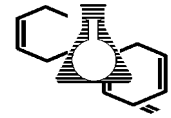




Universidad Autónoma de Chiapas  
Facultad de Ciencias Químicas  
Campus IV



**APUNTES IMPRESOS**

**UNIDAD VI**

**CITOMETRIA HEMÁTICA**

TITULAR DEL CURSO :

**M.C. CONSUELO CHANG RUEDA**

**CICLO ENERO – DICIEMBRE 2015**

**INTRODUCCION:**

Aunque a veces la presencia de anemia se puede sospechar por interrogatorio y exploración física, la biometría hemática de rutina es una medición mucho más definitiva del estado de eritrón. Aún en caso de sospecharse la anemia, es esencial la evaluación completa de laboratorio para confirmar el diagnóstico, determinar su gravedad y definir su naturaleza.

El laboratorio de hematología ofrece procedimientos de rutina o estándares adecuados para el diagnóstico de anemia. Los más importantes son la biometría hemática completa, morfología del frotis sanguíneo, índice de producción de reticulocitos y evaluación del aporte de hierro. Por lo general, los dos primeros son de rutina, mientras que los últimos se ordenan sólo si se ha demostrado la anemia.

En esta unidad el alumno tendrá las herramientas necesarias para poder determinar si el paciente presenta un cuadro anémico.

**ACTIVIDADES DE ESTA UNIDAD.**

Al finalizar esta unidad:

a). Realizar trabajo de campo mediante el análisis de 10 alumnos que le den su consentimiento de participar en su trabajo por equipo. A cada uno de los participantes realizar la dosificación de Hemoglobina (Hb), Contero de glóbulos rojos (GR) . Posteriormente calcular los índices hematológicos necesarios para determinar anemia y clasificar la anemia morfológica.

b).- Al finalizar esta unidad dibujar las alteraciones en la forma de los eritrocitos de acuerdo al texto.

**\* Hemoglobina:**

La hemoglobina es la mejor medición de la capacidad para transportar oxígeno de la sangre desde el punto de vista fisiológico.

La hemoglobina de toda la sangre se mide directamente por densidad óptica de la oxihemoglobina cuando se emplea equipo automático moderno. A falta de contador, el valor de hemoglobina se determina diluyendo un volumen medido de sangre venosa mezclada con ferrocianuro de potasio y solución de KCN para formar cianmetahemoglobina. La densidad óptica de este pigmento es medida a 540 mμ y comparada con una normal conocida.

Sólo hay dos métodos aceptables para la hemoglobinometría clínica:

- La medición espectrofotométrica como oxihemoglobina, y
- La medición espectrofotométrica como cianmetahemoglobina

Con el método de la oxihemoglobina se mide la hemoglobina capaz de ser convertida en este producto; no sirve para precisar la carboxihemoglobina ni otros compuestos hemoglobínicos anómalos. Con el método de cianmetahemoglobina, en cambio se mide toda la hemoglobina y los derivados hemoglobínicos, con la posible excepción de la sulfohemoglobina.

Si no se miden estos compuestos se generan valores de hemoglobina más bajos, se puede exagerar el grado de anemia y proporcionar valores bajos falsos de HMC y CHCM. El método de la cianmetahemoglobina mide la hemoglobina total, ya sea activa o pasiva en el transporte de oxígeno, y aporta datos más fiables para el cálculo de HMC y CHCM.

FUNDAMENTO: El ferrocianuro de potasio convierte el hierro ferroso de la hemoglobina en hierro férrico, formándose de esta manera la metahemoglobina, la cual al combinarse con cianuro de potasio se transforma en cianmetahemoglobina; el compuesto formado es bastante estable y fotolorimétricamente puede ser medida su concentración, cuando se le compara con una curva estándar previamente elaborada.

**\* Hematocrito:**

Este término (hemato: sangre, krités: separador) se define como un instrumento que permite determinar las cantidades respectivas de plasma y corpúsculos de la sangre. Cuando el término se aplica en este sentido, la determinación correcta sería el “volumen de masa eritrocítica” o, más exactamente, el “volumen de masa eritrocítica por decilitro de sangre”.

Para determinar el hematocrito, se acelera el proceso de sedimentación espontánea centrifugando una muestra de sangre con anticoagulante. Después de la centrifugación, los hematíes quedan aglomerados en el fondo del tubo y sobre ellos aparece una capa de leucocitos y plaquetas ( la capa leucoplaquetaria), y sobre éste, plasma relativamente libre de células.

**FUNDAMENTO:** Si se toma sangre con anticoagulante y se coloca en tubo de diámetro uniforme, de fondo plano y graduado de 0 - 10 y se somete a una velocidad de centrifugación determinada, durante un tiempo constante, la parte sólida se va al fondo y constituye el paquete de glóbulos rojos, que medido en relación al volumen total de sangre, es el volumen porcentual o hematocrito.

**\* Microhematocrito:**

Para calcular el valor del hematocrito, en caso de contar con capilares en lugar de tubos de wintrobe, se toma sangre capilar con heparina, que una vez cargados los capilares con sangre se obturan en un extremo, ya sea con plastilina o con mechero; se centrifugan durante cinco minutos en centrífuga para micro hematocrito y con una regla se mide la altura de la columna de sangre total y la del paquete de eritrocitos, calculando por una proporción el valor del hematocrito.

**INDICES HEMATOLOGICOS  
(Índices de Wintrobe)**

**VCM:** Indica el volumen medio aproximado de un eritrocito (Volumen Celular Medio)

**HCM:** Cantidad de hemoglobina que existe en cada glóbulo rojo (Hemoglobina Celular Media).

**CHCM:** Cantidad de hemoglobina en % contenida en un glóbulo rojo medio (Concentración de Hemoglobina Celular Media).

El método de cálculo y los valores normales son:

$$\begin{aligned} \text{VCM} &= (\text{Hto} \times 10) / (\text{Cuenta de GR en millones}) = 90 \pm 8 = 92 - 98 \text{ u}^3 \\ \text{HCM} &= (\text{Hb} \times 10) / (\text{Cuenta de GR en millones}) = 30 \pm 3 \text{ pg} = 27 - 33 \\ \text{CHCM} &= (\text{Hb} \times 10 \text{ ó HCM}) / (\text{Hto} \text{ ó VCM}) = 33 \pm 2 \% = 31 - 35 \end{aligned}$$

## FORMAS ANORMALES DEL HEMATIE

Las anomalías de la morfología eritrocítica se subdividen en tres categorías: anomalías del tamaño, de la forma e inclusiones eritrocíticas.

### \* Anomalías del Tamaño:

Es natural una variación moderada del tamaño en la sangre normal; la distribución de la frecuencia del tamaño en extensiones fijadas sigue una curva normal cuyos límites son 6.2 y 8.2 u de diámetro, con un diámetro medio de 7.2 u. La **anisocitosis** se refiere a la variación, por fuera de los límites normales, de los diámetros globulares de una extensión teñida. Se valora arbitrariamente de + a ++++.

#### - *Microcitosis:*

La microcitosis suele comportar un VCM inferior a 75 fl, pero si sólo hay unos cuantos glóbulos microcíticos puede que el VCM no esté alterado. Los microcitos tienen menos de 6u de diámetro y aparecen de manera característica en las anemias ferropénicas y talasemias. En estos casos, los hematíes son también pobres en hemoglobina de modo que las células son también hipocrómicas. En algunas anemias hemolíticas se observan células microcíticas no pobres en hemoglobina.

#### - *Macrocitosis:*

Si el diámetro de los hematíes supera las 8.5 o 9 u se dice que son macrocíticos. Si sólo se advierten unos cuantos glóbulos de este tipo, el VCM estará dentro de los límites normales, pero en la mayor parte de las anemias megaloblásticas no tratadas, el VCM suele rebasar los 105 fl.

la macrocitosis es normal en el recién nacido y en el lactante. Si existe gran número de reticulocitos en la extensión de sangre periférica, se distinguen macrocitos porque los reticulocitos son mayores que los GR adultos.

Los reticulocitos se diferencian de los macrocitos maduros por su tinción policromatófila o basófila difusa.

Generalmente la macrocitosis es característica del déficit de folato o vitamina B<sub>12</sub>. El

aumento del diámetro celular se debe, en parte, al aplanamiento de las células al realizar la extensión.

Los macrocitos de la anemia perniciosa suelen ser ovoides.

**\* Anomalías de la Forma:**

Con el término genérico “poiquilocitosis” se indica la presencia de hematíes que no presentan la forma ovoide lisa normal. La poiquilocitosis se gradúa de + a +++++, como la anisocitosis, pero aquí la graduación reviste menor interés, pues lo importante es la forma que adoptan individualmente las células.

- **Discocito:** Es el hematíe normal bicóncavo y discoidal. Se trata de una estructura estable que proporciona la máxima área para el volumen de la célula y se corresponde con la forma de menor energía electrostática. No es una configuración rígida y al atravesar los finos vasos capilares, la célula adopta forma de copa, que reduce efectivamente el diámetro celular.

- **Equinocito:** Es un hematíe que presenta unos dientes o espículas en su superficie. Se ha demostrado que un hematíe expuesto a un agente lisógeno experimenta una serie de cambios predecibles en su contorno, y pasa de disco espiculado a esfera espiculada; después pierde las espiculaciones y se convierte en una esfera prelítica, para finalmente transformarse en una membrana del hematíe lisado.

- **Estomatocito:** Es un hematíe en forma de copa, con una zona elongada central pálida, semejante, con mucha imaginación a una boca. La detección de estomatocitos en las extensiones habituales es característica de la anemia hemolítica llamada estomatocitosis hereditaria. En el alcoholismo agudo, se observan, a veces estomatocitos, pero a diferencia de la anemia hemolítica hereditaria, su aparición es pasajera. Otras veces, la estomatocitosis es un signo de la enfermedad de Rh nulo.

- **Acantocito:** Este hematíe presenta espículas puntiagudas distribuidas irregularmente y de longitud y número variable en cada uno. La abetalipoproteinemia siempre va acompañada de acantocitosis, al igual que en la cirrosis etílica con anemia hemolítica, además de algunos casos de anemia hemolítica por déficit de piruvatoquinasa, hepatitis del recién nacido, tras la administración de heparina, y después de la esplenectomía.

- **Codocito o Dianocito:** Se ha demostrado que las células con aspecto de diana o sombrero mexicano en extensiones fijadas, son delgadas, forma de campana en estado húmedo y carecen de hoyuelo central: Cuando estos codocitos se extienden en un frotis, entonces adoptan el conocido aspecto de diana, oscuros en el centro y la periferia, con un anillo más claro entre ambas zonas. La presencia de codocitos es frecuente en la talasemia, enfermedades de la Hb C, anemia falciforme, enfermedad falciforme-Hb C y talasemia falciforme. Su aparición es típica del

cuadro hemático pos-esplenitomía. A veces se encuentran codocitos en la anemia ferropénica y en las hepatopatías con ictericia o sin ella.

- **Dacriocito:** Es un hematíe en forma de lagrima. Se ignora por completo la causa de esta anomalía. En los síndromes mieloproliferativos se observará como mínimo, un dacriocito en prácticamente todos los campos de inmersión. Su presencia es algo menos frecuente en la anemia perniciosa y la talasemia.

- **Drepanocito:** Los drepanocitos (hematíes falciformes), son glóbulos rojos que suelen tener Hb S, pero también aparecen en otras hemoglobinopatías. Si un hematíe contiene Hb S cambiará ostensiblemente en el momento que se reduzca la tensión de oxígeno o de pH. Se ha observado drepanocitos en frotis vaginales de mujeres con anemia falciforme. Los drepanocitos suelen formar cuerpos de mielina que son extrusiones filamentosas de la membrana celular.

- **Eliptocito:** Es una anomalía congénita de los hematíes que se transmite de forma autosómica dominante con penetrancia completa. El contorno de la célula es oval en los frotis sanguíneos. Si se observa en estado fresco aparecen elipsoidales y bicóncavas. Mediante el microscopio electrónico se ha demostrado que el eliptocito humano es una estructura bicóncava, con aspecto de pesa en un plano y de elipse en el otro en que la masa de Hb está distribuida bipolarmente. A veces, la eliptocitosis acompaña a la talasemia, anemia falciforme y enfermedad de la Hb C, pero lo más habitual es que se observen codocitos en estas afecciones. En menor grado acompaña también a otras anemias no hemolíticas. Suele coincidir la anemia eliptocítica con cirrosis, disminución del glutatión eritrocítico y déficit de glucosa-6-P.

- **Queratocito y esquizocito:** Se denominan así los hematíes que están de alguna manera fragmentados. El queratocito es un hematíe dañado, deformado debido a un corte incompleto, de modo que no pierde Hb. la fragmentación en dos o más pedazos comporta la aparición de fragmentos eritrocíticos irregulares o esquizocitos. Son los llamados hematíes contraídos irregularmente, esquistocitos, hematíes en casco, “burr cells”, “spur cells” o hematíes espiculados, términos que no deberían utilizarse. de los dos tipos de deformación, la del esquizocito es la más importante, han demostrado que un mecanismo de constitución de esquizocito consiste en el efecto constante de las fibras de fibrina sobre los hematíes circulantes.

- **Leptocito:** Es un hematíe delgado y plano, su diámetro está aumentado pero el volumen es normal. Los codocitos también son delgados, pero presentan el hoyuelo central característico, se ven leptocitos en las hepatopatías, anemia ferropénica y talasemia. En las hepatopatías y talasemia un número variable de leptocitos se transforma en codocitos.

- **Megalocito:** Es un hematíe oval grande que se observa en las anemias megaloblasticas.

- **Esferocito:** Cuando el discocito adopta configuración esferoidal se llama esferocito. Según la causa de la anomalía, el volumen de los hematíes es normal o esta disminuido, como el del microesferocito característico de la esferocitosis hereditaria. La transformación del discocito en esferocito sucede in vitro a consecuencia del almacenamiento prolongado, como ocurre en los bancos de sangre. In vivo los esferocitos son característicos de la esferocitosis congénita, anemia hemolítica autoinmune y otras anemias hemolíticas.

- **Knizocito:** Su nombre deriva de su aspecto abullonado, se observan a veces en algunas anemias hemolíticas, incluida la esferocitosis hereditaria.

**\* Inclusiones Eritrocíticas:**

Los cuerpos de **Howell-Jolly** son redondos de color violeta, de 1µm de diámetro, compuesto de material nuclear y se pueden observar varios en un solo eritrocito. Ocasionalmente se hallan partículas más finas llamadas polvo nuclear, tanto los cuerpo de HJ como el polvo se observan en la anemia y son especialmente comunes después de esplenectomía.

Los cuerpos de **Pappenheimer** son gránulos basófilos de tamaño variable que se observan algunas veces en los eritrocitos. Si el frotis se tiñe con la técnica de azul de Prusia, los gránulos dan una reacción positiva (azul) para el hierro libre y las células se denominan siderocitos. En ocasiones se observan en anemias y después de esplenectomía.

Los cuerpos de **Heinz** son glóbulos refringentes observables en eritrocitos sin teñir o después de tinción supravital con violeta de metilo. los cuerpos de Heinz se hallan solo en pacientes que sufren alguna forma de anemia hemolítica y después de esplenectomía; se forma a partir de la oxidación de Hb desnaturalizada. Las inclusiones de Hb H (Hb desnaturalizada) también se observan después de tinción vital y se halla en algunos pacientes con alfa-talasemia.

Pueden observarse pequeñas vacuolas en los eritrocitos de pacientes que han sido sometidos a esplenectomía (vacuolas pos-esplenectomía).

**\* Otras Anormalidades Eritrocitarias:**

- **Fragilidad Osmótica:** Normalmente la hemólisis comienza en solución salina al 0.5% a 20°C y es completa en s. s. a 0.3% con una fragilidad corpuscular promedio de 0.4 a 0.45%. La sangre que comienza la lisis en una concentración mayor que la normal muestra mayor fragilidad (menor resistencia a la lisis). Esta sangre contiene comúnmente microesferocitos y tal vez se haya obtenido de un paciente con esferocitosis hereditaria o anemia hemolítica autoinmune adquirida; la sangre que no ha sufrido lisis total en concentraciones de s.s. menores de 0.3% muestra



disminución de la fragilidad (mayor resistencia) y se halla donde existen leptocitos, como una anemia por deficiencia de hierro, ictericia, anemia por drepanocitos o talasemias.

- **Fragilidad Mecánica:** Los eritrocitos varían en su capacidad para soportar la lisis mecánica. la prueba de sangre y la de control se llevan a cabo por agitación con cuentas de vidrio durante una hora, normalmente hay de 2 - 5% de hemólisis; ésta aumenta en algunas formas de anemia hemolítica, en la cual se concentran esferocitos, drepanocitos o eritrocitos aglutinados.

- **Autohemólisis:** La sangre normal obtenida en recipientes estériles e incubada a 37°C durante 24 hrs muestra poca o ninguna lisis (hasta 0.5%), aumenta en algunas anemias hemolíticas.

- **Supervivencia:** La vida estándar del eritrocito normal es de 120 días y puede acortarse considerablemente en trastornos de las células por sí mismas y en padecimientos donde se alteran los mecanismos normales del cuerpo. los eritrocitos anormales que tienen acortada su supervivencia incluyen microesferocitos y drepanocitos. Los eritrocitos normales, pueden tener una vida menor debido a trastornos de SRE, en padecimientos con desarrollo de Ac contra eritrocitos, en hiperesplenismo, reticulosis y en las leucemias.

TAREA: DIBUJAR LAS ALTERACIONES EN LA FORMA DE LOS ERITROCITOS.

## BIBLIOGRAFIA:

HEMATOLOGIA Guía práctica para el diagnóstico Microscópico. Editorial Médica Panamericana . 2011 EDICIÓN 11<sup>a</sup>

HEMATOLOGIA CLINICA. Mckenzie, Shirlyn. Ed. MM. Ed. 1. 2009

HEMATOLOGIA, La SANGRE Y SUS ENFERMEDADES. Autor: Jaime Pérez , José Carlos. Ed. McGraw-Hill. Edición 2<sup>a</sup>. Año 2009

Hematología Práctica. Dacie y Lewis. Ed. Elsevier. 10<sup>a</sup> Ed.. Ed. ELSEVIER. 2007

HEMOSTASIA Y TROMBOS. SAUTOR: Otero, Ana Maria.Ed. Arena. Edición 2<sup>a</sup>. Año 2007