otro más (el # 8), ya que en él también se realizaron dos punciones.

A lo largo de este trabajo se llegó a establecer que la primera aspiración sería de 0.05 ml, porque es la mínima cantidad suficiente para obtener dos frotis y realizar el recuento, y en el cual la dilución sería mínima y quizá constante, ya que era una cantidad muy pequeña. Para observar si existía alguna relación cuantitativa en el grado de dilución, en la segunda aspiración se extrajo el doble de la primera, o sea, 0.1 ml. Por la misma razón, en la tercera aspiración se extrajo el doble de la segunda: 0.2 ml.

En algunos casos, las muestras fueron muy variadas en cuanto a volumen aspirado, ya sea porque todavía no se establecía con precisión (al principio del trabajo, en los estudios inicia-

les), la magnitud del volumen mínimo suficiente en cada aspiración, ya porque en ocasiones hubo dificultades para obtener dichas cantidades, o contrariamente, el llanto o esfuerzo del niño, aumentando la presión intramedular, expulsaba mayor cantidad de médula en la jeringa y ésta tuvo que reinyectarse a la médula para tomar sólo la planeada en cada extracción. En los casos donde se presentó este último inconveniente, se perdió el control del volumen real extraído, a partir de la aspiración en que se presentó dicho inconveniente o, aún cuando se supo en algunos casos, cuánto más de médula se expulsó hacia la jeringa, la mezcla que hubo a partir de la reinyección, no hace confiables o reales las cuentas sucesivas.

Por último, tenemos que mencionar el hecho de que todos los datos que se dan en el capítulo siguiente, referentes a la cuenta de leucocitos/mm<sup>3</sup> en sangre, tomados como punto de comparación en las tablas de resultados, se obtuvieron de la biometría que se realizó al niño ese mismo día en el Laboratorio de Tumores, como parte del estudio que periódicamente se les hace a los pacientes. En este caso, el material fué la sangre de los niños, obtenida por punción capilar. Solamente en un caso (el estudio No. 4), la cuenta leucocitaria no fué hecha el mismo día de la punción medular y se citará más adelante.

#### IV.- RESULTADOS

A lo largo de este capítulo se presentan algunas tablas y gráficas con los resultados de los recuentos efectuados en todos los casos y de algunas otras combinaciones de cálculos porcentuales y estadísticos hechas para poder obtener mayor información de los resultados en este trabajo.

En la tabla 1 se da el resultado de las cuentas efectuadas en cada una de las muestras de los 25 estudios que se realizaron en 13 enfermos distintos (los diferentes estudios que se realizaron en un mismo enfermo, fueron hechos en días distintos).

Para poder observar más claramente la tendencia de las cuentas obtenidas y sacar algunas conclusiones es preferible dar esta tabla en orden descendiente de cuentas nucleadas totales, es decir, desde la más elevada hasta la menor. La primera columna es la que corresponde al número del estudio, el cual obedece a un orden cronológico, es decir, el estudio No. 1, por ejemplo, es el primero que se realizó en el presente trabajo, aunque no es el primero que aparece en la tabla, ya que su C.N.T. no es la mayor.

A la derecha de la primera columna con la numeración cronológica de los estudios, aparece enseguida, una columna con el sexo de los pacientes.

En las columnas centrales de la tabla citada se colocan las cifras correspondientes a las C.N.T./mm<sup>3</sup> calculadas en cada una de las tres aspiraciones hechas, aunque hay algunos casos en los que faltan dichas cifras, ya sea en 2<sup>a</sup> ó 3<sup>a</sup> tomas porque el mate

TABLA 1

Cuenta Total de Elementos Nucleados en Médula y de Leucocitos en Sangre en Orden Descendente de C.N.T./mm<sup>3</sup>

Caso #	Sexo	1ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	2ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	3ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	Leucoc./mm <sup>3</sup> en S.P.
9	M	374,500	112,890	-----	10,000
19	F	206,800	75,400	4,600	2,600
22	"	205,000	50,400	17,160	3,400
12	"	181,480	-----	6,530	3,100
23	"	135,000	24,550	31,400	3,100
18	"	123,000	99,900	-----	2,900
6	M	120,330	46,670	15,700	2,100
24	F	118,600	15,200	16,800	3,100
5	M	99,200	51,800	-----	1,400
16	"	95,600	-----	2,400	1,900
14	F	94,500	-----	29,900	3,600
* 4	M	87,200	63,000	22,400	7,900 *
11	F	71,870	14,800	5,920	1,900
3	M	71,170	46,500	15,800	4,300
2	F	70,330	17,930	7,670	4,200
21	M	69,500	20,850	16,880	4,000
17	F	48,600	7,880	6,920	3,700
1	M	27,130	11,730	-----	600
20	"	26,100	13,120	11,280	6,600
8	"	15,400	5,760	2,410	700
13	F	14,840	7,800	6,560	2,300
25	M	14,100	11,500	10,200	8,900
15	"	12,990	-----	8,600	4,300
7	"	6,700	3,640	1,260	2,100
10	"	1,940	1,000	640	200

\* La biometría hemática en este caso fué hecha cinco días antes de la toma de M.O. para el estudio.

Nota: Vale la pena recalcar que son pacientes tratados con los agentes citotóxicos mencionados en el capítulo anterior, por lo cual, en algunos casos, las cuentas aquí anotadas pueden resultar un poco extrañas, por las cifras tan bajas obtenidas en médula ósea y en sangre periférica.

rial fué incompleto, o porque no se pudo hacer el recuento.

En la última columna de la derecha, aparece la cifra correspondiente a la cantidad de leucocitos/mm<sup>3</sup> calculada en sangre periférica. La tabla se puede ver en la página anterior.

De acuerdo a la división del material medular obtenido, que se hizo en el capítulo correspondiente, tenemos más adelante algunas tablas y gráficas relacionadas con los distintos grupos formados.

Grupo 1º: Material Optimo.- Este grupo está formado por ocho estudios con tomas de volúmenes múltiples exactos y material óptimo (véase el capítulo de Material). Estos se encuentran resumidos en la tabla 2, en cuyas tres columnas centrales se encuentran las cifras correspondientes a las C.N.T./mm<sup>3</sup> calculadas en las tres aspiraciones realizadas en cada estudio. En la última columna se colocan los datos de la cuenta de leucocitos/mm<sup>3</sup> realizada en sangre periférica.

De los ocho estudios que integran este primer grupo, de material óptimo, solamente en dos casos (17 y 25) no se tuvo el inconveniente del goteo entre tomas. Esto se hace observar, por el hecho de que dicho defecto o inconveniente se tuvo en casi todos los estudios, pero en estos dos casos, está eliminado, por lo que se podrían observar las cuentas obtenidas en ellos y algún otro detalle, en las gráficas correspondientes, para compararlos con otros estudios.

En los casos 6 y 21, no se pudieron hacer diluciones 1:20 en la pipeta cuentaglobulos para su posterior recuento, en cinco

de las seis muestras correspondientes a estos dos casos, pero, aunque esta dilución se había tomado como común en todos nuestros casos de estudio, por no saberse realmente de antemano con que C.N.T. nos íbamos a encontrar (y en ocasiones era sumamente baja), creemos que estos dos casos se pueden incluir en este grupo, sin incurrir en grave error.

La tabla 3 se refiere al % de M.O. que queda en 2ª y 3ª tomas con respecto a la 1ª, a la cual se le asigna el 100%. Estos porcentajes se calcularon en dos formas diferentes, una de ellas, por la C.N.T., tomando entonces en cuenta, los leucocitos/mm<sup>3</sup> en sangre periférica, en un cálculo de mezclas. Estas cifras aparecen en las columnas de la izquierda correspondientes a 2ª y 3ª tomas. En las columnas de la derecha de esas mismas tomas, se colocan los porcentajes calculados por serie roja, para lo cual solamente se toman en cuenta las cifras absolutas de los elementos inmaduros de la serie eritrocítica encontrados en 2ª y 3ª tomas y se relacionan directamente con los de la 1ª. Más adelante damos un ejemplo de un caso calculado en las dos formas mencionadas.

En las páginas siguientes se encuentran las dos tablas citadas anteriormente, y cuatro gráficas hechas con los datos de este primer grupo.

En la gráfica 1 se colocan las C.N.T./mm<sup>3</sup> tal cual, en el eje de las ordenadas, pero en ella no se puede observar claramente, la tendencia al descenso de las C.N.T./mm<sup>3</sup> sobre todo de 2ª a 3ª tomas, ya que debido a que hay primeras tomas con cuentas muy altas, la dispersión en este punto es muy grande, por lo que en 2ª y 3ª tomas, sobre todo en esta última, existe una superposición

de puntos, por lo cual se probó realizar la misma gráfica tomando el porcentaje de M.O. que queda en 2ª y 3ª tomas, en relación a la 1ª, a la cual se le fija el 100% de material medular. Esto se hace partiendo de la suposición de que la 1ª toma, o no está diluida, o si lo está, es en una proporción mínima, en comparación de las dos tomas siguientes. De esta manera se tiene la gráfica 2, en la cual ya se vé más claramente y sin superposiciones de puntos, la tendencia de disminución del material medular en las tomas sucesivas de cada estudio. Para hacer esta gráfica se utilizaron las cifras correspondientes al % de M.O. calculado con respecto a la C.N.T. que aparecen en la tabla 3, en las columnas de la izquierda en 2ª y 3ª tomas.

En la gráfica 3 se representan en histogramas los porcentajes de material medular en cada una de las tres aspiraciones hechas, calculados en la forma que ya se citó para la gráfica anterior, esto es, se utilizaron las mismas cifras que sirvieron para realizar dicha gráfica. Los histogramas de frecuencias son gráficas muy usadas en Estadística y en el caso de nuestro estudio, aunque no representan frecuencias precisamente, puesto que en el eje vertical se colocan los porcentajes de M.O. y en el horizontal los tres grupos, correspondientes a los ocho estudios con sus tres tomas, presentan de una manera muy ilustrativa, lo que se viene observando: a medida que aumenta el volumen de M.O. extraído, disminuye el material medular.

La gráfica 4 está hecha con los promedios aritméticos del % de M.O. en cada una de las tres tomas, e incluyendo el error estándar de las medias en 2ª y 3ª tomas, calculado en la forma --

convencional, y cuya fórmula citaremos más adelante.

En las tres primeras gráficas se observa que en casi todos los estudios, el descenso es muy marcado de la 1ª a la 2ª tomas (en casi todos ellos, la dilución fué mayor del 50%, y solamente en uno fué exactamente el 50%), y ya no lo es tanto de 2ª a 3ª tomas.

En hipótesis cabría esperar que el material medular disminuyera sensiblemente al 50% en la segunda aspiración hecha, y al 25% en la tercera, esto es, diluciones de 50% y 75% respectivamente, ya que en cada toma se aspiró doble volumen que en la anterior, pero hay que tener en cuenta que la dilución se lleva a cabo al mezclarse el material medular con sangre circulante, la cual también lleva una cantidad determinada de elementos nucleados (leucocitos) y que estos van a influir en la C.N.T. en mayor o menor proporción, según sea su cantidad y según sea también la cantidad de elementos nucleados que haya en ese material medular. Aún así, se puede pensar que el descenso es todavía mayor del previsible de 1ª a 2ª tomas, puesto que aún tomando en cuenta el factor del error estándar en el promedio del % de M.O. en la 2ª toma, éste es todavía menor del 50%. En la gráfica 4 se ve que en promedio, los estudios del primer grupo descienden del 100%, al 30.2% en la 2ª toma, es decir, en la segunda toma hay una dilución promedio del 69.8%. En cambio en la 3ª toma, el descenso ya no es tan grande, pues el % de material medular llega a 16.7, (dilución del 83.3%), o sea que entre 2ª y 3ª tomas sólo hubo un descenso del 13.5%. A continuación se pueden observar las dos tablas y las cuatro gráficas mencionadas.

TABLA 2

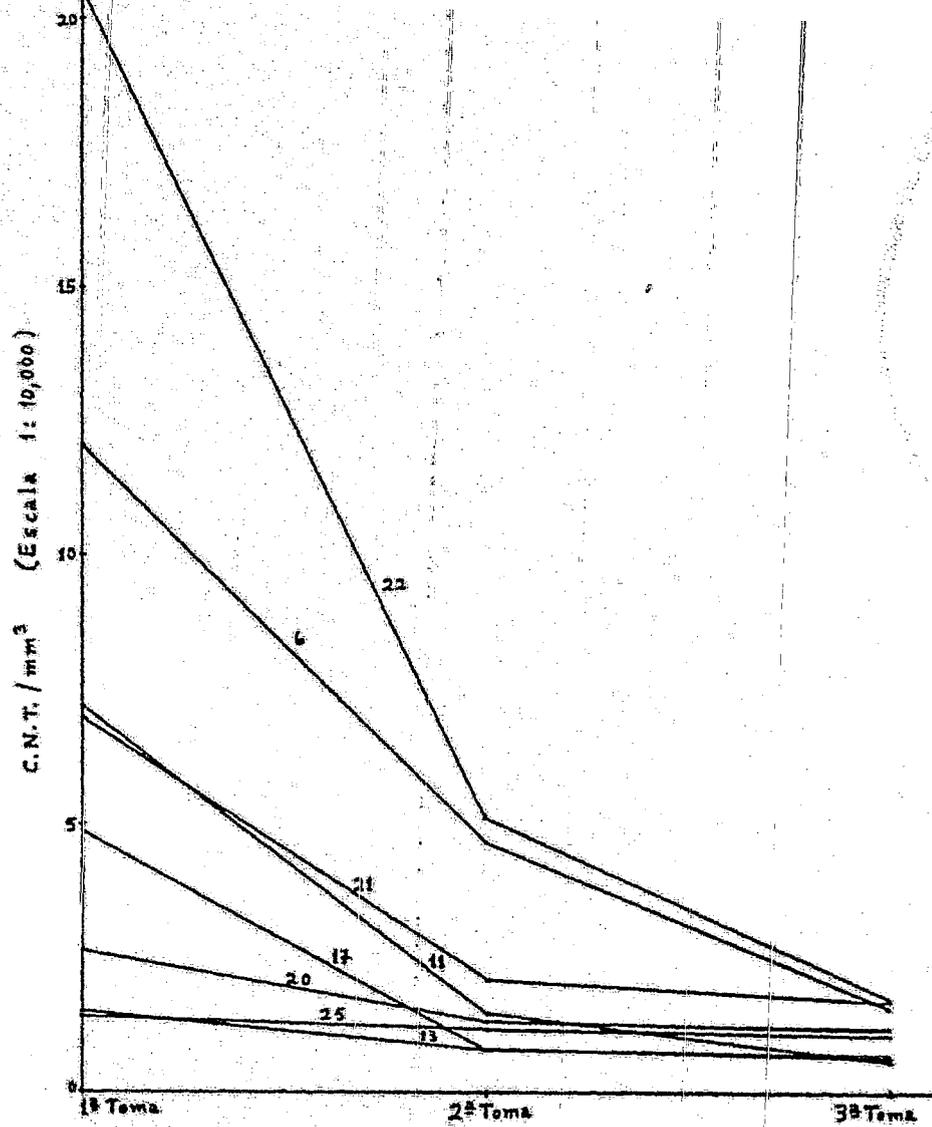
Cuenta Total de Elementos Nucleados en Médula y de Leucocitos en Sangre. Primer Grupo: Ocho Estudios con Material Optimo.

Caso #	1ª Toma M.O.	2ª Toma M.O.	3ª Toma M.O.	Leucoc./mm <sup>3</sup> en S.P.
	C.N.T./mm <sup>3</sup> 0.05 ml	C.N.T./mm <sup>3</sup> 0.10 ml	C.N.T./mm <sup>3</sup> 0.20 ml	
22	205,000	50,400	17,160	3,400
6	120,330	46,670	15,700	2,100
11	71,870	14,800	5,920	1,900
21	69,500	20,850	16,880	4,000
17	48,600	7,880	6,920	3,700
20	26,100	13,120	11,280	6,600
13	14,840	7,800	6,560	2,300
25	14,100	11,500	10,200	8,900

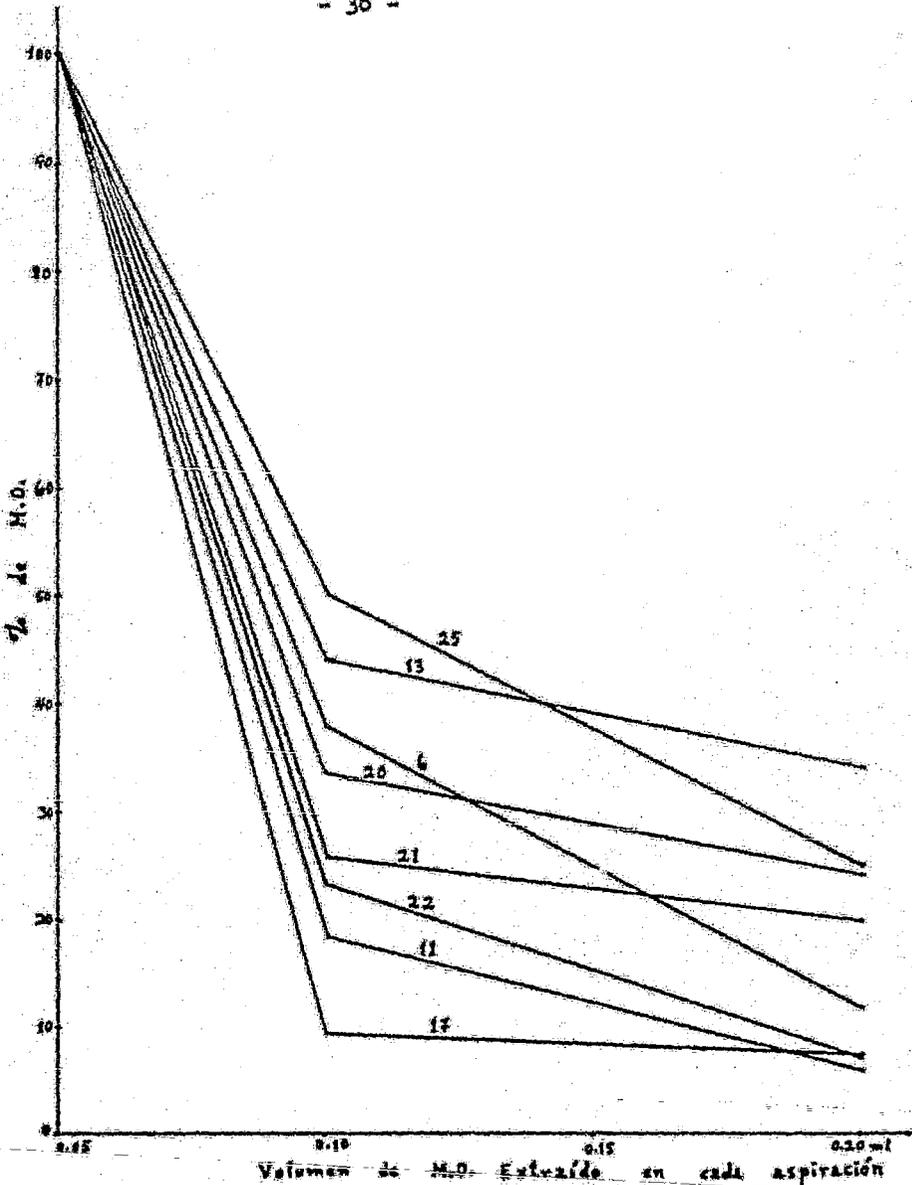
TABLA 3

% de M.O. en 2ª y 3ª Tomas Asignándole a la 1ª el 100% de Material Medular. Ocho Estudios Considerados como Optimos.

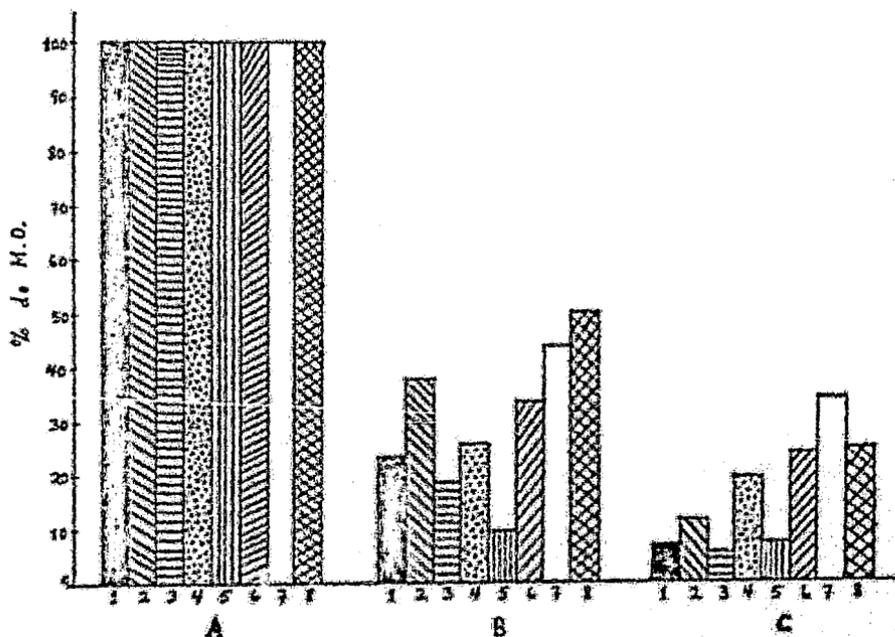
Caso #	1ª Toma:	2ª Toma: % de M.O.		3ª Toma: % de M.O.	
	% de M.O.	Por C.N.T.	Por S.R.	Por C.N.T.	Por S.R.
22	100	23.3	19.2	6.8	2.9
6	100	37.7	40.3	11.5	11.8
11	100	18.4	19.7	5.7	6.0
21	100	25.7	24.8	19.7	12.7
17	100	9.3	9.4	7.2	5.3
20	100	33.4	34.7	24.0	24.0
13	100	43.9	33.3	34.0	18.2
25	100	50.0	37.8	25.0	29.5



Gráfica 1.- Cuenta Nucleada Total/mm<sup>3</sup> Obtenida en 1ª, 2ª y 3ª Tomas de M.O.: Ocho Estudios de Material Optimo.



Gráfica 2.- % de M.O. en 2ª y 3ª Tomas en Relación a la 1ª (100%) y Tomando en Cuenta la Cantidad de Leuccitos en S.P. : Ocho Estudios de Material Optimo.



Gráfica 3.- Histogramas Representativos del Descenso del % de M.O. en 2ª y 3ª Tomas en Relación a la 1ª (100%) y Tomando en Cuenta la Cantidad de Leucocitos en S.P.: Ocho Estudios de Material Optimo.

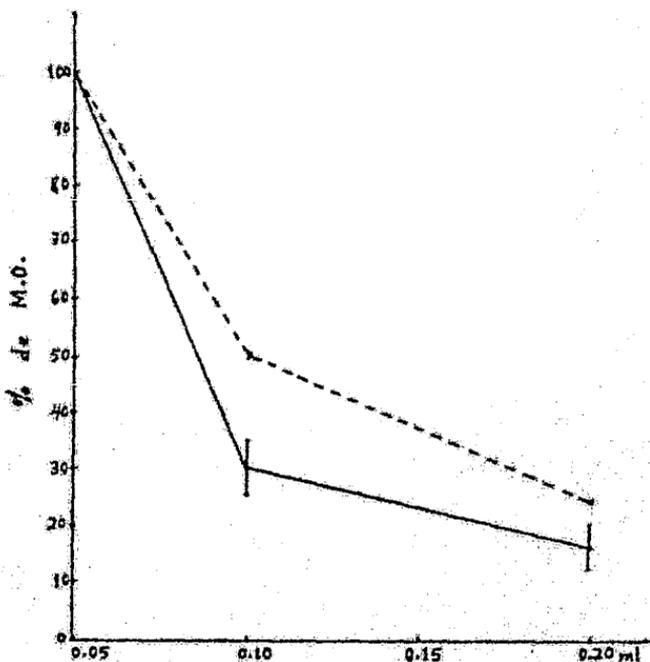
A = 1ª Toma; 0.05 ml

B = 2ª Toma; 0.10 ml

C = 3ª Toma; 0.20 ml

1 = Estudio No. 22  
 2 = " " 6  
 3 = " " 11  
 4 = " " 21

5 = Estudio No. 17  
 6 = " " 20  
 7 = " " 13  
 8 = " " 25



Volumen de M.O. extraído en cada aspiración

Gráfica 4.- Promedio Aritmético de los Porcentajes de M.O. en los Ocho Estudios con Material Optimo, con sus Respective Valores de Error Std en 2ª y 3ª Tomas.

- - - - Curva Hipotética, Correspondiente a un 50% de Dilución Entre 1ª y 2ª Tomas, y a un 75% Entre 1ª y 3ª Tomas.

A continuación, damos un ejemplo de los cálculos hechos en uno de los ocho estudios de este grupo, para obtener los valores de los % de M.O. en 2ª y 3ª tomas, calculados en las dos formas mencionadas anteriormente: por C.N.T. y por serie roja.

Cálculos para obtener el % de material medular en el caso # 11.

Por C.N.T.-

En este cálculo por C.N.T. se hace un planteamiento de mezclas, ya que el material medular se diluye con la sangre circulante, la cual tiene una cantidad determinada de leucocitos/mm<sup>3</sup>, que por ser elementos nucleados, también se encuentran incluidos en la C.N.T. calculada en la muestra recogida y que hay que tomar en cuenta, por lo cual, el planteamiento se hace como sigue:

% de M.O. en la 2ª toma o muestra.

$$(71,870 \times N) + 1,900(100 - N) = 14,800 \times 100$$

desarrollando y despejando tenemos:

$$71,870 N - 1,900 N = 1,480,000 - 190,000 \therefore N = \frac{1,290,000}{69,970} = 18.4\%$$

en donde:  $N = \%$  de material medular en la 2ª muestra,  
71,870 = C.N.T./mm<sup>3</sup> en la 1ª muestra de M.O. aspirada,  
1,900 = leucocitos/mm<sup>3</sup> en sangre,  
14,800 = C.N.T./mm<sup>3</sup> en la 2ª muestra de M.O. aspirada.

% de M.O. en la 3ª toma.

$$(71,870 \times N) + 1,900(100 - N) = 5,920 \times 100$$

$$71,870 N - 1,900 N = 592,000 - 190,000 \therefore N = \frac{402,000}{69,970} = 5.7\%$$

en donde:  $N = \%$  de material medular en la 3ª muestra,  
71,870 = C.N.T./mm<sup>3</sup> en la 1ª muestra aspirada,  
1,900 = leucocitos/mm<sup>3</sup> en sangre,  
5,920 = C.N.T./mm<sup>3</sup> en la 3ª muestra extraída.

Todas las cifras que se dan en los cálculos que anteceden, se pueden colocar en la tabla 1 (ó en la tabla 2), en donde aparecen los resultados de los cálculos hechos a lo largo de este trabajo para obtener la C.N.T./mm<sup>3</sup> de cada muestra.

Por Serie Roja.-

En este cálculo por serie roja se hace simplemente un planteamiento por una regla de tres, tomando como el 100% la cantidad por  $\text{mm}^3$  de elementos inmaduros de la serie roja que se encontraron en la 1ª toma y como incógnita el % a que equivaldría, la cantidad de estos mismos elementos encontrada en 2ª ó en 3ª tomas, ya que en sangre periférica no fué común el hallazgo de estos elementos. Las cifras que se utilizaron para realizar estos cálculos se tomaron de las cantidades absolutas de elementos inmaduros de la serie roja en los ocho casos de material óptimo. El planteamiento es el siguiente:

% de M.O. en la 2ª toma.

$$\begin{array}{l} 43,122 - 100 \\ 8,495.2 - x \end{array} \quad \therefore x = \frac{8,495.2 \times 100}{43,122} = 19.7\%$$

en donde:  $x$  = % de material medular en la 2ª muestra,  
43,122 = eritroblastos/ $\text{mm}^3$  en la primera muestra aspirada,  
8,495.2 = eritroblastos/ $\text{mm}^3$  en la 2ª muestra.

% de M.O. en la 3ª toma.

$$\begin{array}{l} 43,122 - 100 \\ 2,581.12 - x \end{array} \quad \therefore x = \frac{2,581.12 \times 100}{43,122} = 6.0\%$$

en donde:  $x$  = % de material medular en la 3ª muestra de M.O.,  
43,122 = eritroblastos/ $\text{mm}^3$  en la 1ª muestra extraída,  
2,581.12 = eritroblastos/ $\text{mm}^3$  en la 3ª muestra.

Las cifras correspondientes a la cantidad de eritroblastos/ $\text{mm}^3$  en la 1ª, 2ª y 3ª tomas se tomaron como ya se dijo, de las cifras absolutas, correspondientes al total de serie roja y aunque por simplificar, en los párrafos anteriores se menciona la cantidad de eritroblastos/ $\text{mm}^3$ , en la cifra que se dá, está incluida la cantidad total de elementos inmaduros de la serie roja. Las canti

les de estos elementos en cada una de las tomas de los  
 brios de este grupo, se tomaron de las tablas con las  
 s diferenciales en % y en cifras absolutas realizadas en  
 uno de los frotis hechos con las diferentes muestras en to-  
 los estudios, pero dichas tablas no se incluyen en este tra-  
 ajo por las razones mencionadas al finalizar el capítulo de Mé-  
 todos.

Por último, tenemos que la fórmula que se aplicó para obte-  
 ner el error estandar de la media del % de M.O. en 2ª y 3ª tomas,  
 en los ocho casos de material óptimo, es la fórmula de trabajo

convencional:

Error Std de la Media =  $s\bar{y}$   
 en donde:  $s\bar{y} = \frac{\sqrt{s^2\bar{y}}}{n}$   
 y como:  $s^2\bar{y} = \frac{\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}}{n(n-1)}$

entonces tenemos que:  $s\bar{y} = \sqrt{\frac{\sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}}{n(n-1)}}$   
 en donde: n = número de valores que se promedian,  
 n - 1 = Grados de libertad,  
 Y = valores que se promedian (% de M.O.),  
 $\sum Y^2$  = suma de los valores, elevados individualmente  
 al cuadrado,  
 $(\sum Y)^2$  = suma de los valores, elevada al cuadrado.

Utilizando esta fórmula se obtuvieron valores para el error  
 stá, en la 2ª toma del 4.8%, y en la 3ª del 3.7%, tal como se  
 ven en la gráfica 4.  
 Todas las cifras utilizadas para realizar las gráficas 2, 3  
 y 4, y los cálculos con la fórmula que antecede para obtener el  
 error estandar de la media, para la misma gráfica 4, se tomaron  
 de la tabla 3, en las columnas correspondientes al % de material  
 medular (M.O.) calculado por C.N.T.

Más adelante, en el capítulo de Comentarios se volverá a tratar sobre las diluciones entre las muestras extraídas, teniendo en cuenta los datos proporcionados por las gráficas y además, otros factores, principalmente el del goteo espontáneo de material medular entre tomas.

A continuación, de acuerdo al orden que se viene siguiendo, por la clasificación del material medular en grupos, se incluyen tablas y gráficas con los resultados de los estudios que integran los grupos siguientes.

Grupo 2º: Material Incompleto o Defectuoso. - Está integrado por 14 estudios que se resumen en la tabla 4, en los cuales, la cantidad aspirada en cada toma fué diversa, es decir, no en todos los casos los volúmenes extraídos fueron múltiplos exactos, y en algunos en que sí se cubría esta condición, el material era incompleto o defectuoso.

La tabla 4 está formada con los 14 estudios, aunque en la tabla y gráficas siguientes, fueron eliminados seis, porque los defectos o inconvenientes que se presentaron en ellos, invalidan o hacen menos confiables los datos obtenidos.

En ésta, al igual que en la tabla 1, los casos se colocan siguiendo un orden descendiente en sus C.N.T./mm<sup>3</sup>, es decir, de la más elevada hasta la menor. En la 1ª columna se coloca el número del estudio (en orden cronológico). En las tres columnas centrales aparecen las cifras correspondientes a las C.N.T./mm<sup>3</sup> en 1ª, 2ª y 3ª tomas, en ese orden, y además, entre paréntesis, arriba de dichas cifras, se colocan los volúmenes de M.O. aspira

da en cada muestra. La última columna a la derecha, tiene la cantidad de leucocitos/mm<sup>3</sup> encontrada en sangre periférica.

La tabla 5 se formó con las cifras del % de M.O. calculado por C.N.T. únicamente, en ocho de los 14 casos de este grupo. El planteamiento que se hace para obtener dichas cifras, ya se explicó con un ejemplo en el grupo anterior .

Con los datos proporcionados por la tabla 5, se realizaron dos gráficas, en la primera de las cuales (gráfica 5), se representan en histogramas, las cifras dadas en dicha tabla, correspondientes a los porcentajes de material medular en cada una de las tres aspiraciones hechas. Esta gráfica es similar a la gráfica 3, que se realizó con los datos del primer grupo.

En la gráfica 6 se coloca a manera de comparación, la curva promedio del porcentaje de material medular en los casos del primer grupo (dada en la gráfica 4), solamente que en el eje de las abscisas se colocan los volúmenes acumulativos del material medular extraído, y de esta manera ya se pueden obtener puntos comparables con la curva promedio del primer grupo, aunque no todos los porcentajes de material medular que aparecen en la tabla 5, se pudieron llevar a la gráfica 6, ya que algunos correspondieron a volúmenes muy grandes, que obviamente se salían de la gráfica.

En las páginas que siguen se pueden observar las tablas (4 y 5) y las gráficas (5 y 6) correspondientes a este segundo grupo y a las que ya se hizo mención en los párrafos anteriores.

TABLA 4

Cuenta Total de Elementos Nucleados en Médula y de Leucocitos en Sangre. Segundo Grupo: 14 Estudios con Material Incompleto.

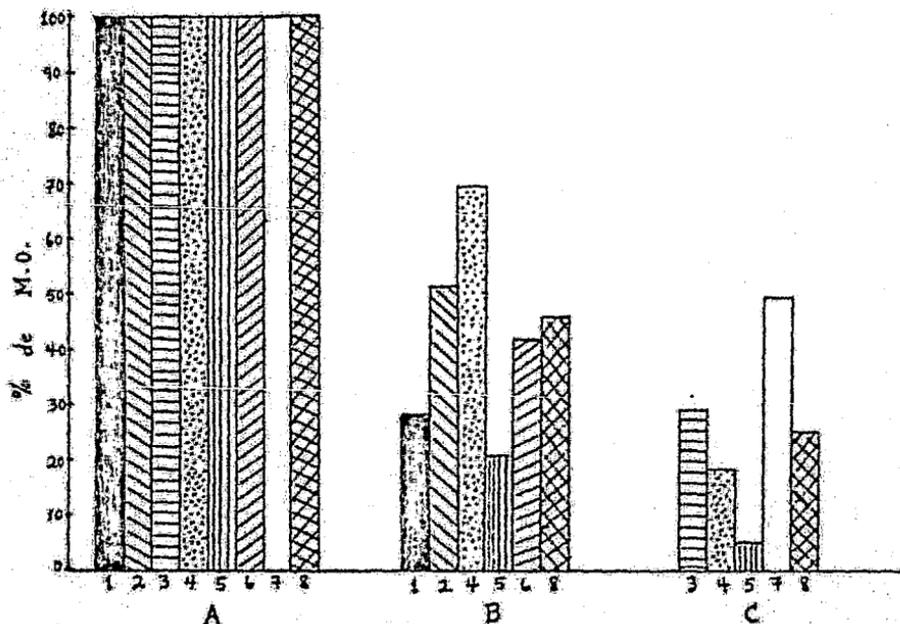
Caso #	1ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	2ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	3ª Toma M.O. C.N.T./mm <sup>3</sup>	Leucoc./mm <sup>3</sup> en S.P.
9	(0.05 ml) 374,500	(0.10 ml) 112,890	-----	10,000
* 12	(0.05 ml) 181,480	(0.10 ml) -----	(Gota de la punta) 6,530	3,100
* 23	(0.05 ml) 135,000	(0.10 ml) 24,550	(0.20 ml) 31,400	3,100
* 24	(0.05 ml) 118,600	(0.10 ml) 15,200	(0.20 ml) 16,800	3,100
5	(0.05 ml) 99,200	(0.10 ml) 51,800	-----	1,400
* 16	(0.05 ml) 95,600	(0.10 ml) -----	(Gota de la punta) 2,400	900
14	(0.05 ml) 94,500	(0.10 ml) -----	(0.20 ml) 29,900	3,600
4	(0.05 ml) 87,200	(0.10 ml) 63,000	(0.15 ml) 22,400	7,900
* 3	(0.05 ml) 71,170	(0.10 ml) 46,500	(0.50 ml) 15,600	4,300
2	(0.20 ml) 70,330	(0.50 ml) 17,930	(1.0 ml) 7,670	4,200
1	(0.30 ml) 27,130	(0.50 ml) 11,730	(1.0 ml) -----	600
15	(0.05 ml) 12,990	(0.10 ml) -----	(0.20 ml) 8,600	4,300
* 7	(0.05 ml) 8,700	(0.05 ml) 3,640	(0.05 ml) 1,260	2,100
10	(0.05 ml) 1,940	(0.20 ml) 1,000	(0.40 ml) 640	200

\* Casos que se eliminaron por material defectuoso (Ver el Apéndice II de este capítulo, en la columna de Observaciones).

TABLA 5

% de M.O. en 2ª y 3ª Tomas Fijándole a la 1ª el 100% de Material Medular. Ocho Estudios Tomados de la Tabla No. 4.

Caso #	1ª Toma: % de M.O.	2ª Toma: % de M.O.	3ª Toma: % de M.O.
9	100	28.2	-----
5	100	51.5	-----
14	100	-----	28.9
4	100	69.5	18.3
2	100	20.8	5.2
1	100	42.0	-----
15	100	-----	49.5
10	100	46.0	25.3



Gráfica 5.- Histogramas representativos del descenso del % de M.O. en 2ª y 3ª tomas, en relación a la 1ª (100%) y tomando en cuenta la cantidad de leucocitos en S.P.: Ocho estudios que aparecen en la Tabla 5.

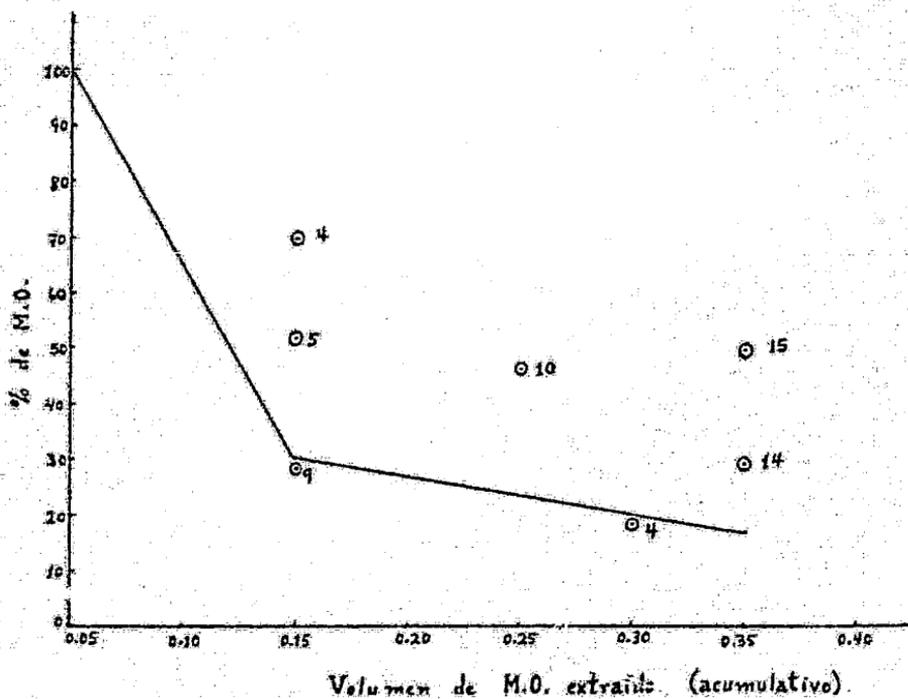
A = 1ª Toma

B = 2ª Toma

C = 3ª Toma

1 = Estudio No. 9  
 2 = " " 5  
 3 = " " 14  
 4 = " " 4

5 = Estudio No. 2  
 6 = " " 1  
 7 = " " 15  
 8 = " " 10



Gráfica 6.- Algunos puntos correspondientes al % de material medular, sacados de la Tabla 5, comparados con la curva promedio del primer grupo.

Grupo 3<sup>a</sup>: Material Obtenido de Dos Punciones Diferentes.— Por último mencionaremos este pequeño grupo, con dos casos en los que se intentó el estudio de dos punciones simultáneas en centros hematopoyéticos lo más cercanos entre sí (los correspondientes a segundo y tercer espacio intercostal), para tratar de ver si tomando en otro centro hematopoyético una cantidad mayor, existe una diferencia significativa entre las C.N.T./mm<sup>3</sup> correspondientes a 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> punción, partiendo de la suposición de que estos dos centros hematopoyéticos tienen la misma C.N.T./mm<sup>3</sup> si el volumen de material medular aspirado es el mismo y con la condición de que las aspiraciones en estos dos centros sean las primeras hechas en ese momento en que se van a comparar las cuentas. También se intentó probar el efecto que la aspiración en sí, tiene sobre la C.N.T. provocando una mayor dilución con sangre periférica para las aspiraciones sucesivas en el mismo sitio (ésto, únicamente al hacer una serie de aspiraciones como las del presente trabajo, para el estudio de la dilución).

Como ya se mencionó, en los capítulos de Métodos y Material, además de los dos casos que formaban este grupo (18 y 19), hecho con los fines expuestos en los párrafos anteriores, se incluyó también el caso # 8, ya que por dificultades para la obtención del material medular en la 1<sup>a</sup> punción, se realizó la 2<sup>a</sup>, también esternal, en el sitio correspondiente al tercer espacio intercostal (lo más cercano al primer sitio de punción, que fué el correspondiente al segundo espacio), por lo cual, el material obtenido en este caso quedó, aunque incidentalmente, dentro de lo requerido en este

tercer grupo (véase el Apéndice II de este capítulo, en la columna de Observaciones).

Con los resultados obtenidos con este tercer grupo se formó la tabla 6, en la cual, al igual que en las tablas 1, 2 y 4, los casos se colocaron en orden descendiente de C.N.T./mm<sup>3</sup>.

Con el material proporcionado por la tabla anterior, se realizaron los cálculos para obtener el % de material medular calculado por C.N.T., como ya se explicó para el primer grupo, en las muestras en las muestras obtenidas de la 2ª aspiración hecha en la primera punción, y de las aspiraciones 1ª y 2ª efectuadas en la segunda punción. Con los resultados de estos cálculos se formó la tabla 7, la cual es semejante a las tablas 3 y 5, sólo que al igual que en la tabla 5, únicamente se da el dato del % de material medular calculado por C.N.T.

Desafortunadamente, el material en este grupo es muy escaso (únicamente 3 estudios), por los motivos que se expusieron en el capítulo de Métodos, por lo cual no se puede hacer un estudio minucioso y llegar a conclusiones y lo único que podríamos hacer notar, es que en los tres casos hay diferencias significativas entre las dos primeras muestras de cada una de las dos punciones, esto es, entre tomas Ia y tomas IIa, pero también es manifiesta la incongruencia del resultado obtenido en la toma IIa del caso 19, que aunque de esperarse baja, la cifra encontrada más bien nos hace pensar que el material obtenido en la 2ª punción no fué M.O. en sí, sino más bien sangre periférica.

En la página siguiente se pueden ver las tablas 6 y 7, mencionadas anteriormente.

TABLA 6

Cuenta Total de Elementos Nucleados en Médula y de Leucocitos en Sangre. Tercer Grupo: Tres Estudios con Material Obtenido de Dos Punciones Diferentes.

Caso #	1ª Punción		2ª Punción		Leucoc./mm <sup>3</sup> en S.P.
	Toma Ia	Toma Ib	Toma IIa	Toma IIb	
19	(0.05 ml) 206,800	(0.20 ml) 75,400	(0.20 ml) 4,600	-----	2,600
18	(0.05 ml) 123,000	-----	(0.20 ml) 99,900	-----	2,900
8	(0.05 ml) 15,400	-----	(0.10 ml) 5,760	(0.20 ml) 2,410	700

TABLA 7

% de M.O. en 2ª Toma de 1ª Punción y en 1ª y 2ª Tomas de la 2ª Punción, Asignándole a la 1ª Toma de la 1ª Punción, el 100% de Material Medular. Tres Estudios con Material Obtenido de Dos Punciones Diferentes.

Caso #	1ª Punción		2ª Punción	
	Toma Ia	Toma Ib	Toma IIa	Toma IIb
19	100	35.6	1.0	-----
18	100	-----	80.8	-----
8	100	-----	34.4	11.6

Después de haber analizado los resultados de las cuentas totales de elementos nucleados (G.N.T.) de todos los casos estudiados, en las páginas siguientes se incluyen dos apéndices, que se considerarán útiles para redondear e completar los datos proporcionados en este capítulo.

Los resultados de las cuentas diferenciales (mielogramas) en % y en cifras absolutas, realizadas en los distintos frotis de cada uno de los 25 estudios, no se dan en este trabajo por las razones dadas al finalizar el capítulo de Métodos. Se hace hincapié en el hecho de que su consideración queda fuera de las limitaciones del trabajo que estamos presentando.

## APENDICE I

La tabla 9 que se dá en este apéndice se realizó con los datos que se obtuvieron al comparar en forma estadística aunque un poco simplista, los valores de C.N.T./mm<sup>3</sup> obtenidos en cada estudio, para obtener la interpretación que nos puede llevar a redondear las conclusiones a las que se llega en el presente estudio, al contar con una información más completa sobre el punto de si las diferencias que existen entre la primera cuenta y la segunda y entre segunda y tercera son significativas, es decir, si se tiene la certeza de que son distintas realmente, y no están dentro del error del método de conteo empleado. Esto es, que la diferencia sea significativa, nos indica que esa diferencia no es debida a la casualidad (o al error de la técnica de recuento, o al error personal), sino que existe una verdadera diferencia entre una y otra cuenta, la cual tiene un significado y en este caso, es el de que existe una disminución real entre primera y segunda cuentas o entre segunda y tercera cuentas, debido a que existe una dilución con sangre periférica.

La fórmula que se utilizó para darle esta interpretación a las cuentas obtenidas es la citada por Miale (11) en su Hematología y viene de la siguiente secuela de teoremas y deducciones:

(1) Uno de los teoremas de probabilidad establece que la desviación estandar de la diferencia (S.D. dif.) entre dos valores independientes es igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las desviaciones estandar individuales, de la manera siguiente:

$$\text{S.D. dif.} = \sqrt{(\text{S.D.}_1)^2 + (\text{S.D.}_2)^2}$$

en donde: S.D. = desviación standard.

En esta fórmula se ha eliminado el denominador  $n - 1$  ya que en este caso, al compararse únicamente dos valores, queda convertido a la unidad, ésto es:  $2 - 1 = 1$ .

(En donde:  $n - 1$  = grados de libertad).

(2) Según estudios realizados se ha llegado a determinar que la relación:  $\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}}$  expresa la probabilidad de que exista o se presente tal desviación o diferencia entre dos valores. Aquí, tomaremos la tabla dada a continuación (tabla 8) directamente de Miale (11) y que este autor a su vez toma de Pearl.

(3) Esto puede ser aplicado a evaluar el significado de la diferencia entre dos cuentas sucesivas de leucocitos, eritrocitos y otras, al usar la fórmula que se da enseguida:

$$\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}} = \frac{\text{Células contadas}_1 - \text{Células contadas}_2}{\sqrt{(\text{S.D.}_1)^2 + (\text{S.D.}_2)^2}}$$

(4) Entonces, dado que la S.D. de cada determinación puede ser tomada aproximadamente por:

$$\text{S.D.} = \sqrt{n}$$

donde:  $n$  es el número de células contadas (no la cuenta calculada).

(5) La substitución de  $\sqrt{n}$  por la S.D. en la fórmula (3) nos dá la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}} = \frac{\text{Céls. contadas}_1 - \text{Céls. contadas}_2}{\sqrt{\text{Céls. contadas}_1 + \text{Céls. contadas}_2}}$$

Hay que dejar aclarado que en este cálculo, únicamente el número de células contadas puede ser usado y no la cuenta ya

TABLA 8

La probabilidad de que ocurran desviaciones estadísticas dada una relación Desviación de diferentes magnitudes. \*  
S.D.

<u>Desviación</u> S.D. dif.	Existencia probable de desviación tan grande o más grande que una designada (%).	Disparidades contra la existencia de desviación tan grande o más grande que una designada.
0.67449	50.00	1.00:1
0.7	48.39	1.07:1
0.8	42.37	1.36:1
0.9	36.81	1.72:1
1.0	31.73	2.15:1
1.1	27.13	2.69:1
1.2	23.01	3.35:1
1.3	19.36	4.17:1
1.4	16.15	5.19:1
1.5	13.36	6.48:1
1.6	10.96	8.12:1
1.7	8.91	10.22:1
1.8	7.19	12.92:1
1.9	5.74	16.41:1
2.0	4.55	20.98:1
2.1	3.57	26.99:1
2.2	2.78	34.96:1
2.3	2.14	45.62:1
2.4	1.64	60.00:1
2.5	1.24	79.52:1
2.6	.932	106.3 :1
2.7	.693	143.2 :1
2.8	.511	194.7 :1
2.9	.373	267.0 :1
3.0	.270	369.4 :1

\* Pearl: Medical Biometry and Statistics, ed. 3, Philadelphia, 1940, W.B. Saunders Co. La probabilidad de que ocurra la desviación, en por ciento, expresa la probabilidad de que una mayor desviación podrá ocurrir, y de ésto son calculadas las disparidades contra la ocurrencia. Por ejemplo, si la relación Desviación es 2.0, puede esperarse que ocurra una mayor desviación única S.D. dif. mente 4.55% de las veces y las incongruencias o disparidades contra tal ocurrencia son de 20.98:1

Esta tabla está tomada exactamente de Miale (11).

calculada. Y otra observación que se desprende de esto, es que al comparar dos cuentas, es necesario comparar las células contadas en las áreas de tamaño idéntico y de la misma dilución, y si no todas fueron idénticas en un mismo caso, se hacen los cálculos pertinentes, para convertirlas todas a las mismas condiciones y así, poder utilizar la fórmula.

En los estudios que se hicieron para formar la tabla de la página anterior (tabla 8), quedó establecido que debe existir una relación Desviación de por lo menos 2.0 (y probabilidades de S.D. dif. 20:1) como el mínimo que es significativo.

En la tabla 9, la cual es motivo del presente Apéndice, se incluyen todos los casos estudiados, con su respectivo valor de Desviación de una cuenta a otra, y su interpretación al comparar con la tabla 8. En la tabla 9, por simplificar, se pone únicamente el resultado del cálculo hecho al usar la fórmula 5, pero para que esto quede explicado, a continuación se da más detalladamente, cómo se hizo este cálculo, en un ejemplo: el caso No. 13, y su comparación con la tabla 8, para poder concluir si la diferencia es, o no es significativa.

$$C.N.T._1 = 14,840 ; \text{ células contadas}_1 = 371$$

$$C.N.T._2 = 7,800 ; \text{ células contadas}_2 = 195$$

$$C.N.T._3 = 6,560 ; \text{ células contadas}_3 = 164$$

1.- Comparando las diferencias de las C.N.T.\_1 a la C.N.T.\_2

tenemos:

$$\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}} = \frac{\text{Céls. contadas}_1 - \text{Céls. contadas}_2}{\sqrt{\text{Céls. contadas}_1 + \text{Céls. contadas}_2}} = \frac{371 - 195}{\sqrt{371 + 195}}$$

$$\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}} = \frac{176}{\sqrt{566}} = \frac{176}{23.79} = 7.4$$

Comparando este valor obtenido con los que aparecen en la tabla 8, en la que el mínimo valor establecido para que la diferencia sea significativa es de 2.0, se vé que el valor obtenido de 7.4 es casi cuatro veces mayor, lo que significa que el valor de la relación  $\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}}$  obtenido en este caso, es mucho mayor, y por lo tanto la diferencia entre las C.N.T. I y C.N.T. II es altamente significativa e incluso sobrepasó los valores dados en la tabla para la relación.

2.- Comparando las diferencias de las C.N.T. II a C.N.T. III tenemos:

$$\frac{\text{Desviación}}{\text{S.D. dif.}} = \frac{195 - 164}{\sqrt{195 + 164}} = \frac{31}{\sqrt{359}} = \frac{31}{18.94} = 1.64$$

y al consultar la tabla 8 vemos que el valor de la relación en este caso, nos indica que la diferencia no es significativa, ya que el mínimo valor de la relación para que la diferencia sea significativa es de 2.0, por lo que el valor de 1.64 nos indica que entre las C.N.T. de 2ª y 3ª tomas, no hay diferencia significativa.

En las dos páginas siguientes se dá la tabla 9, con el resultado de la relación calculada entre las cuentas de cada estudio, y su interpretación al comparar el valor obtenido, con la tabla 8.

TABLA 9

Estudio de Los Cambios Significativos Entre las C.N.T./mm<sup>3</sup> de  
Cada Caso.

Caso #	CNT <sub>I</sub>	CNT <sub>II</sub>	CNT <sub>III</sub>	Desviación S.D. dif.	
				CNT <sub>I</sub> a CNT <sub>II</sub>	CNT <sub>II</sub> a CNT <sub>III</sub>
				Interpretación	Interpretación
1	27,130	11,730	----	9.58 Significativa	-----
2	70,330	17,930	7,670	21.65 Significativa	7.89 Significativa
3	71,170	46,500	15,800	6.44 Significativa	11.03 Significativa
4	87,200	63,000	22,400	4.42 Significativa	9.85 Significativa
5	99,200	51,800	----	8.62 Significativa	-----
6	120,330	46,670	15,700	18.03 Significativa	12.45 Significativa
7	6,700	3,640	1,260	4.78 Significativa	5.32 Significativa
8	15,400	5,760	2,410	10.48 Significativa	5.87 Significativa
9	374,500	112,890	----	26.52 Significativa	-----
10	1,940	1,000	640	2.7 Significativa	1.41 No Significativa
11	71,870	14,800	5,920	30.65 Significativa	9.75 Significativa
12	181,480	----	6,530	49.44 Significativa	-----
13	14,840	7,800	6,560	7.4 Significativa	1.64 No Significativa

TABLA 9 (Continuación)

Caso #	CNT <sub>I</sub>	CNT <sub>II</sub>	CNT <sub>III</sub>	Desviación S.D. dif.	
				CNT <sub>I</sub> a CNT <sub>II</sub>	CNT <sub>II</sub> a CNT <sub>III</sub>
				Interpretación	Interpretación
14	94,500	-----	29,900	25.94 Significativa	
15	12,990	-----	8,600	4.74 Significativa	
16	95,600	-----	2,400	47.07 Significativa	
17	48,600	7,880	6,920	27.07 Significativa	1.25 No significativa
18	123,000	99,900		4.89 Significativa	
19	206,800	75,400	4,600	17.5 Significativa	17.7 Significativa
20	26,100	13,120	11,280	10.35 Significativa	1.86 No significativa
21	69,500	20,850	16,880	25.62 Significativa	3.22 Significativa
22	205,000	50,400	17,160	21.65 Significativa	9.02 Significativa
23	155,000	24,550	31,400	39.09 Significativa	4.1 Significativa
24	118,600	15,200	16,800	40.0 Significativa	1.26 No significativa
25	14,100	11,500	10,200	2.3 Significativa	1.25 No significativa

## APENDICE II

En este apéndice se da la tabla 10, la cual se realizó con el total de casos estudiados. Los 25 estudios realizados se colocan en orden cronológico, ésto es, desde que se inició el trabajo, hasta que se dió por terminado.

En la 1ª columna se da el número que le correspondió a cada estudio, de acuerdo al orden mencionado en el párrafo anterior, y entre paréntesis, un poco más abajo de dicho número, las iniciales del nombre del paciente en estudio.

En la 2ª columna se coloca el número de muestras de cada estudio, ésto es, el correspondiente a 1ª, 2ª y 3ª tomas.

Después viene la columna con la cantidad en mililitros (ml) de médula ósea (M.O.) que se extrajo en cada toma.

A continuación, se tiene la columna con las cifras correspondientes a la cuenta total de elementos nucleados (C.N.T./ $\text{mm}^3$ ) calculada en cada una de las muestras de material medular (M.O.).

La siguiente es la columna correspondiente a la cantidad de leucocitos/ $\text{mm}^3$  encontrada en la sangre periférica (S.P.) de cada paciente en estudio.

La última columna de la tabla es en la que se dan las observaciones que se consideraron más esenciales para dar una idea de cómo se realizaron las distintas tomas en cada estudio. La dilución que se menciona al finalizar cada párrafo con las observaciones de esa toma, es la que se llevó a cabo en la pipeta cuentaglobulos, para hacer posteriormente el conteo de los elementos nucleados,

TABLA 10

Correlación Entre C.N.T./mm<sup>3</sup> en M.O. y Leucocitos/mm<sup>3</sup> en S.P. y Observaciones de Cada uno de los 25 Estudios Realizados.

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (M.O.)	Leuc./mm <sup>3</sup> on S.P.	Observaciones:
1 (R.L.)	I	0.3	27,130	600	No hubo dificultad al hacer la toma, ni necesidad de gran succión. No hubo coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.5	11,730		Se hizo la toma sin necesidad de ejercer gran succión, con la misma presión negativa que la 1ª. No coagulación. Dilución 1:20.
2 (R.C.)	I	0.2	70,330	4,200	No hubo coagulación y la toma se hizo normalmente. Dilución 1:20.
	II	0.5	17,930		Entre 1ª y 2ª tomas, la médula brotó de la aguja (llo rando). No hubo coagulación. Dilución 1:20.
	III	1.0	7,670		Entre 2ª y 3ª tomas, la médula siguió brotando del tra car. 3ª toma con la misma presión negativa que en 1ª y 2ª. No coagulación. Dilución 1:20.
3 (J.V.)	I	0.05	71,170	4,300	Al hacer succión, penetró M.O. hasta 0.10 ml en la je ringa; se regresó la mitad, para hacer 0.05. 1ª y 2ª muestras pueden tener la misma cuenta total. Diluc. 1:
	II	0.10	46,500		Coágulo en la jeringa. Mucha dificultad para llenar la pipeta (ya casi coagulada). Dilución 1:100.
	III	0.50	15,800		Coágulo en la jeringa. Dificultad para llenar la pi- peta (muestra ya casi coagulada). Dilución 1:50.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (M.O.)	Leuc/mm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones:
4 (J.L.O.)	I	0.05	87,200	7,900	No coagulación ni dificultad en la aspiración. Diluc. 1:20.
	II	0.10	63,000		Ninguna dificultad al aspirar ni coagulación. Diluc. 1:20.
	III	0.15	22,400		Toma normal. No coagulación. Dilución 1:20.
5 (G.V.)	I	0.05	99,200	1,400	Al sacar la jeringa, se salió casi toda la muestra. Se volvió a conectar y se aspiró lo que quedó de M.O. en el orificio del trocar. Dilución 1:20.
	II	0.10	51,800		Aspiración normal. No hubo coagulación. Diluc. 1:20.
6 (A.C.)	I	0.05	120,330	2,100	Toma normal. No hubo coagulación. Dilución 1:50.
	II	0.10	46,670		Entre 1ª y 2ª tomas brotó médula por el trocar. No hubo coagulación. Dilución 1:50.
	III	0.20	15,700		Entre 2ª y 3ª tomas, brotó también material medular por el trocar. No coagulación. Dilución 1:50.
7 (J.G.)	I	0.05	6,700	2,100	No coagulación ni dificultad en la toma. Diluc. 1:50.
	II	0.05	3,640		Coagulación parcial al tomar muestra para la cuenta, pero la dilución fue normal (1:20).
	III	0.05	1,260		Coagulación parcial al tomar para la cuenta. Dilución 1:33.3.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (M.O.)	Leuc/mm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones:
8 (R.L.)	I	0.05	15,400	700	Toma normal. No coagulación. Dilución 1:25.
	II	0.10	5,760		Dificultad al aspirar y coagulación en la jeringa. Se cambió trócar y se hizo punción en otro lugar del esternón, correspondiente al tercer espacio intercostal. De esta 2ª punción se hizo esta toma y la siguiente. No hubo coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	2,410		Toma normal (de la 2ª punción). No coagulación. Diluc. 1:20.
9 (R.N.)	I	0.05	374,500	10,000	Aspiración normal. No coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.10	112,890		En esta 2ª toma parece que la aguja se hundió un poco más en el esternón. No coagulación. Dilución 1:33-3.
10 (G.V.)	I	0.05	1,940	200	Toma sin dificultad. No coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.20	1,000		Aspiración normal. No hubo coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.40	640		Toma normal. No coagulación. Dilución 1:20.
11 (B.A.)	I	0.05	71,870	1,900	No coagulación ni dificultad en la toma. Diluc. 1:20.
	II	0.10	14,800		Entre 1ª y 2ª tomas salió espontáneamente médula y goteó por la aguja. No coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	5,920		Seguía goteando por la aguja algo de médula entre 2ª y 3ª tomas. No coagulación. Dilución 1:20.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./cm <sup>3</sup> (H.O.)	Leuc./cm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones:
12 (A.G.)	I	0.05	161,420	3,100	Aspiración normal. No coagulación. Dilución 1:33.3.
	II	0.10	-----		Se coaguló rápidamente y no se pudo tomar muestra para la cuenta. Se hicieron frotis (sin coágulo).
	III		6,530		Coagulación casi total en la jeringa. De una gota que se lió de la punta del trócar, al extraerlo, se tomó para la cuenta. Dilución 1:33.3.
13 (C.Ch.)	I	0.05	14,840	2,300	No coagulación ni dificultad en la toma. Dilución 1:20.
	II	0.10	7,800		Entre 1ª y 2ª tomas brotó un poco de M.O. No coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	6,560		También entre 2ª y 3ª tomas brotó un poco de material mullar. No coagulación. Dilución 1:20.
14 (B.A.)	I	0.05	94,500	3,600	Aspiración sin dificultad. No coagulación. Diluc. 1:20.
	II	0.10	-----		Coagulación al entrar en la pipeta, con burbujas, por lo que se desechó y no se hizo cuenta, sólo frotis.
	III	0.20	29,900		No hubo coagulación. Dilución 1:20. Goteó M.O. entre 1ª y 2ª y entre 2ª y 3ª tomas (llorando).
15 (R.N.)	I	0.05	12,990	4,300	No hubo coagulación. Dilución 1:33.3.
	II	0.10	-----		Mucha dificultad para tomar la muestra para el recuento, ya que se salió de la jeringa. Solo se hizo frotis.
	III	0.20	8,600		Toma normal. No coagulación. Dilución 1:33.3.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (H.O.)	Leuc/mm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones:
16 (J.V.)	I	0.05	95,600	900	Congulación rápida de la muestra. Cuando se tomó para la dilución, ya se estaba coagulando. Dilución 1:20.
	II	0.10	-----		Congulación en la jeringa, por lo cual ya no se pudo tomar muestra para el recuento. Solamente frotis.
	III	----	2,400		De una gota que quedó en la punta del trócar al extraer lo del esternón se tomó para la cuenta. Dilución 1:100.
17 (R.C.)	I	0.05	48,600	3,700	No se presentó dificultad ni coagulación. Diluc. 1:20.
	II	0.10	7,880		Aspiración sin dificultad. No coagulación. Diluc. 1:20.
	III	0.20	6,920		Toma normal. No coagulación. Dilución 1:20.
18 (S.A.)	I	0.05	123,000	2,900	La toma se hizo de la punción en el lugar acostumbrado del esternón sin dificultad ni coagulación. Diluc. 1:20.
	II	0.20	99,900		Para hacer esta toma se puncionó con otro trócar en el centro hematopoyético inmediato inferior. No hubo dificultad en la toma ni coagulación. Dilución 1:20.
19 (A.C.)	I	0.05	206,800	2,600	1ª toma de la 1ª punción (Ia). Se hizo en el lugar habitual. No hubo dificultad en la toma, pero al llenar la pipeta empezaba la coagulación. Dilución 1:33.3.
	II	0.20	75,400		2ª toma de la 1ª punción (Ib). Entre 1ª y 2ª tomas escurió una gota de H.O. No coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	4,600		Única toma de la 2ª punción (IIa), en el centro hematopoyético inmediato inferior. No coagulación. Diluc. 1:20.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (M.O.)	Leuc/mm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones
20 (L.A.A)	I	0.05	26,100	6,600	Toma normal. No coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.10	13,120		Aspiración sin dificultad. No coagulación. Diluc. 1:20.
	III	0.20	11,280		Entre 2ª y 3ª tomas, goteó un poco de material medular. No hubo coagulación. Dilución 1:20.
21 (R.N.)	I	0.05	69,500	4,000	Al desconectar la jeringa se regresó la toma. De lo que quedó se alcanzó a tomar para la cuenta. No coagulación. Dilución 1:25.
	II	0.10	20,850		Entre 1ª y 2ª tomas, escurrieron del trocar dos o tres gotas de M.O. No coagulación. Dilución 1:25.
	III	0.20	16,880		Aspiración normal. No coagulación. Dilución 1:20.
22 (A.G.)	I	0.05	205,000	3,400	Toma sin dificultad. No hubo coagulación. Diluc. 1:20.
	II	0.10	50,400		Entre 1ª y 2ª tomas, salió una gota de M.O. No coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	17,160		Entre 2ª y 3ª tomas, salió del trocar una gota de médula. No hubo coagulación. Dilución 1:20.

TABLA 10 (Continuación)

Caso #	Muestra	Cantidad (ml)	C.N.T./mm <sup>3</sup> (M.O.)	Leuc/mm <sup>3</sup> en S.P.	Observaciones:
23 (R.C.)	I	0.05	135,000	3,100	La presión intramedular (llorando) empujó el émbolo y entró M.O. hasta 0.2 ml en la jeringa; se regresó hasta tener 0.05 ml. No coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.10	24,550		Entre 1ª y 2ª tomas goteó algo de M.O. No hubo coagulación. Dilución 1:20 (Se esperaba que las C.N.T. 1ª y 2ª fueran semejantes, por la mezcla que hubo).
	III	0.20	31,400		Entre 2ª y 3ª tomas, también goteó M.O. No coagulación. Dilución 1:20 (Las C.N.T. 2ª y 3ª son más semejantes, probablemente debido a que hubo más tiempo para mezclarse).
24 (B.A.)	I	0.05	118,600	3,100	No coagulación, pero al desconectar la jeringa, se salió la mayor parte; de lo que quedó en ella se pudo tomar para la cuenta. Dilución 1:33.3.
	II	0.10	15,200		Entre 1ª y 2ª tomas goteó algo de M.O. La presión empujó el émbolo (llorando) y entró M.O. hasta 0.3 ml; se regresó hasta dejar 0.10 ml. No coagulación. Diluc. 1:20.
	III	0.20	16,800		Entre 2ª y 3ª tomas goteó M.O. No coagulación (Se espera que las C.N.T. 2ª y 3ª sea semejantes por la mezcla que hubo). Dilución 1:20.
25 (A.G.P.)	I	0.05	14,100	8,900	Toma sin dificultad. No coagulación. Dilución 1:20.
	II	0.10	11,500		Aspiración normal. No coagulación. Dilución 1:20.
	III	0.20	10,200		No hubo dificultad en la toma ni coagulación. La dilución para el recuento fue la establecida (1:20).

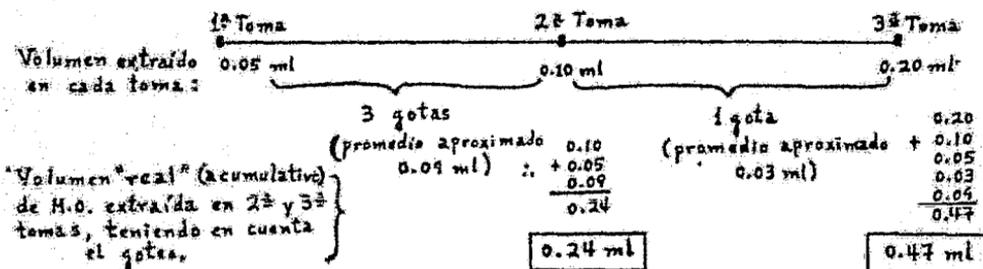
## V.- DISCUSION DE RESULTADOS

Según se explicó en el capítulo de Material y también en el de Resultados, se hizo una división del material medular obtenido de una punción esternal por aspiración, con el fin de neutralizar los errores o fallas que pudieran estar bajo control y proceder al estudio de dicho material.

Como se vió en los capítulos citados en el párrafo anterior, existen defectos inherentes al método empleado, y se vió que en la práctica existe una imposibilidad de controlar, detener o evitar siempre en su totalidad, estos factores de error.

Como ya se vió también, los dos defectos se refieren al volumen de M.O. que se pierde entre tomas, lo cual podría dar un error mucho mayor si no se toma en cuenta al realizar un estudio de la dilución que sufre la muestra al extraer volúmenes mayores en relación al primer volumen extraído.

Para tener una noción aproximada de esta dilución, en los casos en los que hubo pérdida por goteo, podemos ver a continuación, un esquema ilustrativo sobre la magnitud de ella, tomando como promedio, una pérdida de tres gotas entre 1ª y 2ª tomas y una gota entre 2ª y 3ª, y tomando como volumen probable de cada gota, el de 0.03 ml, que fué medido en forma aproximada, utilizando sangre heparinizada y midiendo con una pipeta serológica, el volumen que da ~~be una gota~~ de una magnitud aproximadamente igual a aquellas que se habían perdido en el goteo; así, realizando varias mediciones, se llegó al volumen promedio de 0.03 ml, para una gota, en las condiciones descritas.



Así es, que según vemos en el esquema, el volumen acumulativo real, en los estudios con material óptimo en los que hubo goteo, viene a ser de 0.05 ml en la 1ª toma a 0.47 ml en la 3ª toma, en lugar de 0.05 a 0.35 ml como era de esperarse en condiciones ideales, es decir, que la relación en condiciones ideales llegaría a ser de 1:7 en la tercera toma, pero en condiciones reales de trabajo fué de 1:9.4 aunque este último factor es sólo aproximado o hipotético, ya que no se tiene la certeza de que siempre haya habido una pérdida de tres gotas entre 1ª y 2ª tomas y de una gota entre 2ª y 3ª tomas. Además, tampoco se tiene la seguridad de que todas las gotas perdidas entre aspiraciones o tomas, hayan sido siempre de la misma magnitud o volumen. El problema en sí, parte de la imposibilidad de haber realizado la medición del volumen de cada gota en el momento en que se estaba teniendo el goteo y por lo cual, la medición fué hecha en forma aproximada o un tanto hipotética, como ya se explicó anteriormente.

El estudio de las gráficas presentadas en el capítulo anterior, nos inclina a pensar que la dilución que sufre el material medular con S.P., es mayor de 1ª a 2ª tomas, ya que a medida que aumenta la cantidad aspirada (de 2ª a 3ª tomas), la dilución no es tan marcada, en la mayoría de los casos estudiados.

Además, haciendo un estudio somero de la tabla 9, que aparece en el Apéndice I del capítulo de Resultados (Estudio de los cambios significativos entre las C.N.T./mm<sup>3</sup> de cada caso), tenemos algunas observaciones:

1.- En los ocho casos de material óptimo, el valor de la Desviación/S.D. dif. de 1ª a 2ª tomas indicó una diferencia significativa en sus respectivas C.N.T./mm<sup>3</sup>. Aún más, en los 25 estudios realizados en el presente trabajo, las diferencias entre 1ª y 2ª tomas, fueron siempre significativas, lo cual quiere decir que entre las cuentas totales de elementos nucleados, correspondientes a 1ª y 2ª tomas hubo un descenso que resultó significativo en el 100% de los estudios.

2.- El valor de la relación Desviación/S.D. dif. entre 2ª y 3ª tomas resultó significativo solamente en cuatro de los ocho estudios de material óptimo, ésto es, un 50% de los casos de este grupo.

De los puntos analizados anteriormente, salta a la vista que mientras el descenso es muy notable entre 1ª y 2ª tomas (significativo en un 100% de los casos), ya no lo es tanto entre 2ª y 3ª tomas (50%).

Por el estudio de las tablas, como la citada anteriormente, y por la observación de las gráficas y demás material proporcionado en el capítulo de Resultados, parece quedar claro un punto de suma importancia: ya cuando se extraen 0.15 - 0.24 ml de M.O., que es la cantidad aproximada y acumulativa que se ha extraído en la 2ª toma en nuestro estudio (véase el esquema de la página anterior), el material modular ha sufrido la máxima dilución. Por lo tanto,

en los trabajos actuales, en los que se recomienda extraer una cantidad no mayor de 0.2 ml, asumiendo en ellos que esta cantidad no está diluida o lo está en una mínima proporción, según lo calculado en nuestro método de trabajo, ya están partiendo de un error considerable. En este trabajo, se vé que es precisamente de 1ª a 2ª tomas, es decir, al llegar al volumen de M.O. que se extrae en la 2ª toma en nuestro trabajo (0.24 ml como máximo), cuando la dilución ha sido mayor del 50%.

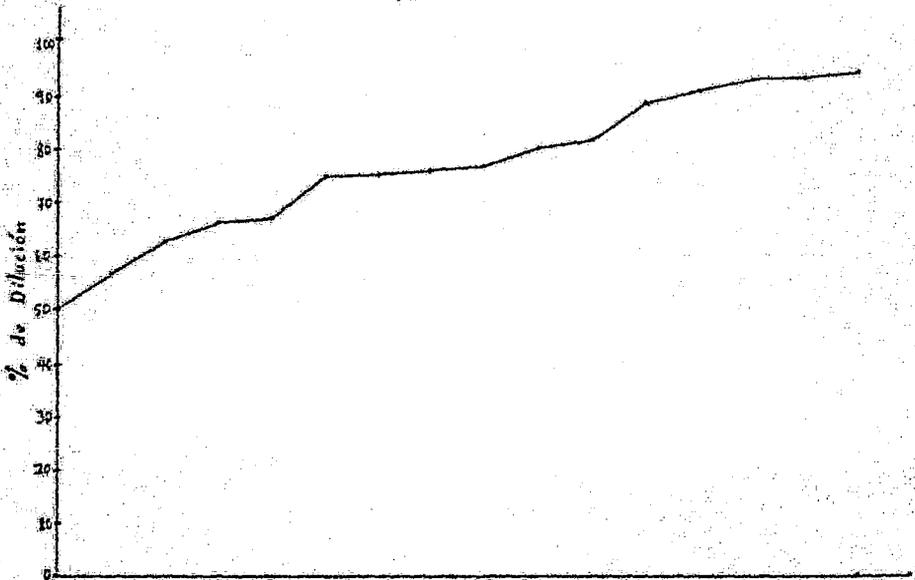
Cabría también pensar, si el goteo tuvo que ver con el descenso tan grande entre 1ª y 2ª tomas, pero teniendo en cuenta los estudios 17 y 25, ambos de material óptimo y en los que no hubo goteo entre tomas, se vé que en uno de ellos, el 17, la dilución entre estas tomas fué todavía mayor. Aunque también se podría hacer notar que en el caso 25, la dilución es exactamente como la esperada: 50% en la 2ª toma y 75% en la 3ª. En todo caso, como no se cuenta con más material dentro de este grupo óptimo, en que no se haya presentado este inconveniente, no se podría llegar a predecir con alguna exactitud, la magnitud del descenso, ya que son muchos los factores que influyen en la dilución del material medular con sangre periférica, como más adelante comentaremos.

Observando las gráficas del capítulo anterior, se vé que las curvas de cada caso toman una tendencia asintótica, sin llegar a 0% de células medulares, que significaría una dilución infinita. Esto recuerda precisamente, la tendencia de una curva de vida media o del tiempo de desintegración de un material radioactivo. En este caso especial que se estudia (de la dilución que sufre el material medular con S.P.), se puede decir, que si se pudiera seguir

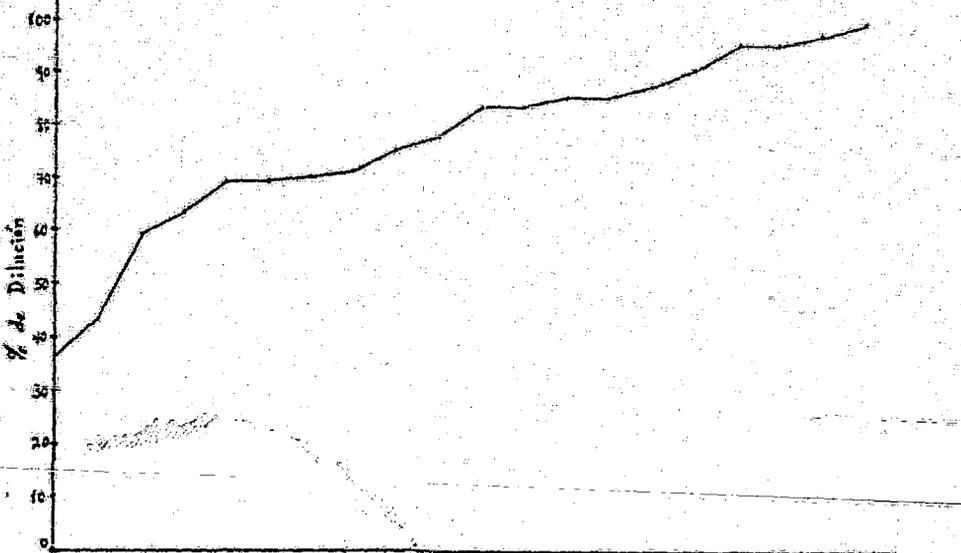
aspirando indefinidamente, a lo más que se podría llegar es a tener una C.N.T. igual a la cuenta de leucocitos/mm<sup>3</sup> obtenida en sangre periférica, al llegar a agotarse el centro sujeto a la aspiración, de elementos propios de médula. Es decir, no se podría predecir con exactitud, si en algún momento la curva llegaría a la dilución infinita, o si continuaría como una asíntota, paralela al eje de las abscisas, porque siempre llegaría a haber algún elemento medular, que siguiera mezclándose con S.P.

En la página siguiente se puede ver la gráfica 7, que se obtuvo al tomar los porcentajes de dilución correspondientes al grupo de material óptimo, dados desde el menor hasta el mayor. En ella parece quedar clara esta tendencia asíntótica de que se habla en el párrafo anterior. Los puntos corresponden al porcentaje de dilución, el cual se obtuvo restando del 100%, el porcentaje de material medular, calculado por C.N.T. (dado en la tabla 3 del capítulo anterior), es decir, la diferencia a 100 es el porcentaje de dilución de ese material medular. La tendencia asíntótica que tomaría una curva al graficar los porcentajes de dilución en esta forma, parece también comprobarse al realizarla tomando los datos de dilución que proporcionan Berlin y col. en su trabajo (2). Así se obtuvo la gráfica 8, que se presenta a vía de comparación con la 7, la cual se realizó con los datos obtenidos en nuestro trabajo.

Con el objeto de que quede más claro el punto anterior, en la página siguiente a las gráficas se da la tabla con los datos del % de dilución, obtenidos de la tabla 3 y ordenados de menor a mayor dilución, los cuales sirvieron para realizar la gráfica 7.



Gráficas No. 7.- Porcentajes de Dilución de Menor a Mayor: Cmc Casos de Material Óptimo Tomados de la Tabla II.



Gráfica No. 8.- Total de Casos Presentados en el Trabajo de Berlín y col. (2) en Orden de Menor a Mayor Dilución.

TABLA 11

‰ de Dilución en 2ª y 3ª Tomas Obtenido de la Tabla 3.-  
Ocho Estudios de Material Optimo.

Caso #	Toma de M.O.	‰ de Dilución en Orden Creciente
25	2ª	50.0
13	2ª	56.1
6	2ª	62.3
13	3ª	66.0
20	2ª	66.6
21	2ª	74.3
25	3ª	75.0
20	3ª	76.0
22	2ª	76.7
21	3ª	80.3
11	2ª	81.6
6	3ª	88.5
17	2ª	90.7
17	3ª	92.8
22	3ª	93.2
11	3ª	94.3

Por todo lo comentado anteriormente y también por experiencias, observaciones y deducciones personales, pensamos que, enumerados en orden de importancia, o de su mayor influencia en la dilución del material medular, los factores que intervienen en este fenómeno quizá pudieran ser los siguientes:

1.- Volumen real de médula "extraído".— Este punto está relacionado con los dos defectos del método seguido, citados en el capítulo correspondiente y ya se discutió con más detalle en los párrafos iniciales de este capítulo. Además, por todo el material proporcionado en este trabajo, y por otros trabajos que también la citan, está ampliamente respaldada la suposición de que a mayor volumen de M.O. extraído de la cavidad medular, mayor es la dilución con sangre periférica que éste sufre.

2.- "Densidad" de población celular en médula.— Este factor se relaciona directamente con la cantidad de células nucleadas que haya en médula, es decir, con el estado de proliferación. Si existe hipoplasia habrá pocos elementos blancos y los sinusoides estarían llenos de eritrocitos que, independientemente del volumen de "médula" obtenido, serían extraídos aunque aquel fuera de 0.05 ml; en cambio, si se trata de una médula hiperplásica, incluso se presenta dificultad para poder aspirar la cantidad adecuada y la resistencia es en ocasiones tal, en nuestra experiencia (fuera de estudio), que solamente se llega a sacar una gota y al observarla al microscopio, se ve que el material que se extrajo, casi está formado exclusivamente por elementos nucleados de serie blanca.

3.- Tamaño del centro hematopoyético accesible a la succión.— Esto se refiere a la dimensión y capacidad en elementos que estén ocupando ese reservorio, en cuyo centro en principio, se efectuó

la punción, lo cual implica que, aunado al punto 1, dicho reservorio se "agota" al succionar más, ya que es menor aún el volumen de tejido medular sujeto al vacío de la succión, que el centro hematopoyético real.

4.- "Cohesión" de las células jóvenes en médula.- En este punto se tienen que mencionar los términos de adherencia, acúmulos o sincicios, partículas, ya que están relacionados con las fuerzas de cohesión que se presentan especialmente en las células muy jóvenes o inmaduras, no solo entre ellas mismas, sino también entre ellas y las paredes sinusoidales.

5.- Tamaño de las células jóvenes.- El tamaño mayor de las células jóvenes influya de alguna manera en el grado de dilución, ya que entre mayor sea el tamaño del elemento nucleado, por la mayor adherencia en las paredes de los sinusoides (ya mencionada en el punto anterior), mayor es la dificultad que presenta para ser extraído, requiriendo mayor succión, y por lo mismo, mayor extracción de eritrocitos que de dichos elementos (megacariocitos, blastos, promielocitos y posiblemente mielocitos).

6.- Calibre de la aguja.- Entre mayor sea el diámetro de la aguja empleada, mayor vá a ser el trauma provocado y mayor será la ruptura de capilares sanguíneos, provocando ésto una mayor dilución por la hemorragia mayor que se produciría al introducir la aguja.

7.- Viscosidad sanguínea.- Esta puede influir en la dilución del material medular, ya que puede esperarse que entre mayor sea la cantidad de elementos de la serie roja o blanca que circulen en la sangre periférica, menor sería el grado de dilución del mismo,

es decir, estaría en función del grado de anemia y de leucocitosis.

8.- Intensidad y rapidez de succión. - Entre mayor sea la presión negativa que se ejerce al efectuar la succión, mayor será el vacío provocado en esa cavidad cerrada, y mayor será la tendencia del material extraído, a diluirse con sangre, por lo demás, si el niño llora intensamente, el esfuerzo facilita la salida de "material medular" de la aguja, como fué de hecho observado.

Después de haber mencionado los factores que en nuestra opinión, llegan a influir en mayor o menor grado (la magnitud de esta influencia podría ser conocida o determinada estudiando en particular cada factor; en nuestro trabajo solamente se estudió con más detalle la influencia del primer factor mencionado, esto es, el volumen de material medular extraído) en la dilución, pasamos a dar nuestras conclusiones al estudio presentado, no sin antes apuntar, que en ningún momento en este trabajo, se trataron de relacionar los datos obtenidos, con el diagnóstico de cada enfermo en estudio, ya que éste sería un punto a tratar por otros especialistas y no entra en la naturaleza de nuestro estudio.

## VI.- CONCLUSIONES

Después de mencionar brevemente en la introducción de este trabajo, la evolución que ha seguido y el estado que guarda actualmente el estudio de la médula ósea (M.O.), se realiza el planteamiento de un método para obtener una cantidad lo más pequeña posible (lo indispensable para realizar una cuenta y dos frotis), y tomando este material medular así obtenido, como punto de partida, obtener en forma empírica el dato aproximado de su dilución con sangre periférica, cuando ya se han extraído cantidades determinadas de él.

De tal manera, podemos resumir en los siguientes puntos, nuestras conclusiones al presente trabajo.

1.- Tomando el material obtenido en la primera aspiración como constituido 100% de M.O., la dilución encontrada siguiendo nuestro método de trabajo, cuando se han extraído 0.15 ml de material medular (M.O.) es del 69.8%, y del 83.3% cuando se han extraído 0.35 ml. .

2.- Al obtener las conclusiones anteriores se reconoce la existencia de factores de error por el método empleado, al presentarse en él, los inconvenientes de:

- a).- Escurrimiento o goteo espontáneo de material medular entre las aspiraciones sucesivas.
- b).- Desplazamiento del material medular que llena la luz y en ocasiones la embocadura del trócar, al conectar otra aguja.

3.- La cantidad de material medular extraído de una punción, debe ser únicamente la necesaria para realizar una cuenta total de elementos nucleados (C.N.T.) y dos frotis (0.05 ml como máximo), pues encontramos que cuando se extrae la cantidad recomendada actualmente, la dilución calculada con nuestro método de trabajo, ya es aproximadamente del 70%.

4.- Creemos que el dato de la C.N.T./mm<sup>3</sup>, no se debe omitir en el estudio de estos pacientes e incluso es indispensable conocerlo para su tratamiento posterior.

## VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Bennike, T., H. Gormsen and B. Møller: Comparative studies of bone marrow punctures of the sternum, the iliac crest and the spinous process. Acta Med. Scandinav., 155: 377-95, 1956.
- 2.- Berlin, N.I., T. G. Hennessy and J. Gartland: Sternal marrow puncture: The dilution with peripheral blood as determined by  $P^{32}$  labeled red blood cells. J. Lab. & Clin. Med., 36: 23-8, 1950.
- 3.- Berman, L.: Technics used in the study of aspirated sternal marrow. Amer. J. Clin. Path., 17: 631-6, 1947.
- 4.- Berman, L. and A. R. Axelrod: Aspiration of sternal bone marrow. Technic for obtaining volumetric readings, smears, imprints and histopathologic sections. Amer. J. Clin. Path., 17: 61-6, 1947.
- 5.- Berman, L. and A. R. Axelrod: Evaluation of volumetric data obtained by centrifugation of aspirated sternal marrow of adults. II. Estimation of cellularity of sternal marrow. Amer. J. Clin. Path., 17: 557-60, 1947.
- 6.- Berman, L.: A review of methods for aspiration and biopsy of bone marrow. Amer. J. Clin. Path., 23: 385-401, 1953.
- 7.- Bierman, H. R. and K. H. Kelly: Multiple marrow aspiration in man from the posterior ilium. Blood, 11: 370-4, 1956.

- 8.- Fadem, R. S. and I. Berlin: Comparisons between bone marrow differentials prepared from particles and random samples of aspirate and determinations of the dilution of aspirate with peripheral blood utilizing radioactive phosphorus ( $P^{32}$ ). *Blood*, 6: 160-74, 1951.
- 9.- Fadem, R. S. and R. Yalow: Uniformity of cell counts in smears of bone marrow particles. *Amer. J. Clin. Path.*, 21: 541-5, 1951.
- 10.- Leitner, S. J., G. J. C. Britton and E. Neumark: Bone marrow Biopsy. Hematology in the Light of Sternal Puncture. Grune & Stratton Inc. New York (7, 8 pp.), 1949.
- 11.- Miale, J. B.: Laboratory Medicine - Hematology. The C. V. Mosby Co. (166-74 pp.), 1962.
- 12.- Pizzolato, P. and J. Stasney: Quantitative cytologic study of multiple sternal marrow samples taken simultaneously. *J. Lab. & Clin. Med.*, 32: 741-8, 1947.
- 13.- Reddy, D. G.: A new needle for obtaining undiluted bone marrow. *Amer. J. Clin. Path.*, 22: 1137-41, 1952.
- 14.- Reich, G. and E.M. Kolb: A quantitative study of the variations in multiple sternal marrow samples taken simultaneously. *Am. J. Med. Sc.*, 204: 496-504, 1942.
- 15.- Schleicher, E. H.: Isolation of particles from aspirated sternal marrow for biopsy. *Amer. J. Clin. Path.*, 17: 909-12, 1947.

- 16.- Sturgis, C. C.: Hematology. Charles C. Thomas Publisher -  
(746-52 pp.), 1948.
- 17.- Vélez, O. F.: Apuntes de Análisis Químico Clínicos. Segun-  
Edición. 1963.