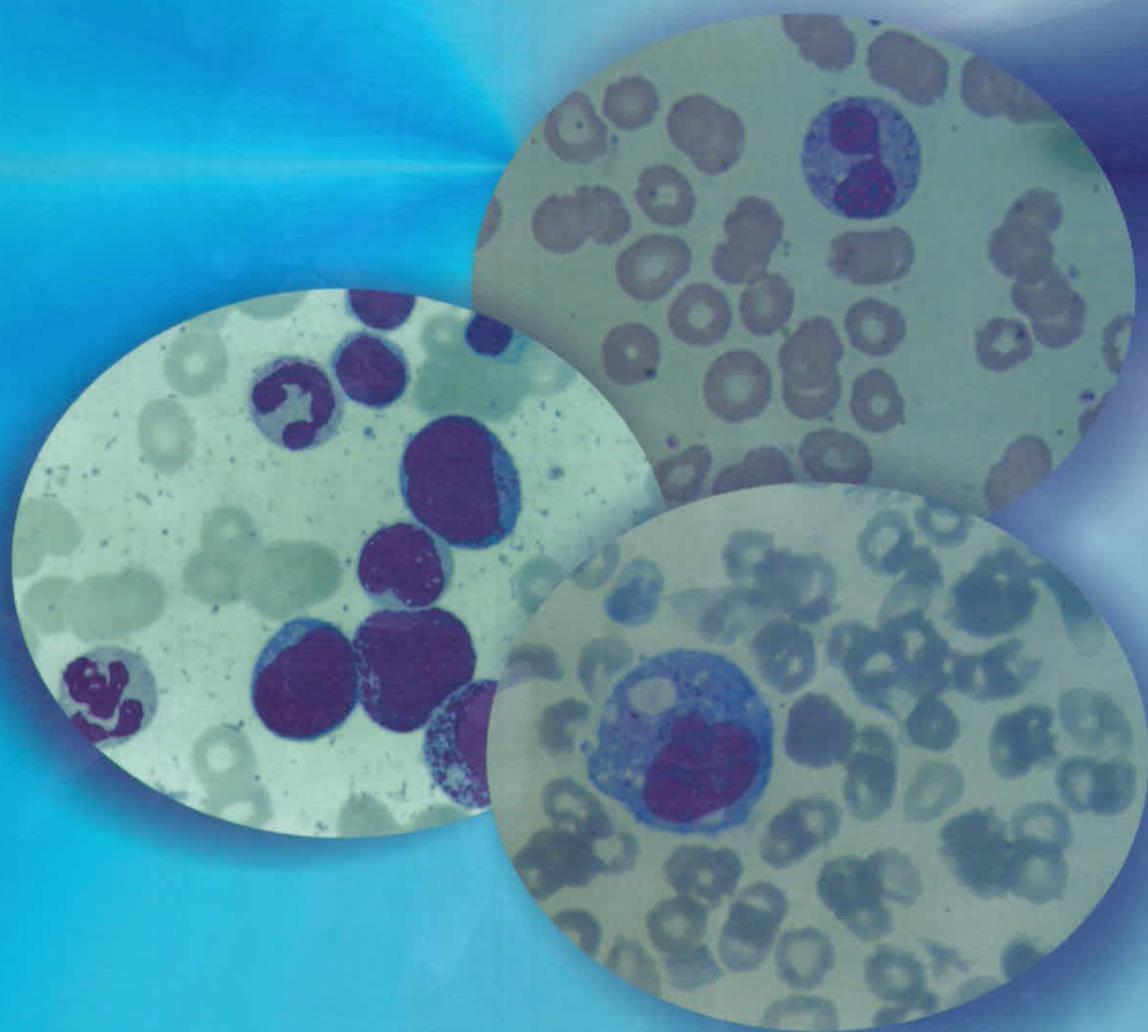


ATLAS DE HEMATOLOGÍA CÉLULAS SANGUÍNEAS



CARMEN BEATRIZ NARANJO ARISTIZÁBAL



**Carmen Beatriz
Naranjo Aristizábal**

La autora del presente trabajo es una reconocida bacterióloga manizaleña, egresada de la Universidad Católica, quien posteriormente adelantó estudios postgraduados en México obteniendo el título de Especialista en Laboratorio de Hematología Clínica. A través del tiempo ha sabido combinar los componentes asistencial, docente e investigativo, haciéndose poseedora de una muy bien cimentada experiencia en el tema.

La mayor parte del material gráfico del libro es de su propia producción, fruto de una constante observación y búsqueda en beneficio de sus estudiantes. Su participación permanente en diversos foros, congresos y actividades

**ATLAS
DE HEMATOLOGÍA
CÉLULAS SANGUÍNEAS**

CARMEN BEATRIZ NARANJO ARISTIZÁBAL
Bacterióloga Universidad Católica de Manizales
Especialista en Laboratorio de Hematología
Universidad Autónoma de México

Segunda Edición

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE MANIZALES
Manizales 2008

© Copyrigh
CARMEN BEATRIZ NARANJO ARISTIZÁBAL

Derechos Reservados. Es propiedad del Editor. Esta publicación no puede ser reproducida en todo ni en parte, ni archivada o transmitida por ningún medio electrónico, mecánico, de grabación, de fotocopia, de microfilmación o en otra forma, sin el previo consentimiento del Editor.

ISBN 958-8022-30-4

Universidad Católica de Manizales
Carrera 23 N° 60-63
PBX. 8782900 Fax. 8782901
www.ucm.edu.co

Diseño de Carátula y Diagramación
Luz Amparo Castro Restrepo

Impreso en Colombia por:
Centro de Publicaciones UCM
Segunda Edición
200 Ejemplares
Manizales 2008

TABLA DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN	11
CAPITULO 1. HEMATOPOYESIS	13
• Morfología de los elementos formes de la sangre	14
• Maduración de las células sanguíneas	16
• Principios de maduración anormal	18
CAPITULO 2 EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA Y COLORACIÓN DE WRIGHT.	20
• Tinción de frotis sanguíneo.	21
• Coloración de Wright.	21
• Tampón fosfato solución madre	22
• Tampón de trabajo ph 6.4	22
• Coloración recomendada por Internacional Council for Standardization in Hematology (ICSH)	22
• Procedimientos para la estandarización de la coloración.	23
• Resultados de una buena coloración.	24
• Fuentes de error en el extendido.	24
CAPITULO 3 ERITROCITO	26
• Eritropoyetina.	27
• Eritropoyesis en la médula ósea.	27
• Reticulocito.	28
• Eritrocito maduro	29
• Hemoglobina.	30
• Destrucción del eritrocito.	31
• Hemólisis extravascular.	31
• Hemólisis intravascular.	32
• Características morfológicas de la línea eritroide.	33
• Características morfológicas de la línea megaloblástica.	37
• Alteraciones morfológicas de los eritrocitos	

en sangre periférica	39
• Índices eritrocitarios secundarios	46
• Formas anormales de los eritrocitos.	47

CAPITULO 4 COMO REALIZAR UN BUEN EXTENDIDO DE SANGRE PERIFÉRICA **55**

• Informe correcto de la morfología eritrocitaria.	57
• Tamaño de los glóbulos rojos.	57
• Color de los eritrocitos	58
• Policromatofilia	58
• Inclusiones eritrocitarias	58
• Poquilocitosis	59
• Valoración del fenómeno de Rouleaux.	59

CAPITULO 5 LEUCOCITOS **60**

• Granulopoyesis.	60
• Función de los granulocitos.	62
• Diferenciación de las células sanguíneas a partir de una célula progenitora pluripotencial.	64
• Morfología de la línea granulocítica.	65
• Alteraciones más frecuentes de los neutrófilos.	69
• Morfología de la línea monocítica.	72
• Morfología de la línea linfocítica.	75
• Células normales encontradas en sangre periférica	76
• Alteraciones morfológicas de los leucocitos en sangre periférica.	79
• Diferencia entre metamielocito y bandas.	85
• Trastornos mieloproliferativos y linfoproliferativos.	86

CAPITULO 6 PLAQUETAS **90**

• Plaquetas o Trombocitos	90
• Trombopoyesis	90
• Alteraciones en las plaquetas	92
• Pseudotrombocitopenia	93
• Como realizar un recuento de plaquetas en un frotis de sangre periférica	94

CAPÍTULO 7. CUADRO HEMATICO AUTOMATIZADO	96
• Histogramas.	96
• Dispersogramas	97
• Distribución de células en un dispersograma	98
• Histograma de leucocitos.	99
• Histograma de eritrocitos.	100
• Apreciaciones generales del ancho de distribución de eritrocitos (RDW)	105
• Histograma de plaquetas	106
• Discrepancias de los eritrocitos en los contadores automatizados	108
• Protocolo a seguir frente a las discrepancias de eritrocitos	110
• Discrepancias de los leucocitos en los contadores automatizados	111
• Protocolo a seguir frente a las discrepancias de leucocitos	114
• Discrepancias de las plaquetas en los contadores automatizados	115
• Protocolo a seguir frente a las discrepancias de plaquetas	116
Bibliografía	118

LISTA DE IMÁGENES

CAPITULO 3

ERITROCITO

- Proeritroblásto basófilo. 33
- Eritroblásto basófilo. 34
- Eritroblásto policromático. 34
- Eritroblásto ortocromático. 35
- Reticulocito. 36
- Eritrocito maduro. 36
- Promegaloblasto basófilo. 37
- Megaloblasto basófilo. 37
- Megaloblasto policromático. 38
- Megaloblasto ortocromático. (acidófilo) 38
- Megalocito. 39
- Rouleaux. 44
- Extendido de sangre periférica normal. 47
- Drepanocito o células falciformes. 47
- Megalocito ó macrocito oval. Frotis de un paciente con anemia megaloblástica. 48
- Microesferocitos. Frotis de un paciente con esferocitosis hereditaria. 48
- Eliptocitos. Frotis de un paciente con eliptocitosis hereditaria. 49
- Esquistocitos. Frotis de un paciente con anemia hemolítica mecánica ó microangiopática. 49
- Codocito o dianocito. Frotis de un paciente con anemia hemolítica. 50
- Cuerpos de pappenheimer. 50
- Anillos de cabot. Frotis de un paciente con anemia megaloblástica. 51
- Punteado basófilo. Frotis de un paciente con anemia megaloblástica. 51
- Hipocromia. Frotis de sangre periférica en un paciente con anemia ferropénica. 52

- Acantocitos. Frotis de un recién nacido con acantocitosis hereditaria. 52
- Doble población de eritrocitos. Frotis de sangre de un paciente con anemia recién transfundido. 53
- Anemia megaloblástica. Extendido de sangre periférica de un paciente con anemia megaloblástica. 53
- Extendido de un recién nacido. 54
- Extendido de un paciente con anemia hipocromia. 54

CAPITULO 5

LEUCOCITOS

- Diferenciación de células sanguíneas a partir de una célula progenitora pluripotencial. 64
- Mieloblasto. 65
- Promielocito. 66
- Mielocito. 66
- Metamielocito o juvenil. 67
- Granulocito en banda o cayado. 67
- Polimorfonuclear neutrófilo. 68
- Polimorfonuclear eosinófilo. 68
- Polimorfonuclear basófilo. 69

ALTERACIONES MÁS FRECUENTES DE LOS NEUTRÓFILOS

- Desviación a la izquierda. 69
- Macropolicito o polisegmentado. 70
- Anomalia de pelger – huet. 70
- Granulaciones tóxicas. 71
- Cuerpos de Auer. 72

MORFOLOGIA DE LA LINEA MONOCITICA

- Monoblasto 73
- Promonocito 73
- Monocito 74

- Macrófago 74

MORFOLOGIA DE LA LINEA LINFOCITICA

- Linfoblásto 75
- Prolinfocito 76
- Linfocito maduro 76

CÉLULAS NORMALES ENCONTRADAS EN SANGRE PERIFÉRICA

- Granulocito segmentado 76
- Granulocito basófilo 77
- Granulocito eosinófilo 77
- Monocito 78
- Linfocito 78
- Monocito, neutrófilo en banda o cayado 79

ALTERACIONES MORFOLOGICAS DE LOS LEUCOCITOS EN SANGRE PERIFÉRICA

- Blasto y metamielocito 79
- Extendido de sangre periférica de un paciente con una leucemia mieloide 80
- Mielocito 80
- Neutrófilo con granulaciones tóxicas 81
- Monocito vacuolado 81
- Polisegmentado o macropolicito 82
- Linfocitos atipicos 82
- Diferencia entre metamielocito y banda 85
- Neutrófilos en banda 85
- Neutrófilos segmentados 86

TRANSTORNOS MIELOPROLIFERATIVOS Y LINFOPROLIFERATIVOS

- Extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia mieloide aguda promielocítica m_3 87
- Extendido de sangre periférica en un paciente con

leucemia L ₁	87
• Extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia M ₁ extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia prolinfocítica crónica	88
• Extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia linfocítica crónica	88
• Extendido de sangre periférica en un paciente con tricoleucemia o leucemia de células peludas	89
• Extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia mieloide crónica	89

CAPITULO 6

PLAQUETAS

• Megacariocito médula ósea	91
• Plaquetas o trombocitos	91

ALTERACIONES DE LAS PLAQUETAS

• Anisocitosis plaquetaria	92
• Agregación plaquetaria	92

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 7

CUADRO HEMÁTICO AUTOMATIZADO

• Histogramas	96
• Distribucion de células en un dispersograma	98
• Leucocitos histograma y recuentos	99
• Histograma de eritrocitos	101
• Histograma. microcitos	103
• Curva con macroplaquetas	104
• Histograma. Macroцитos	104
• Histograma de plaquetas	107

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades relacionadas con el sistema hematopoyético requieren un estudio que se inicia con el cuadro hemático y un frotis de sangre periférica, el cual se constituye en el punto de partida para la exigencia de pruebas adicionales que le permitan al médico abordar un diagnóstico y orientar un tratamiento.

El enfoque comienza con los pasos esenciales en la evaluación de cualquier cuadro clínico (historia detallada); cabe destacar que el bacteriólogo desde su quehacer contribuye en forma integral a la detección de estas alteraciones y como integrante de un grupo interdisciplinario ayuda a establecer el diagnóstico de entidades que comprometen el sistema hematopoyético.

Este atlas de hematología pretende proporcionar una base para reconocer los rasgos morfológicos celulares encontrados en la sangre periférica humana; para conseguirlo presentamos microfotografías donde se aprecia la morfología normal y las anormalidades más comunes.

Los frotis fueron coloreados con Wright, las imágenes tomadas en objetivo de 100X y las reproducciones en color fueron obtenidas con la máxima coherencia y precisión posible. A lo largo de este atlas, además de las características morfológicas de las células sanguíneas, se dan algunas recomendaciones sobre la forma de realizar el extendido de sangre periférica. También se han introducido conceptos puntuales de la fisiología del eritrocito, del leucocito y de las plaquetas, además de la importancia de la automatización en hematología dado el gran desarrollo que ha experimentado esta rama del diagnóstico.

Este trabajo está diseñado para ayudar a los profesionales que se desempeñan en un laboratorio de hematología y a los estudiantes de bacteriología, lo cual les permitirá identificar correctamente las células sanguíneas y hacer una buena correlación clínica de acuerdo a la anamnesis y exploración física del paciente realizada por el médico tratante.

Agradezco la elaboración de este atlas a las bacteriólogas del Hospital de Caldas, Hospital Infantil y Clínica la Presentación, quienes colaboraron en la adquisición de los extendidos de sangre periférica.

Finalmente, un reconocimiento a mi universidad, al personal participante en la edición del libro, al centro de investigaciones, a mi sobrino Nicolás por su contribución al diseño del libro y a Martín quien colaboró en la redacción y corrección del texto, que permitieron la realización de ésta obra.

CAPÍTULO 1

HEMATOPOYESIS

Desde 1961 Tilly Mc Lollough demostraron experimentalmente la existencia de la célula madre. La forma más inmadura es la Célula Madre Pluripotencial (CMP), la cual tiene la capacidad de diferenciarse en células madre mieloides y linfoides, así como la capacidad de autorenovarse. (citado por Atlas de Hematología CHRONOLAB).

Por activación de las hormonas hematopoyéticas y la interacción de los receptores celulares la CMP se desarrolla en:

- Célula Madre Multipotencial (CMM) para hematopoyesis, llamada también célula madre mielode.
- Célula Madre Inmunoreactiva (CMIP) para inmunopoyesis, llamada también Célula madre linfoide. (CML)

Las células nuevas formadas se desarrollan en Células Madres Orientadas (CMO), estas son incapaces de autorenovarse, poseen unas capacidades limitadas de diferenciación y un gran potencial de proliferación.

Las células inmaduras son una población de células morfológica y citoquímicamente reconocibles, que se orientan a partir de la CMO, ellas se transforman en elementos diferenciados a través de divisiones y maduración paralela; el proceso de maduración consiste en una serie de cambios bioquímicos y morfológicos que tienen lugar tanto a nivel del núcleo como del citoplasma, finalmente se forma una célula terminal madura la cual ya no se divide.

El proceso de maduración celular se caracteriza por cambios morfológicos y funcionales. La hematopoyesis comienza en el saco vitelino del embrión desde el decimonoveno día después de la fertilización, al tercer mes de vida el hígado fetal se convierte en el principal sitio de producción de células sanguíneas, en este mismo tiempo también se inicia la hematopoyesis en menor proporción en el riñón, bazo, timo y ganglios linfáticos, siendo estos importantes en la linfopoyesis. Finalmente la médula ósea se convierte en el principal órgano hematopoyético a partir del tercer trimestre de la gestación; órgano que se mantiene activo después del nacimiento y la vida adulta.

MORFOLOGÍA DE LOS ELEMENTOS FORMES DE LA SANGRE

Principios de la maduración celular normal.

Existen determinadas características específicas que se desarrollan en el curso de la maduración. Aparecen gradualmente de manera que cada célula evoluciona paulatinamente hasta situarse en determinado espacio de maduración. Sin embargo, las características descritas son puntos de referencia dentro de una serie continua, ya que se pueden encontrar células sanguíneas que no se ajustan exactamente a la descripción típica. Los cambios de una célula son simultáneos y paralelos lo que se denomina SINCRONISMO. La Hemopoyesis anormal se caracteriza por la existencia de diferentes ritmos de maduración para el núcleo y citoplasma denominada ASINCRONISMO (células atípicas difíciles de identificar.)

La transformación de una célula inmadura a madura experimenta cambios en el núcleo y citoplasma.

Tamaño celular

La célula inmadura es grande y en el proceso de maduración

experimenta disminución de tamaño.

Diferenciación citoplasmática.

El citoplasma de las células inmaduras suele ser intensamente basófilo, la basofilia es proporcional al contenido de ácido ribonucleico (ARN), a medida que la célula madura disminuye el ARN citoplasmático y la basofilia correspondiente. Esta característica se debe a la afinidad por colorantes básicos tales como el azul de metileno que se encuentra en la tinción de Wright.

La diferenciación de las células mieloides se caracteriza por la presencia de gránulos. Cuando aparecen los primeros gránulos citoplasmáticos son escasos toscos de color rojo vinoso, son los llamados gránulos inespecíficos, a medida que el granulocito madura aparecen tres tipos de gránulos específicos. Los eosinófilos que se tiñen de color naranja, los basófilos que se tiñen de color azul negro y los neutrófilos que se tiñen de color púrpura.

Diferenciación del núcleo.

La maduración nuclear consiste en una serie de cambios de la estructura y composición química de la cromatina nuclear y del núcleo en sí, reducción del núcleo, condensación de la cromatina y cambios en la forma del núcleo.

Núcleo inmaduro: redondo ú oval, la relación núcleo citoplasma (N/C) es elevada, la estructura de la cromatina es en red ó esponja, muy delicada, con presencia de uno ó varios nucléolos, a medida que la célula madura la cromatina se vuelve burda o gruesa ,el color del núcleo pasa de púrpura a azul y desaparecen los Nucléolos.

Cambios en la forma.

La maduración nuclear en determinados tipos de células origina cambios en la forma, en los granulocitos maduros

Reducción del tamaño.

La reducción del tamaño celular durante el proceso de maduración es una característica de todas las líneas celulares, excepto en la serie megacariocítica en la cual la célula más joven es más pequeña que el megacariocito maduro. La relación N/C es elevada en las células jóvenes y baja en las maduras.

MADURACIÓN DE LAS CÉLULAS SANGUÍNEAS

En el proceso de maduración las células sanguíneas experimentan disminución de tamaño, la relación núcleo citoplasma disminuye, la cromatina se conglomera observándose más oscura, no hay presencia de nucléolos; el citoplasma pierde las características basófilas, adquiriendo la célula características de una célula madura. Todo este proceso de maduración del núcleo y el citoplasma se da en forma sincronizada; cuando este proceso no se da en forma paralela se denomina asincronismo, que indica anormalidad.

En la sangre periférica de personas sanas sólo se encuentran células maduras tales como: eritrocitos y escasos reticulocitos, granulocitos y pocas bandas, linfocitos y monocitos maduros. En algunas patologías los precursores tempranos de algunas líneas celulares pueden aparecer en sangre periférica. Es necesario reconocer las células en sus diferentes estadios de maduración, con el objeto de establecer la etiología de la enfermedad y garantizar el éxito del tratamiento.

Tamaño.

Las células más jóvenes son grandes, durante la maduración el tamaño de la célula disminuye progresivamente, exceptuando la línea megacariocítica, siendo el megacariocito más grande que la célula madre. (megacarioblasto)

Sincrónicamente disminuye el tamaño del núcleo y del

citoplasma, observándose cambios en su relación núcleo citoplasma, que en las células inmaduras es de 5: 1, siendo más grande el núcleo y menor el citoplasma, en las células maduras el citoplasma es mayor.

Núcleo.

En el proceso de maduración el núcleo también experimenta disminución de tamaño; en la línea eritroide y megacariocítica, los núcleos desaparecen del citoplasma, la cromatina se condensa y los nucléolos desaparecen cuando la célula está completamente madura, sin embargo en la línea linfocítica en ocasiones los linfocitos atípicos presentan nucléolos. En las células maduras el núcleo tiene formas diferentes, como el caso de la línea granulocítica en la cual está dividido entre 2 a 4 lóbulos unidos por un filamento de cromatina; en la línea monocítica el núcleo puede tener varias formas, la cromatina es cerebriforme y se tiñe más claro que el resto de las células.

Citoplasma

Desarrolla actividades de síntesis en la célula, incluyendo síntesis proteica, crecimiento, movilidad y fagocitosis; la composición del citoplasma depende del funcionamiento y la madurez celular. La apariencia del citoplasma con la coloración de Romanowsky es muy importante para evaluar la morfología celular, en el proceso de maduración el citoplasma muestra cambios significativos, que se reflejan con la capacidad de reaccionar con el colorante. La pérdida de la basofilia es un cambio importante en el citoplasma, esto es una tendencia a captar colorantes básicos como el azul de metileno (Wright), su intensidad depende de la cantidad de ARN. En la línea granulocítica la intensidad del azul disminuye cuando la célula se hace más madura, volviéndose acidofílica es decir que tiñe con colorantes ácidos (rojos eosina), debido a la traducción de bases púricas y pirimídicas al de los aminoácidos y por lo tanto al de las proteínas.

La presencia de los gránulos en el citoplasma es otra característica que ayuda a la diferenciación celular; en la línea mielode los gránulos en las células inmaduras son más basófilos y son los denominados inespecíficos, a medida que la célula madura son más numerosos y son los denominados específicos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos). En el caso de la línea eritroide al expresarse la síntesis de hemoglobina (proteína), se incrementa su concentración y toma el ácido de la coloración de Wright, manifestándose de color salmón.

PRINCIPIOS DE MADURACIÓN ANORMAL.

En la hematopoyesis patológica aparecen células atípicas en relación al núcleo, citoplasma, tamaño, color etc.

Maduración citoplasmática anormal.

En los granulocitos la proliferación acelerada, como en la leucemia, se presenta un asincronismo entre la maduración del núcleo y citoplasma, con la aparición de un citoplasma escasamente granulado ó incluso agranular, células que, por lo demás, se acomodan a un mielocito, metamielocito o neutrófilo maduro. este asincronismo se denomina anarquía de la maduración.

La existencia de inclusiones citoplasmáticas anormales tales como los cuerpos de Dohle (enfermedad infecciosa), los de Auer (leucemia) y granulaciones tóxicas (infecciones y tóxicos que afectan la médula ósea) son una prueba de maduración citoplasmática anormal.

Maduración nuclear anormal.

Un núcleo anormalmente grande puede ser consecuencia de una poliploidía (aumento del número de cromosomas), presencia de dos núcleos como en la leucemias. En los neutrófilos se ven núcleos hipersegmentados como en las anemias megaloblásticas debido a una deficiencia de principio

hematopoyético. En ocasiones en las leucemias los núcleos presentan hendiduras denominados células de Rieder. células hipolobuladas denominada Pelger huet (infecciones ó síndrome de Pelger huet)

Tamaño anormal.

La diferenciación del tamaño anormal es de gran ayuda para el diagnóstico. La presencia de metamielocitos gigantes son característicos de las anemias megaloblásticas, la presencia de microMielobláastos (Mielobláastos de menor tamaño) en algunas ocasiones se encuentran en la leucemias agudas.

Hiato Leucémico.

Presencia de formas inmaduras en sangre periférica y formas maduras, pero con ausencia de elementos intermedios, característico encontrarlo en leucemias mieloblásticas.

CAPÍTULO 2

EXTENDIDOS DE SANGRE PERIFÉRICA Y COLORACIÓN DE WRIGHT.

Realizar un frotis sanguíneo es de gran importancia, ya que el diagnóstico de muchas enfermedades hematológicas puede aproximarse al observar las características morfológicas de las células sanguíneas.

Cada vez que se realiza el extendido de sangre periférica debe haber una mezcla de la muestra de sangre en forma suave, varias veces, tratando que los extendidos no queden muy gruesos ni muy delgados, para así obtener una distribución adecuada de las células sanguíneas en diferentes áreas del frotis y poder observar bien los eritrocitos en su tamaño, forma y color, así como realizar una buena fórmula leucocitaria ó diferencial y una buena observación de plaquetas en su morfología y número.

Existen tres procedimientos para realizar el frotis sanguíneo: método de dos portaobjetos, método de dos cubreobjetos y el método automático mediante extensor de frotis por centrifugación. Para la realización de los frotis debe tenerse en cuenta lo siguiente:

- Todo el material a emplear debe ser completamente limpio y libre de grasa.
- Si se toma por punción capilar debe desecharse la primera gota.
- Si la muestra es por punción venosa se debe realizar lo más pronto posible y sin anticoagulante (directamente de la jeringa sin aguja).
- Si no se puede realizar inmediatamente, debe hacerse siempre dentro de las dos primeras horas de practicada la punción.

TINCIÓN DE FROTIS SANGUÍNEOS.

En hematología de los colorantes más empleados está la coloración de Romanoswsky constituido fundamentalmente por la mezcla de eosina y azul de metileno.

El fundamento de la coloración deja que un colorante básico (azul de metileno) reaccione con un colorante ácido (eosina) para formar una coloración neutra, con una amplia gama de colores al nivel de las células sanguíneas.

La aplicación del método Romanoswky a la rutina hematológica precisa dos aspectos básicos. 1. Fijación de la sangre extendida sobre el portaobjetos antes de aplicar el colorante. 2. El empleo junto a la eosina y el azul de metileno, de derivados por oxidación de este último (metiltionina) que se conoce con el nombre de azures (A, B ó C); estas sustancias son las responsables de la coloración púrpura ó roja de la cromatina de los leucocitos y de las granulaciones citoplasmáticas que se denominan azurófilas. La eosina como el azul de metileno son muy sensibles a la variación del pH de las diferentes estructuras celulares, así que las que tienen propiedades básico fijan mejor la eosina (ácido) mientras que las que tienen propiedades ácido fijan principalmente el azul de metileno (básico). Esto explica que ciertas estructuras basófilas presentes en el núcleo (nucléolo) ó en el citoplasma (ribosomas) se tiñen de color azul, mientras que otros componentes acidófilos como la hemoglobina adquiere un color rosado, al igual que las granulaciones citoplasmáticas de la célula. El color púrpura de los gránulos específicos de los neutrófilos se debe al azur (A, B ó C), lo mismo que las finas granulaciones de los monocitos, algunos gránulos de los linfocitos y algunas inclusiones de los eritrocitos

COLORACIÓN DE WRIGHT.

Reactivos

1. COLORANTE DE WRIGHT.

- Colorante de Wright 3 gr.
- Glicerina 60 cc.
- Metanol 1940 cc.

Modo de preparación

Se mezclan los reactivos en una botella oscura con tapa hermética. Se agita dicha botella durante al menos 5 minutos, diarios durante una semana y luego se aparta para que madure durante un mes como mínimo antes de utilizarlo. Se filtran cantidades pequeñas de la mezcla al frasco cuenta gotas en la medida necesaria (papel filtro Whatman # 2).

2. TAMPÓN FOSFATO SOLUCIÓN MADRE.

- Fosfato sódico 0.067M, dibásico (Na₂HPO₄, anhidro, 9.47g/l).
- Fosfato de potasio 0.067M, monobásico (KH₂PO₄, 9.08 g/l)

3. TAMPÓN DE TRABAJO PH 6.4.

Na ₂ HPO ₄ 0.067M	26.5 ml
KH ₂ PO ₄ 0.067M	73.5 ml
Total.	100. ml.

Se preparan por separado las soluciones madre, se mezclan para obtener el pH deseado a 6.4, guardar en frasco oscuro.

COLORACIÓN RECOMENDADA POR INTERNACIONAL COUNCIL FOR STANDARDIZATION IN HEMATOLOGY (ICSH)

Debe contener azul B y eosinas y para que se produzca el efecto Romanoswky, las coloraciones que producen este efecto son: Wright, Leishman, May-grunwald-Giemsa y Wright- Giemsa.

Preparación del colorante

WRIGHT-GIEMSA

Colorante de Giemsa (polvo)	0.9 gr.
Colorante de Wright (polvo)	9.0 gr.
Glicerina	90 ml
Metanol R.A.	3.000 ml

Triture en un mortero los colorantes hasta obtener una mezcla homogénea y fina, agregue poco a poco la glicerina y mezcle. Disolviendo con el Metanol coloque poco a poco el colorante en un frasco ámbar que contenga perlas de vidrio. Coloque a 37 grados centígrados durante 3 días mezclando varias veces al día para disolver al máximo el colorante. Filtre el colorante de uso diario.

PREPARACIÓN DEL BUFFER.

Solución A	KH_2PO_4	9.1 g/l
Solución B	Na_2HPO_4	9.5gr/l

Colocar estas soluciones en frascos individuales a 4 grados centígrados. Mezclar en proporción 1:1 y utilizar esta solución a temperatura ambiente. El pH de esta solución será de 6.8 a 7.0

PROCEDIMIENTOS PARA LA STANDARIZACIÓN DE LA COLORACIÓN

Una coloración bien estandarizada permitirá informar en forma confiable la fórmula leucocitaria y la morfología celular, componentes fundamentales del cuadro hemático, indispensables para hacer una adecuada correlación clínica.

Así como los coloradores automáticos controlan la cantidad de colorante, de buffer y el tiempo de acción de cada uno de estos, en la coloración manual se debe conocer estos factores. Es necesario hacer varias pruebas para estandarizar cada lote nuevo de colorante y de esta forma garantizar que la coloración obtenida sea siempre de la mejor calidad. Cuando no se puede colorear inmediatamente es recomendable fijar el extendido con Metanol grado reactivo. El procedimiento debe quedar consignado en el manual de calidad, así como las modificaciones que se hagan para cada lote.

RESULTADOS DE UNA BUENA COLORACIÓN

Glóbulos rojos de color rosado fuerte, Núcleos de los linfocitos intensamente morados, citoplasma azul claro, granulaciones bien definidas de color naranja en los eosinófilos y morado en los basófilos, las membranas celulares se observan nítidamente, así como las granulaciones de los neutrófilos y plaquetas, no debe presentarse precipitados, artefactos ni efectos de fondo.

FUENTES DE ERROR EN EL EXTENDIDO.

1. Extendidos demasiado gruesos o demasiado delgados
2. El extendido se hace con demasiada presión que destruye o altera la morfología celular
3. Secar el extendido por agitación de manos en incubadora
4. Una coloración mal estandarizada puede ocasionar la no coloración de las células o coloración "quemadas" demasiado oscuras
5. El pH del Buffer dará como resultados coloraciones ácidas (rosa pálida) o coloraciones alcalinas (gris oscuro)
6. Colorante sin filtrar puede producir precipitados o artefactos
7. Coloración realizada después de dos horas de hecho el extendido
8. El Metanol utilizado para fijar las células no es absoluto. Usar un Metanol alterado o en ambiente húmedo puede

producir artefactos en el extendido

9. Mezcla insuficiente de la muestra
10. Oprimir el dedo después de la punción puede disminuir el recuento de plaquetas, al igual que colocar la gota en la lámina y demorarse en hacer el extendido
11. Residuos de desinfectante pueden destruir las células o afectar su morfología
12. El anticoagulante viejo o alterado puede producir artefactos o coloraciones ácidas.
13. Láminas sucias, grasosas o rayadas
14. El EDTA disódico puede producir un aumento en el tamaño de las células y dar un efecto de falsa desviación a la izquierda.
15. La presencia de crioglobulinas da como resultado extendidos grumosos que dificultan la observación de la morfología celular. En este caso se recomienda colocar a 37 °C grados centígrados la muestra y las láminas y hacer el extendido dentro de la incubadora

CAPÍTULO 3

ERITROCITO

El eritrocito es una célula altamente especializada del cuerpo humano, cuya función principal es el transporte de oxígeno a todas las células, y la remoción del dióxido de carbono producto de la oxidación celular.

La eritropoyesis es un proceso ordenado mediante el cual la concentración periférica del eritrocito se mantiene en una cantidad constante. La estimulación hormonal de las células madres eritroides comprometidas se convierte en proliferación, diferenciación y maduración de precursores celulares en la médula ósea, e involucra una gran cantidad de modificaciones de las diferentes formas, desde una célula madre orientada a través del proeritroblásto basófilo, Eritroblásto basófilo, Eritroblásto policromatófilo, Eritroblásto ortocromático (acidófilo), reticulocito hasta eritrocito maduro.

La maduración de esta línea celular, al igual que las otras células sanguíneas, experimenta una disminución gradual de tamaño celular, junto con la condensación y la expulsión del núcleo; a medida que la célula madura se incrementa gradualmente la producción de hemoglobina. Los normoblastos tardan de 5 a 7 días en la maduración y proliferación, proceso que se da en la médula ósea y después de la maduración el reticulocito es liberado dentro de los senos medulares e ingresa a la sangre periférica y continúa su proceso de maduración un día más.

La eritropoyesis normal requiere de:

- Un número adecuado de células madre de tipo eritrocítico.

- Presencia de factor de crecimiento.
- Regulación endocrina.

La médula ósea es capaz de producir 900 billones de eritrocitos por hora, reemplazando así el mismo número de eritrocitos seniles que son retirados de la circulación por medio de macrófagos; este proceso en equilibrio mantienen la población de 25×10^{12} eritrocitos circulantes con un total de 750g. de hemoglobina. Si el tiempo de vida del eritrocito disminuye a una décima de su vida normal o hay pérdida de la circulación de una décima de la cantidad total, la capacidad máxima de producción de la médula ósea es inadecuada, ésto lleva a la deficiencia de eritrocitos en la circulación, es decir la anemia. Cambios patológicos pueden causar excesiva producción de eritrocitos, lo cual conduce a un incremento de éstos denominado policitemia(eritrocitosis). (Wintrobe 1994)

ERITROPOYETINA (EPO)

Hormona glucoproteínica de origen renal encargada de la regulación de la producción de eritrocitos, se secreta por el riñón en respuesta a la hipoxia celular.

El control con retroalimentación de la eritropoyesis es el mecanismo por el cual el cuerpo mantiene una masa eritrocitaria óptima para la oxigenación de los tejidos. En términos biológicos la eritropoyetina tiene una actividad de 7.000 unidades (U) por miligramo de proteína, el plasma contiene entre 3 a 8 mµ de eritropoyetina por mil de plasma. La eritropoyetina también suele encontrarse en la orina en concentraciones proporcionales al plasma, por lo regular es cerca de 1 a 4 mµ/mL. En la anemia los títulos reales de EPO están relacionados tanto con la concentración de hemoglobina como con la Fisiopatología de la anemia (SHIRLYN B. Mckenzie 2000.)

ERITROPOYESIS EN LA MÉDULA ÓSEA

La célula madre unipotencial sensible a la eritropoyetina forma un proeritroblásto y una nueva célula madre, mediante

una división mitótica con objeto de mantener un suministro normal de células en la médula ósea.

La síntesis de DNA y RNA es muy marcada en la fase de proeritroblásto; en los nucléolos de esta célula se ensambla RNA ribosomal que sale al citoplasma a través de los poros nucleares y una vez en los poliribosomas se inicia la síntesis de proteína (globina y sistema enzimático). El citoplasma del proeritroblásto tiene gran cantidad de ferritina y mitocondrias. Cada proeritroblásto produce de 8-32 eritrocitos maduros, después de estimulación específica el proeritroblásto se divide y madura a un eritroblásto basófilo, cuya característica relevante es la gran cantidad de RNA que le confiere una apariencia claramente basófila al citoplasma, la disminución en la síntesis de RNA da como resultado el cambio de color del citoplasma de un eritroblásto policromatófilo a uno acidófilo.

En un eritroblásto policromatófilo el núcleo es muy pequeño, la síntesis de hemoglobina se incrementa y la ferritina se acumula como hemosiderina, después de la división del eritroblásto policromatófilo a un eritroblásto ortocromático (acidófilo), y aparentemente la etapa mitótica termina. Los eritroblásto ortocromático tienen un núcleo claramente pignótico, su citoplasma es acidófilo, tiene solamente algunas organelas (ribosomas y mitocondrias), en esta etapa la síntesis de RNA y DNA se detiene y los eritroblastos no pueden dividirse más, muy probablemente la hemoglobina causa la inhibición de la actividad del núcleo. Cuando la hemoglobina alcanza una cierta concentración en el citoplasma pasa al núcleo y se une a las nucleohistonas inactivando así a los cromosomas, además la concentración alta de hemoglobina puede inactivar también a la eritropoyetina.

RETICULOCITO

El eritroblásto ortocromático expulsa el núcleo y se transforma en reticulocito, esto sucede cuando los eritroblastos pasan a través de los poros del endotelio de los senos venosos en

la médula ósea. a través de estos poros de 1-4 μm puede pasar el citoplasma pero no el núcleo, (los macrófagos de la médula ósea digieren los núcleos expulsados); al perder el núcleo se transforma en reticulocito y permanece en la microcirculación de la médula ósea durante uno o dos días, de allí llega a sangre periférica donde continúa su proceso de maduración durante un día más, aunque no hay núcleo en el reticulocito, los ribosomas, mitocondrias y complejo de Golgi están presentes durante esta etapa y la síntesis de hemoglobina se mantiene activa; los ribosomas ricos en RNA presentes en los reticulocitos se tiñen con azul de cresil brillante como un retículo más o menos azul y se denomina sustancia reticulofilamentosa.

El reticulocito tiene receptores para transferrina en su membrana de tal forma que el hierro puede entrar a la célula. La presencia de transferrina en la membrana del reticulocito es una de las razones de por qué los reticulocitos son más pegajosos que los eritrocitos maduros y de por qué pasan con dificultad de la médula ósea a sangre periférica; cuando el reticulocito pierde ribosomas, mitocondrias y complejo de Golgi y receptores de transferrina disminuye su tamaño y se transforma en eritrocito maduro. **(SHIRLYN B. Mckenzie)**

ERITROCITO MADURO

Se ve como un disco bicóncavo flexible de forma discoide de 7- 8 μ de diámetro, se tiñe de rosa naranja debido a la gran cantidad de proteína acidófila intracelular (hemoglobina); la célula ha perdido su RNA residual y sus mitocondrias así como algunas enzimas importantes, por tanto es incapaz de sintetizar nuevas proteínas o lípidos, el promedio de vida es de 100 a 120 días.

La membrana del eritrocito muestra una permeabilidad selectiva, es permeable al oxígeno, dióxido de carbono, agua, urea, nitrógeno, glucosa, cloro, HCO_3 e iones. El incremento del dióxido de carbono (CO_2) en la sangre facilita la entrada de iones de cloro, lo cual expulsa agua provocando cambios

en la forma de la célula.

La fuente de energía es la glucosa, la cual esta sujeta al proceso de glicólisis después de entrar a la célula. Todos los procesos bioquímicos en el eritrocito son escasamente regulados, por lo que una sola alteración en algún punto produce la muerte de la célula rápidamente. La degradación de la glucosa es efectuada en un 90% por la ruta anaerobia de Embden Meyerhof y 10% por el ciclo de glicólisis aeróbica.

El envejecimiento de los eritrocitos está relacionado con la destrucción de la membrana y con la desnaturalización irreversible de enzimas. La degradación de los eritrocitos es consecuencia del envejecimiento debido al agotamiento de las enzimas involucrados en la glicólisis. **(SHIRLYN B. Mckenzie)**

La descomposición del eritrocito sigue las siguientes etapas:

- Fragmentación.
- Osmosis.
- Eritrofagocitosis.
- Desnaturalización de la hemoglobina.

En condiciones normales los eritrocitos seniles son ingeridos y degradados principalmente por las células del sistema mononuclear fagocítico, particularmente en el bazo, y en menor grado en el hígado y la médula ósea.

HEMOGLOBINA

El papel principal de la hemoglobina es transportar el oxígeno de los pulmones a los tejidos y el CO_2 de los tejidos a los pulmones. Por medio de un enlace inestable del oxígeno y el CO_2 con el hierro bivalente del grupo hem.

La hemoglobina ocupa cerca del 33% del volúmen del eritrocito y participa en el 90% del peso seco total de la célula, cada célula contiene entre 27 a 32pg de hemoglobina; en estados

anémicos la célula puede contener menos hemoglobina, por lo cual disminuye la capacidad transportadora del oxígeno de la sangre. La membrana del eritrocito y sus vías metabólicas son responsables de proteger y mantener la molécula de hemoglobina en su estado funcional. Los trastornos de la membrana que alteran la permeabilidad o las alteraciones en los sistemas enzimáticos celulares pueden producir cambios en la estructura y función de la molécula de hemoglobina y afectar la capacidad de esta proteína para suministrar oxígeno.

La concentración de hemoglobina en el cuerpo es el resultado de un equilibrio entre la producción y destrucción del eritrocito.

DESTRUCCIÓN DEL ERITROCITO

Por lo general la destrucción del eritrocito es el resultado de la senectud celular, la cual se caracteriza por un deterioro en los sistemas enzimáticos celulares tales como la disminución del Adenosin trifosfato (ATP) y otros, trayendo como consecuencia la disminución en la capacidad de mantener su forma, su deformabilidad y la integridad de la membrana.

Este fenómeno de destrucción celular se denomina hemólisis que puede ser: extravascular llevada a cabo en las células del bazo, hígado y médula ósea y la hemólisis intravascular donde el eritrocito libera hemoglobina directamente al torrente sanguíneo.

HEMÓLISIS EXTRAVASCULAR.

Se efectúa en los macrófagos de bazo, los eritrocitos envejecidos tiene membrana más rígida, se mueven lentamente, además el suministro de glucosa es bajo, limitándose los procesos productores de energía. Al interior del macrófago el eritrocito se fragmenta en hierro, hem y globina. El hierro y la globina se conservan y se reutilizan para síntesis de nueva hemoglobina y otras proteínas. El hierro puede ser almacenado como

ferritina o hemosiderina dentro del macrófago, pero la mayor parte es liberado a la proteína transportadora, la transferrina es enviada a la médula ósea a los normoblastos en desarrollo. La globina de la molécula de Hemoglobina es fragmentada y reciclada dentro del fondo común de aminoácidos, posteriormente el hem es catabolizado y excretado en las heces.

La degradación del grupo hemo origina diferentes catabolitos siendo su producto final la bilirrubina, pasa a la sangre y unida a la albúmina formando (bilirrubina indirecta o no conjugada) es transportada al hígado, se une con el ácido glucorónico formando bilirrubina directa o conjugada, la cual es excretada por la bilis y vertida al intestino y por acción de las bacterias la transforman el estercobilinógeno eliminado por las heces (color de las heces). Parte del estercobilinógeno se reabsorbe, para después de circular por la sangre, eliminarse por la orina como urobilinógeno (Color de la orina).

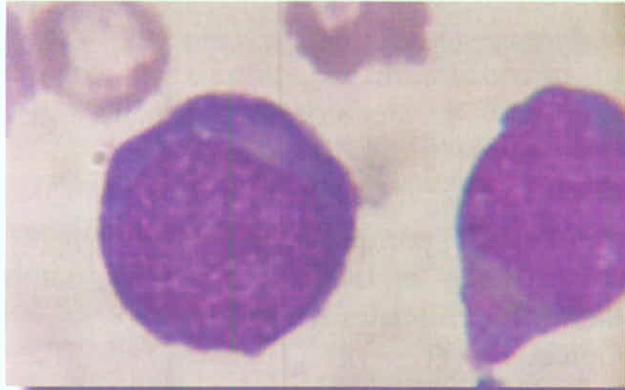
HEMÓLISIS INTRAVASCULAR

La pequeña cantidad de hemoglobina liberada al torrente sanguíneo periférico a través de la descomposición intravascular del eritrocito experimenta una disociación en dímeros α y β , estos dímeros se unen a la haptoglobina, proteína plasmática transportadora. El complejo Hb-Hp es depurado rápidamente del torrente sanguíneo, la concentración de haptoglobina tiende a disminuir con gran rapidez en estados hemolíticos agudos, debido a que el hígado es insuficiente para sintetizar haptoglobina a niveles compensatorios; la haptoglobina es un reactante de fase aguda y suele encontrarse aumentada en padecimientos inflamatorios infecciosos o neoplásicos, por tanto pacientes que sufren anemias hemolíticas, acompañados con un proceso inflamatorio o infeccioso pueden tener valores de haptoglobina normales. Cuando la haptoglobina se agota, los dímeros α y β logran ser filtrados por el riñón y reabsorbidos por las células del túbulo proximal apareciendo en la orina como hemoglobina libre, otros son reabsorbidos

por las células tubulares, que son catabolizados a hierro y bilirrubina los cuales finalmente ingresan al plasma. Las células tubulares cargadas con hierro se descaman y son excretadas por la orina, se pueden observar con la coloración de azul de Prusia, por lo tanto la presencia de hierro en la orina (hemosiderina) es signo de hemólisis intravascular.

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA LÍNEA ERITROIDE

Proeritroblásto basófilo médula ósea



Es la célula más tempranamente reconocible de la serie eritrocítica, es una célula grande redonda u ovalada.

Tamaño: 15-20 μ

Citoplasma: Azul oscuro con un halo perinuclear claro, esta célula no tiene hemoglobina en el citoplasma, La síntesis de hemoglobina se inicia alrededor del núcleo, el citoplasma presenta afinidad basofílica.

Núcleo: Relativamente grande con una red de hilos de cromatina, después de que se inicia la síntesis de hemoglobina, la cromatina del núcleo se aglutina.

Nucléolos: Pueden verse de 1 a 5 pequeños (muy raro verlos).

Alteraciones en la coloración.

Anisocromía: Una coloración heterogénea de los eritrocitos pueden encontrarse en deficiencia de hierro y ácido fólico o en pacientes que están recibiendo tratamiento o una transfusión.

Hipocromía: Son eritrocitos muy poco hemoglobinizados con una área exagerada de palidez, mayor de 1/3 del diámetro de la célula. La células hipocrómicas son el resultado de la disminución o deterioro de la síntesis de hemoglobina; se relaciona con anemia por deficiencia de hierro, anemia sideroblástica, talasemia y anemia de enfermedades crónicas.

Hipercromía. Los eritrocitos son intensamente coloreados, éstos pueden ser el resultado de alteraciones el grosor de la célula y disminución de la presión central y no la concentración media de hemoglobina. la hipercromía es más predominante en los megalocitos (macrocito oval) pero sobre todo en la esferocitosis hereditaria.

Policromatofilia: Los eritrocitos policromáticos suelen ser más grandes que las células normales, se manifiesta por el color azul grisáceo con la coloración de Romanowsky, el tinte azulado es producido por la presencia de RNA residual en el citoplasma, se presenta en pacientes cuando hay disminución en la supervivencia del eritrocito (hemólisis, hemorragia).

Alteraciones en el tamaño

Anisocitosis: Este término es utilizado para señalar las variaciones en el tamaño de la célula, están presentes eritrocitos de varios tamaños en el mismo extendido de sangre periférica. De acuerdo a su tamaño los glóbulos rojos se clasifican en:

NOMENCLATURA.	TAMAÑO.	VCM fl.
Normocíticos	7 -8 μ	86fI
Macrocícticos	8-11 μ	Mayor de 97 fl
Microcícticos	Menor de 6 μ	Menor de 80 fl
Megalocitos	Mayor o igual a 12 μ	Mayor de 100 fl

Microcitos . Es una disminución en el diámetro del eritrocito en relación al eritrocito normal, éstos se tiñen con menor intensidad que los eritrocitos normales.

Macroцитos. Los eritrocitos presentan un diámetro mayor que el eritrocito normal, son de forma redonda, están presentes en la eritropoyesis acelerada, en enfermedades crónicas hepáticas, en recién nacidos entre otros; éstas células presentan luz central.

Alteraciones en la forma: Corresponde a variaciones en la forma del eritrocito en el mismo frotis, esta alteración siempre está acompañada de anisocitosis. Las formas que se pueden observar se describen a continuación:

Equinocito ó crenocito: Son un artefacto común en frotis de sangre teñidos, debido al efecto del vidrio del portaobjetos. El vidrio libera ciertas sustancias básicas que aumenta el pH del medio, alterando su morfología.

Estomatocitos: Aparecen en preparaciones húmedas como discos pequeños, semicóncavos, en forma de taza. La forma es el resultado de un aumento en el área de la capa inferior de la doble capa lipídica de la membrana. Se presenta en forma rara en anemias hemolíticas congénitas, también cuando el potasio intracelular está disminuido y el sodio aumentado (esferocitosis hereditaria y en alcoholismo).

Esferocitos: Es consecuencia de un defecto primario en la

membrana del eritrocito, los esferocitos tienen un grosor aumentado (3µm). Son eritrocitos que han perdido su biconcavidad, lo cual provoca una disminución en la relación superficie volumen. En los frotis teñidos, los esferocitos aparecen como esferas teñidas densamente que carecen de un área central de palidez; aunque las células aparecen microcíticas en los frotis de sangre teñidos, el VCM suele ser normal debido al aumento en el espesor de la célula, ésta es la única que se clasifica como hiperocrómico debido a un aumento del CHCM. Estas células esferoidales aparecen en muchos tipos de anemias hemolíticas, incluyendo la esferocitosis hereditaria, en la forma hereditaria los eritrocitos inicialmente son biconcavos, pero en el paso repetido por el bazo se va condicionando paulatinamente a esferas.

Esquistocitos ó esquizocitos: Son fragmentos de eritrocitos, producidos por daño mecánico de la célula, su diámetro es variable debido al daño localizado de la membrana, se presentan en diversas formas: triángulos, comas, cascos, entre otras. La fragmentación de los eritrocitos se relaciona particularmente con la formación intravascular de fibrina. Se encuentran en anemias hemolíticas mecánicas, asociados a hemólisis intravascular, como lo que ocurre en las anemias hemolíticas microangiopáticas, en la implantación de prótesis valvulares cardíacas, en quemaduras severas y Coagulación intravascular diseminada (CID).

Acantocitos: Son células en espuela, esféricas (sin luz central), con proyecciones irregulares, estas células disponen de membrana con alteraciones del contenido lípido. Pueden encontrarse en pacientes con defectos hereditarios o deficiencia completa de lipoproteínas, con nefropatías, en algunas hepatopatías e hipotiroidismo.

Codocitos: Llamada también célula en sombrero mexicano o célula en blanco de tiro, son células delgadas, en frotis teñidos se observa en tiro al blanco con una diana en el centro; la diana esta rodeada por una zona acromática y un anillo exterior delgado de hemoglobina, éstas se aprecian en

trastornos en los cuales hay un aumento en los lípidos de la membrana.

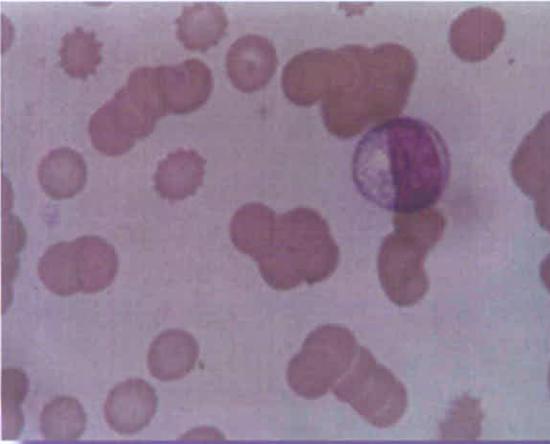
Dacriocitos: Llamados también células en lágrima, son eritrocitos alargados en un extremo, que forman una célula con aspecto de gota o lágrima. Algunas se forman después de que los eritrocitos con inclusiones celulares han atravesado el bazo. Los eritrocitos con inclusiones son más rígidos en el área de inclusión y esta porción de la célula tiene más dificultad para pasar a través del filtro esplénico que el resto, en consecuencia la célula se estira a una forma anormal.

Drepanocitos: Conocidos también como células falciformes, o células en hoz, son eritrocitos alargados con apariencia de media luna y extremos puntiagudos. La hemoglobina dentro de la célula es anormal y se polimeriza en bastoncillos cuando hay tensión disminuida de oxígeno o reducción de pH, por lo tanto la célula al polimerizar la hemoglobina se convierte en forma de hoz. Los eritrocitos de estos pacientes son morfológicamente normales, pero al disminuir la presión de O_2 las moléculas de hemoglobina S (HbS) se polimerizan e inducen a la falciformación. La drepanocitosis se caracteriza por crisis fuertes de dolores, causados por la obstrucción de los vasos sanguíneos, ocasionados por las células rígidas de hoz; estas crisis llegan a producir úlceras sobre todo a nivel de maléolos.

Ovalocitos ó Eliptocitos: Conocido como células en cigarro. Tienen una área central de biconcavidad con hemoglobina concentrada en ambos extremos, los eliptocitos aparecen después que madura el eritrocito y abandona la médula ósea. Es el resultado de un defecto en la membrana, muy probablemente presentan una alteración en la estructura y constituyentes de la espectrina. Pueden encontrarse en sangre de pacientes con eliptocitosis hereditaria y algunas veces en mielofibrosis. Deben distinguirse de las deformaciones de la célula, producidas artificialmente durante la preparación de los extendidos, en este caso la mayoría de las células se orientan en el mismo sentido.

Queratocito: Conocido como célula en casco, presenta dos proyecciones en forma de espícula; son producidos por perforación en una banda de fibrina sobre los eritrocitos circulantes.

Macroцитos ovals: Son eritrocitos mayores de 8 micras, sin luz central, pueden ser redondos u ovalados, característicos de las anemias megaloblásticas. (megalocito)



Rouleaux

Es una acumulación grande o pequeña de eritrocitos, donde los eritrocitos en sangre recién tomada se agregan unos a otros como pilas de monedas. Presente en pacientes con gamapatía monoclonal y mieloma múltiple. Este fenómeno se presenta debido al incremento de inmunoglobulinas ricas en grupos amino libres, que neutralizan el potencial Z de los eritrocitos y ésto permite el acercamiento de los eritrocitos.

Potencial Z: Se refiere a la intensa carga negativa que tienen los eritrocitos en su superficie y hace que las células se mantengan separadas unas de otras, para poder cumplir su función de transporte de oxígeno.

En los pacientes con anemias severas es difícil realizar extendidos ya que pueden presentar un falso ROULEAUX

COMO DIFERENCIAR UN VERDADERO ROULEAUX

Realice una preparación delgada con solución salina entre lámina y laminilla con la muestra de sangre del paciente; La solución salina disminuye el potencial Z de los eritrocitos y no se presenta aglutinación, (caso de las anemias severas), pero si hay aumento de las inmunoglobulinas la solución salina no neutraliza el potencial Z y los eritrocitos continúan agregados.

Eritrocitos con residuos nucleares. e Inclusiones en los eritrocitos. se encuentran en pacientes con una marcada diseritropoyesis y entre ellos tenemos:

Cuerpos de Howell-jolly: Son gránulos esféricos de color morado o violeta localizados de manera excéntrica en eritrocitos y reticulocitos, provienen generalmente de cromosomas durante divisiones anormales. Pueden producirse fragmentos nucleares pequeños similares por fragmentación patológica de núcleo (cariorrresis), lo cual es muy raro de encontrar en personas normales, pero comúnmente pueden encontrarse, después de haber extirpado el bazo, en anemias hemolíticas severas y anemias megaloblásticas.

Anillos de Cabot. Poseen un alto contenido de histonas, se ha establecido que son usos cromáticos, que se forman durante la mitosis. Son inclusiones eritrocitarias de color violeta rojizo que suelen presentarse como una figura de ocho o anillo oval. Son característico en anemias megaloblásticas, en intoxicación por plomo y leucemias (M_6)

Punteado basófilo: Son inclusiones granulosa de color negro azulado, distribuidas en la totalidad del eritrocito. Son ribosomas agregados, a veces se relacionan con mitocondrias y siderosomas, es frecuente encontrarlos en anemias severas, en intoxicación por plomo u otros metales pesados.

Cuerpos de Heinz: No se observa con la coloración de Romanowsky, pueden evidenciarse con tinciones como Azul Fenil-Hidrazina; se presentan como masas redondas de

2 a 3 μ , inmediatamente debajo de la membrana celular, los cuerpos de Heinz están constituidos por hemoglobina desnaturalizada agregada. Puede encontrarse en anemias por deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (GDPG9).

Cuerpos de Pappenheimer: Son lisosomas secundarios de composición variable en hierro y proteínas, o mitocondrias con micelas de hierro. Este tipo de inclusión se observa como depósitos basófilos irregulares pequeños en los eritrocitos; también se denominan siderocitos, que se evidencian con la coloración de Azul de Prusia y están presentes en alteraciones en la síntesis de hemoglobina. (talasemias) (SHIRLYN B. Mckenzie).

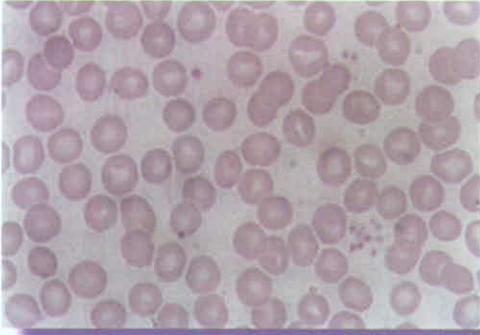
ÍNDICES ERITROCITARIOS SECUNDARIOS: son los que relacionan el hematocrito, el número de eritrocitos y la concentración de hemoglobina, obtenidos a partir de métodos automatizados. Éstos son de gran ayuda para la realización de un buen extendido de sangre periférica, orientando al diagnóstico morfológico de las anemias: (Wintrobe 1994)

RDW O ADE : Ancho de Distribución de los Eritrocitos. se expresa en porcentaje (%). Su aumento indica presencia de anisocitosis.

VCM : Volúmen Corpuscular Medio. Se expresa en Fentolitros (fl). indica el tamaño de los eritrocitos. Se calcula a partir del hematocrito y del número de eritrocitos. La presencia de un VCM disminuido es significativo de microcitos y un valor aumentado es significativo de macrocitos.

HCM: Hemoglobina Corpuscular Media. Se expresa picogramos (pg). Indica el valor medio del contenido de hemoglobina de cada eritrocito. Se calcula a partir de la concentración de hemoglobina y el número de eritrocitos totales, un valor disminuido es significativo de hipocromía, un valor aumentado indica la presencia de hiperchromía.

CHCM: Concentración Corpuscular Media de Hemoglobina: se expresa en gramos sobre decilitro (g/dl). corresponde a la concentración de hemoglobina en 1 decilitro, se calcula a partir de la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito.

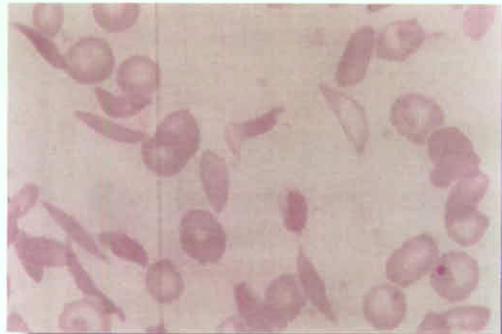


Extendido de sangre periférica normal

Eritrocitos normales con luz central, plaquetas normales. Objetivo 100x

Un extendido de sangre periférica consta de cabeza, cuerpo y cola. Para una buena observación de los elementos formes de la sangre debe observarse la preparación terminando el cuerpo y empezando la cola, donde los eritrocitos apenas se toquen entre sí y que tengan luz central.

FORMAS ANORMALES DE LOS ERITROCITOS

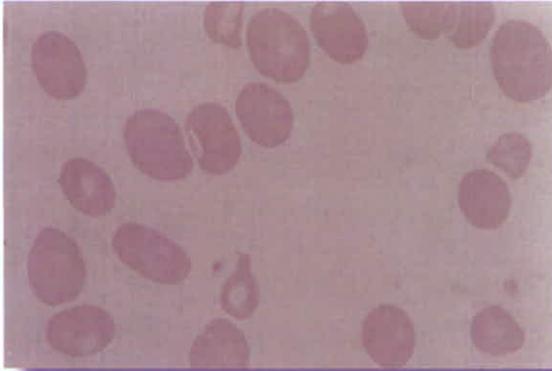


Drepanocitos o células falciformes.

Frotis sanguíneo de paciente anemia de células falciformes (objetivo 100x)

Los drepanocitos son glóbulos rojos que suelen contener hemoglobina S, pero también aparecen en otras hemoglobinopatías

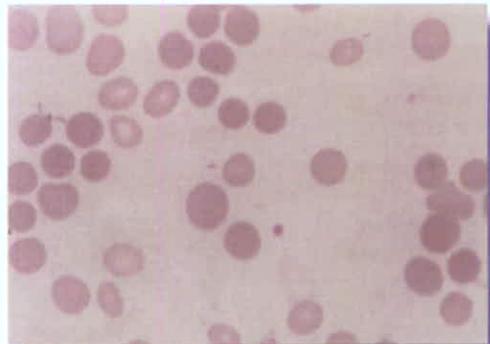
Si un eritrocito contiene HbS en el momento en que se reduce la tensión de oxígeno ó el pH cambiará a la forma en hoz ó espigas y filamentos irregulares con aspecto de hoja.



Megalocito ó macrocito oval. frotis sanguíneo de un paciente con anemia megaloblástica (anisocitosis y poiquilocitosis objetivo 100X)

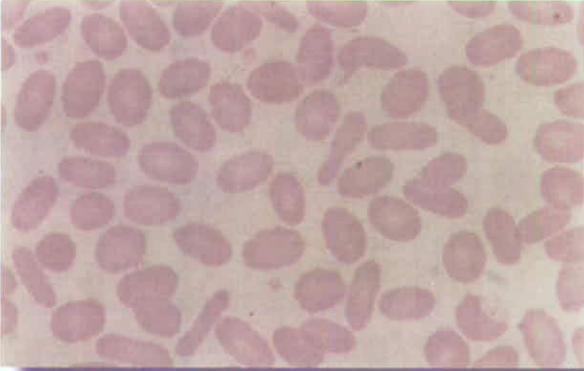
El término megálocito se refiere específicamente a los eritrocitos ovals grandes sin luz central que se observan en las anemias megaloblástica. Estas células contienen cantidades considerables de hemoglobina y a menudo la palidez central disminuye ó desaparece. La forma ovalada podría ser útil para distinguir las anemias megaloblásticas de otras causas de macrocitosis.

Microesferocitos. frotis de un paciente con esferocitosis hereditaria (anisocitosis y policromatofilia 100x)



Cuando el eritrocito adopta configuración esférica se llama esferocito, se reconocen por su tamaño más pequeño,

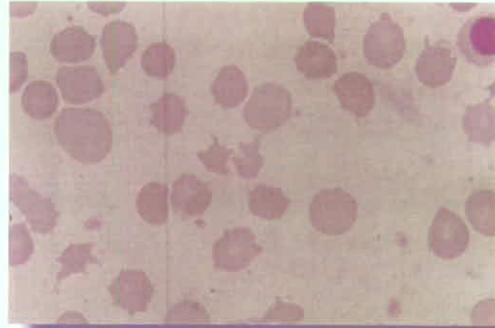
la intensidad de la coloración y la ausencia de palidez central.



Eliptocitos.
frotis de un
paciente con
eliptocitosis
hereditaria.
(objetivo 100 x)

Además de eliptocitos bicóncavos se observan poiquilocitos. El contorno de la célula es oval en los Frotis sanguíneos, su forma varía desde la ligeramente oval hasta los bastones ó la configuración en salchicha. A veces la presencia de eliptocitos acompaña a las talasemias, anemia de células falciformes y enfermedad de la HbC, pero lo más habitual es que se observan Codocito en estas afecciones.

Esquistocito frotis de
paciente con anemia
hemolítica mecánica
o microangiopática
(anisocitosis y
poiquilocitosis 100X)



Se denomina así a los eritrocitos que están de alguna manera fragmentados. Los eritrocitos en su paso por la luz vascular se ven sometidos a importantes fuerzas de cizallamiento que resisten fácilmente gracias a su capacidad de deformación. En determinadas circunstancias la presencia de lesiones del sistema vascular puede alterar la dinámica circulatoria hasta el punto de producir su fragmentación mecánica o hemólisis mecánica.

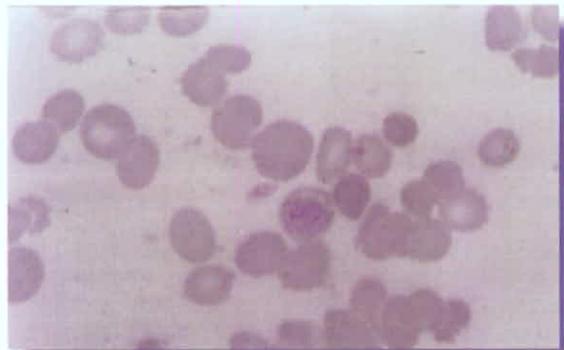


Codocito o dianocito. frotis de paciente con anemia hemolítica.
(poiquilocitosis 100X)

Cuando estos eritrocitos se extienden en un frotis adoptan la llamada forma en diana, oscuros en el centro y la periferia con un anillo más claro entre ambas zonas. La presencia de codocitos es frecuente en las talasemias, enfermedad de la HbS, HbC y enfermedad falciforme HbC y talasemia falciforme. También es típico encontrarla en paciente postesplenectomizado y en ocasiones en anemia ferropénica. Algunas veces la presencia de codocitos se debe a un artefacto por mala preparación del frotis sanguíneo como soplar el extendido recién preparado o cuando se realiza en climas húmedos.

Sí al examinar un extendido de sangre periférica se observan únicamente codocitos debe sospecharse que es artefacto.

Cuerpos de pappenheimer.
(SIDEROCITOS
objetivo 100X)



Son pequeñas inclusiones basófilas irregulares vistas con coloración de Wright, y gránulos sideróticos cuando se ven

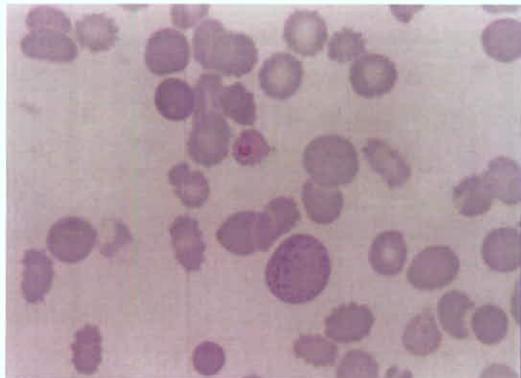
con coloración azul de Prusia, lo cual confirma que se trata de agregados de hierro férrico. La presencia de estas inclusiones se observa en pacientes que cursan con una dieritropoyesis marcada. (anemias hemolíticas, anemias megaloblásticas y leucemias, entre otras.)



Anillos de cabot.
frotis de paciente
con anemia
megaloblástica
(objetivo 100 x)

Son proteínas desnaturalizadas a consecuencia de la degeneración celular. Morfológicamente son finas estructuras de color púrpura en forma de anillos generalmente únicas, se diferencian de las formas anulares del Plasmodium por su mayor tamaño y la ausencia de la masa de cromatina.

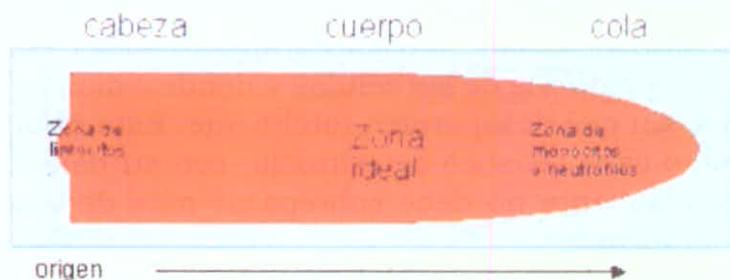
Punteado basófilo.
frotis de un
paciente con anemia
megaloblástica (
objetivo de 100 x)



Son gránulos azules finos, uniformemente distribuidos en los eritrocitos.

de los eritrocitos a partir del frotis de sangre ha sido uno de los estudios básicos de la anemia en el laboratorio. Wintrobe propuso ya hace muchos años el empleo de los llamados índices eritrocitarios secundarios, obtenidos por cálculos matemáticos a partir del recuento de eritrocitos, el hematocrito y la determinación de la concentración de la hemoglobina, no obstante la determinación de estos índices a partir de procedimientos manuales es engorroso, inexacto e impreciso, ya que el recuento manual de eritrocitos presenta un coeficiente de variación superior al 20% . La utilidad clínica de los índices eritrocitarios no se hizo efectiva hasta que Wallace Coulter en 1956³ introdujo el principio de la electroconductividad para el recuento rápido de las células sanguíneas en suspensión. Entre ellos, el más utilizado MCV volumen corpuscular medio, MCH hemoglobina corpuscular media, MCHC concentración corpuscular media de hemoglobina, RDW ó ADE ancho de distribución de los eritrocitos.

Después de realizar un frotis sanguíneo (cabeza, cuerpo y cola) y su coloración, se deben evaluar las características del extendido observado en 10X (coloración, distribución de células). Seleccionar las áreas óptimas para la evaluación de la morfología de los eritrocitos, en objetivo de 100X, buscar el área donde los eritrocitos apenas se toquen entre sí, presenten luz central (terminando en cuerpo y empezando la cola), evitar las áreas donde los eritrocitos se encuentren aplanados y sin luz central (cola del extendido) y evitar la cabeza del extendido ya que en esta área se observan de



tamaño más pequeño y sus características del núcleo y del citoplasma no se pueden observar.

INFORME CORRECTO DE LA MORFOLOGÍA ERITROCITARIA

Rastrear 10 campos microscópicos en diferentes áreas donde los eritrocitos estén uniformemente distribuidos en objetivo de 100X; siga el siguiente criterio, no es absoluto pero sirve como una guía para evaluar HIPOCROMÍA, POLICROMATOFILIA, ANISOCITOSIS Y POIQUILOCITOSIS

Los glóbulos rojos normales son Normocíticos Normocrómicos.

TAMAÑO DE LOS GLÓBULOS ROJOS

De acuerdo al tamaño de los glóbulos rojos se clasifican en :

Normocíticos	7 micras	VCM 86fl
Macroscíticos	8-11 micras	VCM Mayor de 97 fl
Microscíticos	menor de 6 micras	VCM Menor de 80 fl
Megalocitos	Mayor ó igual a 12 micras	VCM Mayor de 100 fl

ANISOCITOSIS

normal	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
0-5	6-15	16-30	MAYOR DE 30
rdw(%) 15.5	16.1-18	18.1-20	MAYOR 20.1

COLOR DE LOS ERITROCITOS

HIPOCROMÍA

NORMAL	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
0-5	6-15	16-30	MAYOR DE 30
hcm (pg) 29-33	28-30	25-27	MENOR DE 24

POLICROMATOFILIA

NORMAL	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
0-1.5	1.6-2.5	2.6-3.5	MAYOR DE 3.6
RETICULOCITOS	1.6-4.0%	4.1-6.0%	MAYOR DE 6%

INCLUSIONES ERITROCITARIAS

INCLUSIONES	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
CUERPOS DE HOWELL JOLLY	1-2	3-5	MÁS DE 6
PUNTEADO BASÓFILO	1-2	3-5	MÁS DE 6
CUERPOS DE PAPPENHEIMER	1-2	3-5	MÁS DE 6
ANILLOS DE CABOT	1-2	3-5	MÁS DE 6

POIQUILOCITOSIS

NORMAL	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
0-5	6-15	16-30	mayor de 30

VALORACIÓN DEL FENÓMENO DE ROULEAU

NORMAL	LIGERA +	MODERADA ++	MARCADA +++
-	1-4	6.15	mayor de 15

CAPÍTULO 5

LEUCOCITOS

GRANULOPOYESIS

La secuencia celular de los elementos granulocíticos morfológicamente identificables inicia con el Mieloblásto, el cual da origen al promielocito, este a mielocito, metamielocito, banda y finalmente segmentados (neutrófilo, eosinófilo y basófilo). El mielocito es el último elemento con capacidad mitótica, este proceso se da en la médula ósea, migrando después a la sangre periférica. En las etapas fisiológicas, el número de células que pasan de la médula ósea a la sangre periférica equivale al número de células que van de la sangre a los tejidos o que son destruidos por el sistema mononuclear fagocítico.

Las células granulopoyéticas constituyen un 60 a 65% de los componentes citológicos médulares.

Los neutrófilos en la médula ósea se pueden dividir en dos fondos comunes :

1. Fondo común mitótico
2. Fondo común postmitótico

El primero también llamado fondo común proliferante, incluye células con capacidad de síntesis de DNA como el Mieloblásto, promielocito, mielocito, estas células permanecen de 3-6 días en este fondo sufriendo de 4 a 5 divisiones celulares. El segundo conocido como fondo de almacenamiento, contiene de 15 a 20 veces la cantidad de células que circulan en la sangre periférica. No todos los neutrófilos que se encuentran en sangre periférica se encuentran en circulación; cerca de la mitad de la concentración total de neutrófilos se encuentran adheridos a la pared de los vasos sanguíneos o desplazándose

a lo largo de los mismos (fondo común marginal), el resto de los neutrófilos circulan libremente (fondo común circulante), por lo tanto cuando se toma una muestra de sangre para determinar el recuento de neutrófilos total que circulan libremente, éste no representa el total de neutrófilos sanguíneos sino sólo la mitad de ellos. (Hilman Dane 1998)

Se cree que los granulocitos permanecen en sangre periférica de 6-8 horas, luego migran a los pulmones, tracto gastrointestinal, hígado, bazo, etc. pudiéndose perder en la superficie de las mucosas; el destino exacto de los granulocitos es la muerte por agotamiento enzimático.

Cuando existe una enfermedad es posible encontrar algunas o todas las etapas morfológicas de este tipo de células en sangre periférica. En el ser humano el ejercicio intenso, la administración de adrenalina, disminuye la proporción de células marginales y por lo tanto se produce neutrofilia, denominada seudoneutrofilia, ya que no hay ningún cambio en el número total de neutrófilos en la sangre.

La cinética de los neutrófilos durante las infecciones representan un equilibrio entre los cambios de velocidad de su salida de la sangre y de su entrada a la misma desde la médula ósea. El estímulo inflamatorio aumenta la marginación con seudoneutropenia muy transitoria en algunos casos, se acelera la salida conforme lo hace la entrada. En casi todas las infecciones se acelera la entrada hasta que excede la salida, desarrollándose un acúmulo de la concentración de neutrófilos sanguíneos; cuando la infección es intensa puede haber demanda de gran número de neutrófilos en el sitio donde se localiza, de manera que queda agotado el compartimento de la médula ósea. La administración de glucocorticoides suprarrenales ocasiona neutrofilia, en este caso el desarrollo de la neutrofilia se debe a una disminución en la salida, pero se acompaña de un aumento transitorio en la entrada.

La neutropenia se puede relacionar con una disminución en

la producción, un recuento absoluto de neutrófilos de menos de $0,5 \times 10^3$ u/L. Es un trastorno que pone en peligro la vida del paciente ya que son susceptibles a adquirir infecciones bacterianas o micóticas.

FUNCIÓN DE LOS GRANULOCITOS .

Los granulocitos, (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), conjuntamente con los monocitos constituyen el grupo fagocitario.

Granulocitos neutrófilos: Su función es combatir de manera adecuada a un microorganismo invasor, los neutrófilos deben abandonar la circulación sanguínea, emigrar al área donde se inicia la infección y luego reconocer y fagocitar para destruir y digerir el invasor.

Granulocito eosinófilo: Se localizan principalmente en los tejidos, son producidos en la médula ósea, antes de pasar a los tejidos permanecen en sangre periférica unas horas. La eosinofilia es acompañada de reacciones inmunes y alérgicas. Los eosinófilos tienen función antihistamínica, ya que por medio de la inactivación de la histamina evitan la producción de edema y espasmo del músculo liso. Puede llevar a cabo fagocitosis, pero mucho menos que los neutrófilos. Los eosinófilos son capaces de fagocitar complejos antígeno-anticuerpo, así como de utilizar sus enzimas para destruir proteínas extrañas, como en la acción contra parásitos en la que realiza una fagocitosis frustrada debido a que son incapaces de ingerir el parásito, vierten el contenido de sus gránulos sobre éste y de esta manera se produce el ataque al helminto.

Otra función de los eosinófilos es su interacción en reacciones de hipersensibilidad tipo I (anafilaxis), en esta reacción se produce la degranulación masiva de mastocitos y basófilos, liberando mediadores de inflamación, que pueden llegar a producir una reacción anafiláctica con vasoconstricción y trastorno respiratorio. La regulación de la reacción de

hipersensibilidad tipo I es a través de la digestión de los gránulos liberados, por lo que es el tipo de reacción, en la que se ve también aumento de eosinófilos.

Con el descubrimiento de los receptores de membrana del eosinófilo para la IgE y para otras moléculas, el estudio de las proteínas granulares así como la capacidad para generar citoquinas y mediadores proinflamatorios, apuntan hacia papeles más relevantes en la fisiopatología que acompaña al proceso inflamatorio que se pone en marcha tras una reacción alérgica.

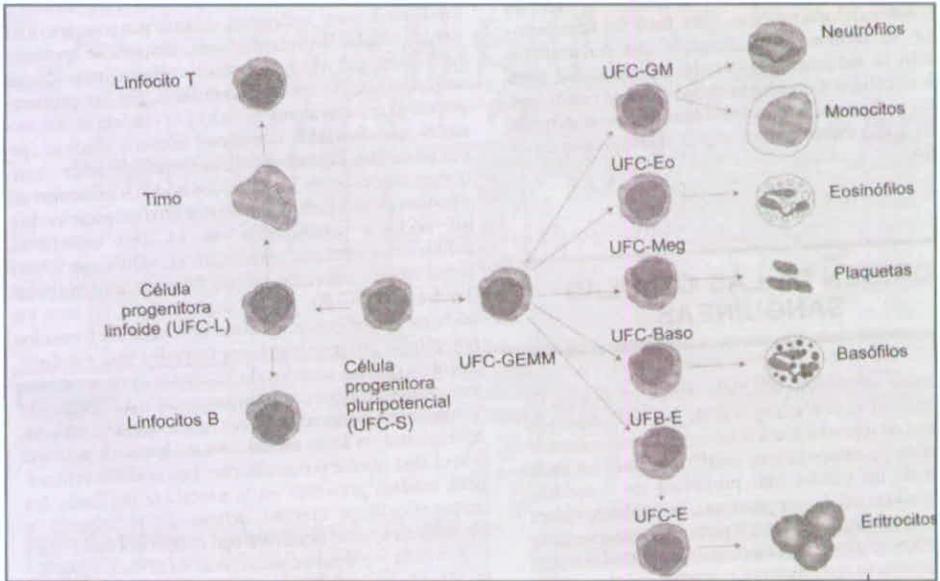
Granulocito basófilo: Participa en las reacciones de hipersensibilidad temprana, teniendo la función de degradar lípidos. Contiene gránulos de histamina y heparina. Bajo influencia de factores liberadores de histamina, los granulocitos basófilo liberan la histamina responsable de gran número de reacciones alérgicas.

La inmunoglobulina (IgE); por medio de su fragmento Fc se une a receptores específicos localizados en la membrana de los granulocitos basófilos, los cuales proveen todo el estímulo para la liberación de histamina de éstos, también liberan toda la heparina almacenada durante la hiperlipidemia después de la ingestión de alimentos, lo cual permite la degradación de triglicéridos en ácidos grasos y glicerol.

Los basófilos son denominados bolsas asesinas por su contenido de histamina y heparina, ya que la liberación aumentada de estos gránulos generan shock anafiláctico la cual podrían llevar hasta la muerte del paciente, debido a que hay una reacción de hipersensibilidad al estar en contacto con el antígeno.

Su solubilidad en agua hace que los gránulos celulares aparezcan escasos al frotis de sangre periférica, por lo tanto **un exceso en el lavado después de la coloración de Wright-Giemsa hacen que estos gránulos desaparezcan.**

DIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS SANGUÍNEAS A PARTIR DE UNA CÉLULA PROGENITORA PLURIPOTENCIAL

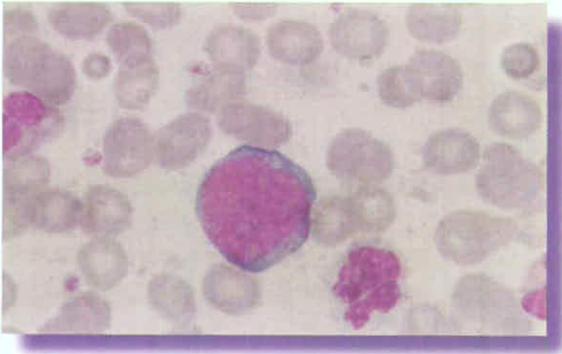


(Shirlyn B. Mckenzie)

La célula progenitora pluripotencial y la Unidad Formadora de Colonias de Granulocitos, Eritrocitos, Macrófagos y Megacariocitos (UFC.GEMM) tienen el potencial para diferenciarse en cualquiera de varios tipos celulares, por tanto se les denomina células progenitoras multipotenciales. Las progenitoras comprometidas, Unidad Formadora de Colonias Granulocitos y Macrófagos (UFC-GM), la Unidad Formadora de Colonias Eosinófilos (UFC- Eo), la Unidad Formadora de Colonias Megacariocítica (UFG-Meg), la Unidad Formadora de Basófilos (UFC-baso), la Unidad Formadora de Brotes Eritroides (UFB-E), la Unidad Formadora de Colonias Eritroides (UFC-E) se diferencia en un solo tipo celular (linaje único) excepto para la unidad formadora UFC-GM la cual es bipotencial. La UFB-E es más inmadura comparada a las UFC-E. las células maduras son aquellas que se encuentran en sangre periférica. Las células progenitoras linfoides (UFC-L) pueden diferenciarse ya sea en linfocitos B o T.

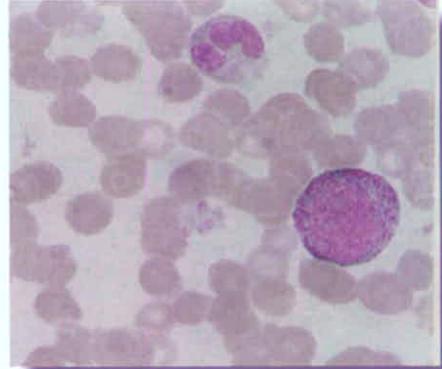
MORFOLOGÍA DE LA LÍNEA GRANULOCÍTICA .

Maduración del neutrófilo: Un neutrófilo se origina a partir de la célula progenitora UFC-GEM. Dicha célula es estimulada para diferenciarse hacia la célula UFC-GM por los factores de crecimiento FEC-GM, IL-3 Y FEC-G éstos promueven de manera selectiva la proliferación, diferenciación y maduración de los neutrófilos a partir de la UFC-GM. Las células granulocíticas pasan por seis etapas morfológicamente identificables en el proceso de maduración, desde la célula progenitora unipotencial hasta el neutrófilo segmentado funcional.



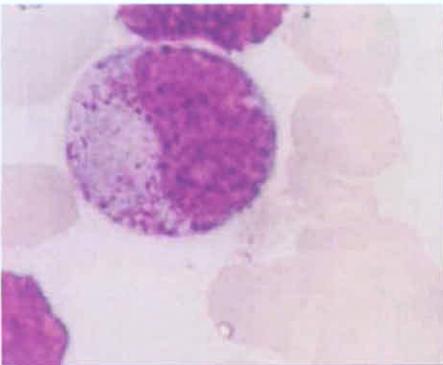
Mieloblásto.

Primera célula reconocible en la serie granulocítica. Tamaño de 12 a 20 μ , posee un núcleo grande esférico, su cromatina es reticular que se tiñe de manera regular, no hay condensación de la cromatina, posee de 1 a 5 nucléolos, con una relación núcleo citoplasma 5/1 (núcleo 5/ citoplasma 1). El citoplasma se tiñe de color azul oscuro en la periferia y de azul más claro hacia el núcleo (halo perinuclear claro el aparato de Golgi), normalmente no presenta granulaciones, aunque si las hay son escasas, dependiendo de la etapa de desarrollo (mieloblásto tipo I o tipo II). Dichas células pueden tener tinción positiva a la peroxidasa, aún cuando los gránulos no sean notorios; cuando es positiva la peroxidasa ayuda a diferenciar los Mieloblástos de los Linfoblástos.



Promielocito.

Es la célula de mayores dimensiones en la línea granulocítica con un tamaño 20-25 μ , se diferencian las granulaciones inespecíficas, gránulos de color negro azulado que contienen una membrana fosfolípida, que se tiñe con la tinción lipófila Sudan negro B, además los gránulos poseen varias enzimas y otras sustancias tales como: fosfatasa ácida mieloperoxidasa, Hidrolasas ácidas, entre otras. Su núcleo es redondeado y de posición excéntrica con presencia de varios nucléolos, la cromatina es reticular menos basófila que el Mieloblasto, la relación núcleo citoplasma es de 5/1, tanto el núcleo como el citoplasma poseen gránulos inespecíficos, su citoplasma es azul intenso debido a la presencia de gránulos inespecíficos.



Mielocito.

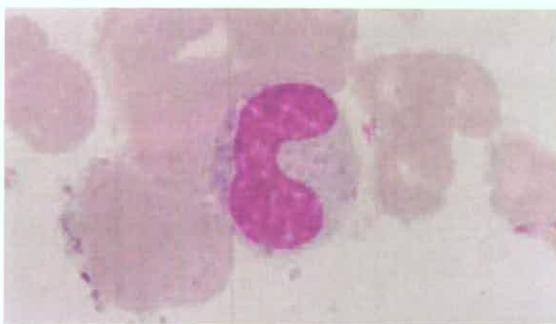
Su tamaño es de 14-20 μ , núcleo esférico excéntrico, (generalmente su núcleo se dispone un poco más de la mitad de la célula) con cromatina condensada en grumos, escasos o ausencia de nucléolos, en esta etapa se inicia las

formación de gránulos específicos (eosinófilos, basófilos y neutrófilos), la cual le da un aspecto rosado o acidófilo para neutrófilos y naranja para eosinófilos, sin embargo todavía se observan algunos gránulos inespecíficos pero su síntesis ha concluido. Estos gránulos contienen fosfatasa alcalina y lisozimas, pero no fosfatasa ácida ni peroxidasa. La relación núcleo citoplasma es escasa(2/1)



Metamielocito o juvenil

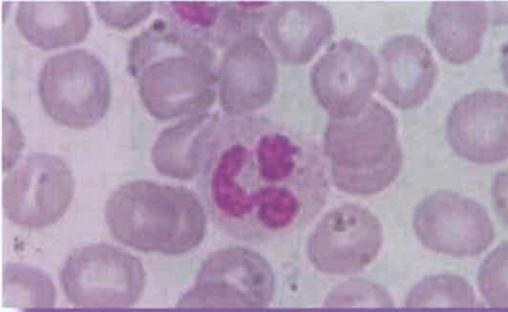
Su tamaño es de 12 a 18 μ , presenta un núcleo excéntrico y de forma arriñonada, (generalmente su núcleo se dispone un poco más de la mitad de la célula) con cromatina condensada, no hay nucléolos visibles, su citoplasma es de color rosa, con una tonalidad ligeramente azulada, con predominio de gránulos específicos, en esta etapa la célula ha perdido su capacidad mitótica.



Granulocito en Banda o Cayado.

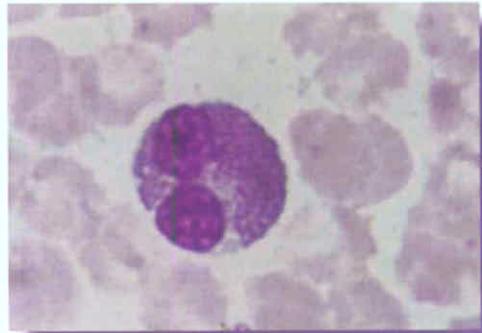
Núcleo en forma de salchicha o cayado, con un tamaño de 10 a 12 μ , cromatina condensada y sin segmentación, citoplasma abundante de color rosado contiene gránulos específicos finos en los neutrófilos.

Cuando hay duda en la clasificación de un metamielocito y una banda, trace una línea imaginaria en la bifurcación del núcleo de la célula, si al atravesarla coge la hendidura del núcleo, se clasifica como banda y si no la coge se clasifica como metamielocito (ver diferencias entre metamielocitos y bandas pag 85).



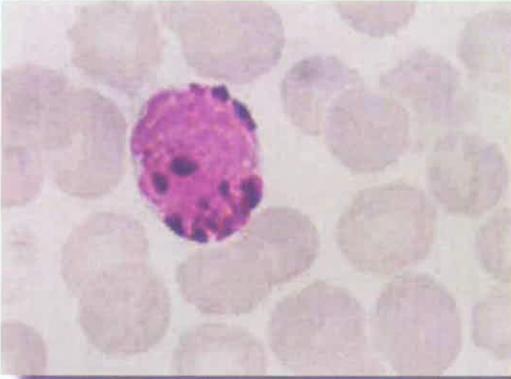
**Polimorfo Nuclear
Neutrófilo.**

Aunque es de tamaño semejante a la banda, (10-12 μ) es reconocido por la segmentación del núcleo, con dos a cuatro lóbulos unidos por un filamento de cromatina delgado, su cromatina está condensada y se tiñe de color morado oscuro. Cuando hay duda en la clasificación entre banda y neutrófilo debe considerarse el más maduro (neutrófilo). Otra dificultad de la clasificación de la etapa segmentada es determinar la posibilidad de que el istmo que conecta a los lóbulos entre sí sea un filamento o una banda. Por lo general se acepta que si el filamento de conexión es lo suficientemente ancho para que pueda discernirse un patrón de cromatina, entonces la célula se clasifica como banda, si no hay un patrón visible de cromatina en el istmo conectante, se trata de un filamento y por tanto, la célula se clasifica como segmentado.



**Polimorfo Nuclear
Eosinófilo.**

Con un tamaño de 10 a 12 μ , el núcleo no tiene más de 3 lóbulos de cromatina condensada y el citoplasma esta completamente lleno de gránulos de color anaranjado.

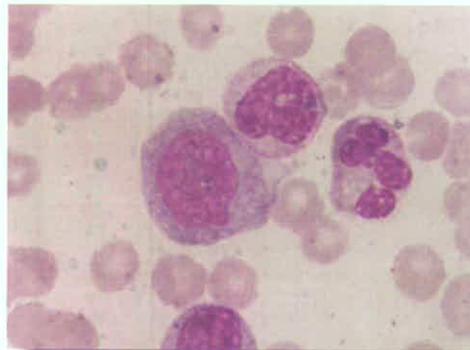


**Polimorfo Nuclear
Basófilo.**

Son los granulocitos más pequeños, presentan una relación N/C elevada, las distintas etapas de maduración del basófilo se caracterizan por formación de muescas y segmentación gradual del núcleo, posee gránulos gruesos de color azul o morado intenso, estos gránulos son positivos para peroxidasa y Ácido Peryódico Schiff (PAS).

ALTERACIONES MAS FRECUENTES DE LOS NEUTRÓFILOS.

**Desviación a la
izquierda.**



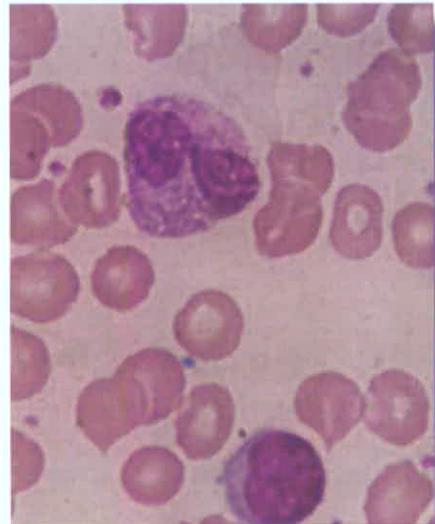
Aumento en la proporción de neutrófilos en banda(50% ó más), en el torrente sanguíneo. En procesos infecciosos se

estimula la médula ósea y envía a sangre periférica las células más maduras agotándose éstas, envía las células que siguen en su proceso de maduración, las bandas.



**Macropolicito o
Polisegmentado**

Son neutrófilos más grandes que lo normal con hipersegmentación del núcleo (5 o más lóbulos). Son frecuentemente encontrados en deficiencia de vitamina B12 o ácido fólico, también en enfermedades crónicas, enfermedades mieloproliferativas, en enfermedades de forma hereditaria homocigoto y heterocigoto. La presencia de polisegmentados es denominada desviación a la derecha.

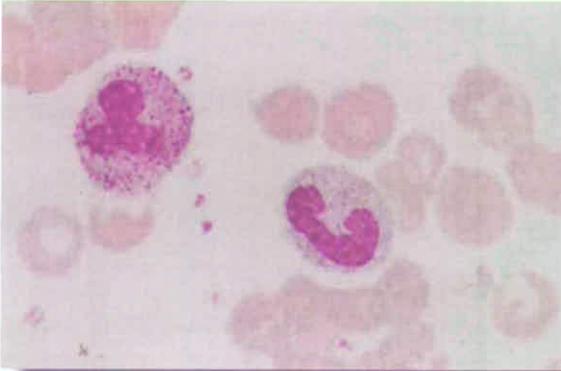


**Anomalia de
Pelger - Huet.**

Es heredada con carácter autosómico dominante, se

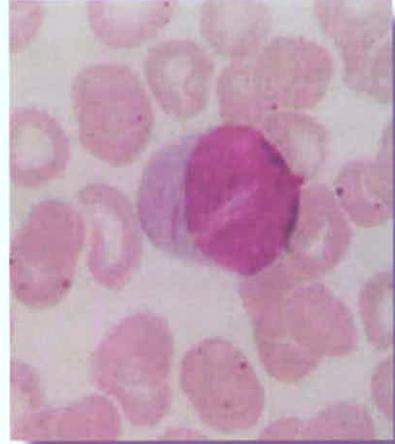
caracteriza por lobulaciones incompletas del núcleo de los neutrófilos y los eosinófilos, es un defecto en la segmentación nuclear, que da lugar a que la mayoría de estas células tengan un núcleo bilobulado y cromatina más escasa; los lóbulos permanecen unidos por un puente más delgado; en la mayoría de estos pacientes no se ha encontrado trastornos en la funcionalidad de los neutrófilos ni manifestaciones clínicas, aunque en algunos casos se han visto defectos en la quimiotaxis.

PSEUDO PELGER - HUET. Esta es una anomalía adquirida, aparecen en infecciones, en leucemias mieloides crónicas, síndromes mielodisplásicos, se manifiesta por una segmentación limitada de los neutrófilos.



Granulaciones tóxicas.

En algunos pacientes los gránulos de los neutrófilos parecen más grandes de lo normal y se tiñen de color más oscuro, pueden encontrarse en pacientes con infecciones severas o intoxicaciones, es posible detectarlos desde el estadio de metamielocito, generalmente las granulaciones tóxicas se encuentran asociados a desviación a la izquierda y vacuolización de los neutrófilos y monocitos.



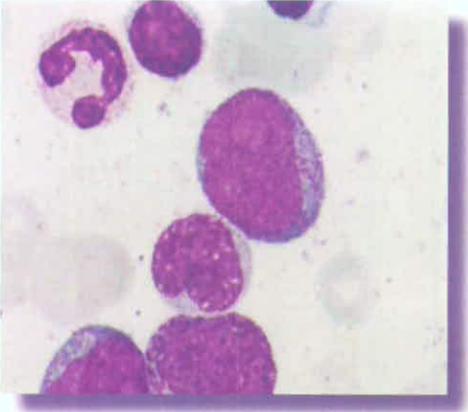
Cuerpos de Auer.

Son gránulos azurófilos alargados o en forma de bastón encontrados en el citoplasma de los mieloblástos y contienen peroxidasa y otras enzimas; son el resultado anormal de los gránulos inespecíficos. Es un indicador diagnóstico para la diferenciación de las leucemias mieloides.

MORFOLOGÍA DE LA LÍNEA MONOCÍTICA.

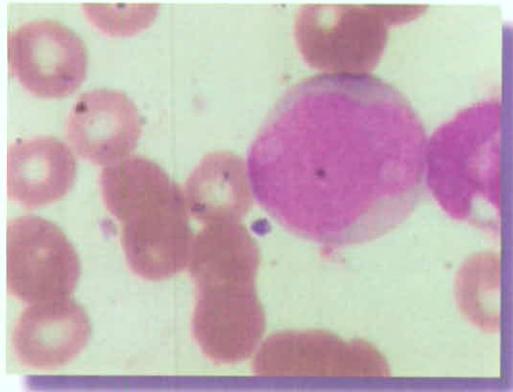
Los monocitos se originan en la médula ósea, después de la diferenciación en Monoblásto y promonocito. Los macrófagos son monocitos distribuidos fuera de la sangre en todo el cuerpo especialmente en hígado, bazo, pulmones, nódulos linfáticos, médula ósea, tejido conectivo y cavidades serosas. Los monocitos fagocitan bacterias, contienen grandes cantidades de lipasa y por tanto pueden degradar bacterias con cápsula lipídica (tuberculosis y lepra).

El proceso de maduración dura aproximadamente entre 16-20 horas en médula ósea, éstos cuando terminan su proceso de maduración abandonan la médula ósea, llegan a sangre periférica donde permanecen poco tiempo, pasan a los tejidos, se transforman en macrófagos y son denominados fagocitos mononucleares.



Monoblásto.

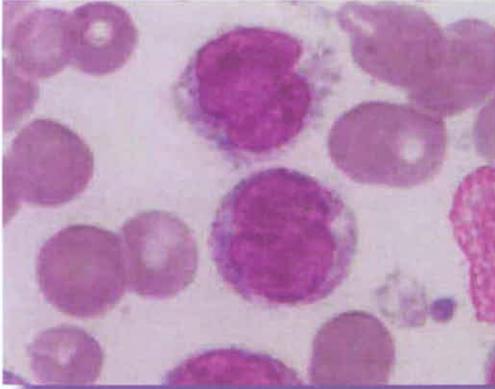
Es la célula más inmadura distinguible de esta línea en médula ósea; tamaño mayor de $20\ \mu$ morfológicamente es muy similar al Mieloblásto, con la diferencia que su cromatina se tiñe más claro con la coloración de Romanowsky, para la diferenciación es necesario realizar reacciones citoquímicas y citometría de flujo. El Monoblásto tiene actividad estearasa inespecífica demostrada por la prueba alfa naftil butirato o naftol AS-D acetato. Su citoplasma es azul grisáceo sin gránulos, con núcleo redondo, cromatina fina, presencia de nucléolos, además presenta invaginaciones.



Promonocito

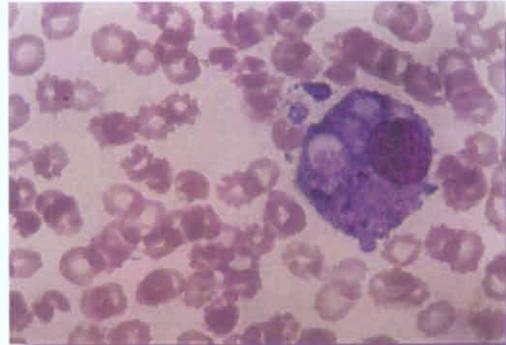
Es una forma intermedia entre el Monoblásto y el monocito, tamaño de $14-20\ \mu$, citoplasma azul grisáceo, con finos gránulos azurófilos, la forma del núcleo es irregular, con muescas y una fina red de cromatina, se observan nucléolos y la relación núcleo citoplasma es más amplia. Esta célula posee

peroxidasa inespecífica y fosfatasa alcalina leucocitaria.



Monocito

Es la célula más grande encontrada en sangre periférica, (15-30 μ), su morfología es variable, dependiendo de su actividad, el citoplasma es azul grisáceo con gran cantidad de gránulos azurófilos, esta célula se tiñe más claro que el resto de las células sanguíneas, su núcleo es irregular, con cromatina de aspecto cerebriforme, no posee nucléolos.



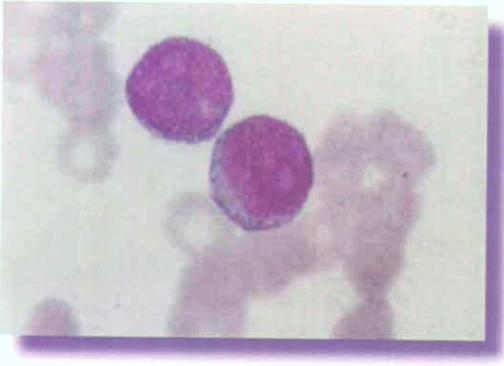
Macrófago

Célula con marcada actividad fagocítica, se dividen en dos grupos: polimorfonucleares y mononucleares. Tamaño 20-25 μ El núcleo es grande y ovalado, en el citoplasma de esta célula posee numerosas inclusiones citoplasmáticas, normalmente no se encuentra en sangre periférica, pero en procesos infecciosos severos pueden encontrarse.

MORFOLOGÍA DE LA LÍNEA LINFOCITICA.

Se desarrollan a partir de una célula madre en médula ósea, algunos se originan en los nódulos linfáticos donde permanecen largos períodos, salen a sangre periférica y regresan a los órganos linfáticos. El mayor número de linfocitos corresponden a linfocitos T y en menor proporción los linfocitos B; morfológicamente son indistinguibles es necesario realizar pruebas especiales para su diferenciación.

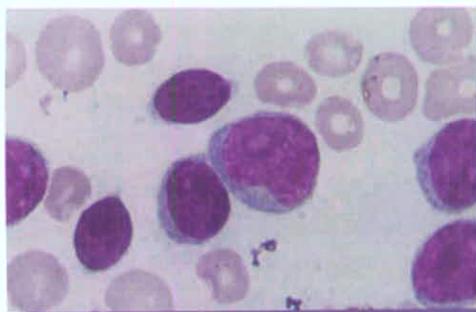
Los linfocitos T participan en la inmunidad celular y los linfocitos B en la inmunidad humoral, los linfocitos T ayudan a los linfocitos B a producir anticuerpos y los B pueden controlar la actividad inmunológica de los linfocitos T.



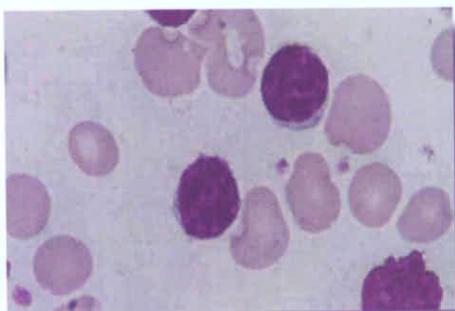
Linfoblásto

Célula con un tamaño de 14 a 18 μ La relación núcleo citoplasma es escasa, cromatina nuclear reticular fina se aprecia de 1 a 2 nucléolos bien definidos de color azul pálido, citoplasma agranular de color azul oscuro y más escaso que los otros blastos. Son indistinguibles con las otras líneas celulares, se necesita realizar citometría de flujo o reacciones citoquímicas para diferenciarlos; es positivo para fosfatasa ácida, algunas veces presentan depósitos de glucógeno, tanto los linfocitos T como B poseen una polimerasa de DNA, desoxinucleotil-trasferasa terminal (TdT) considerándose un marcador específico para la línea linfoide inmadura.

Prolinfocito



Es más pequeño que el Linfoblásto (12-16 μ) posee mayor citoplasma que el Linfoblásto de color azul celeste, la cromatina se observa con ligeros grumos con presencia de un nucléolo muy evidente de color azul claro.

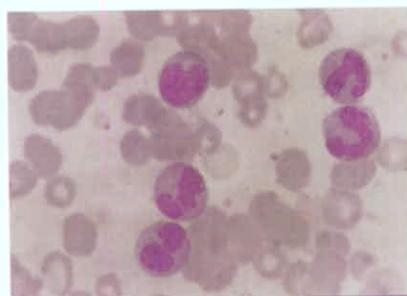


Linfocito maduro

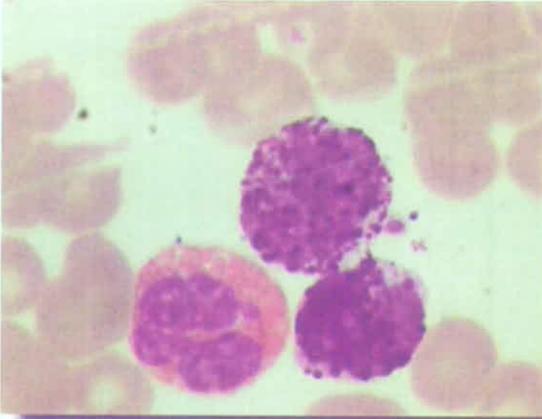
Los linfocitos en sangre periférica pueden ser grandes, medianos y pequeños, predominando los pequeños con tamaño de 7 μ y son denominados células guía para evaluar el tamaño de los eritrocitos; su núcleo es excéntrico con cromatina condensada en grumos, su citoplasma es escaso y de color azul claro.

CÉLULAS NORMALES ENCONTRADAS EN SANGRE PERIFÉRICA

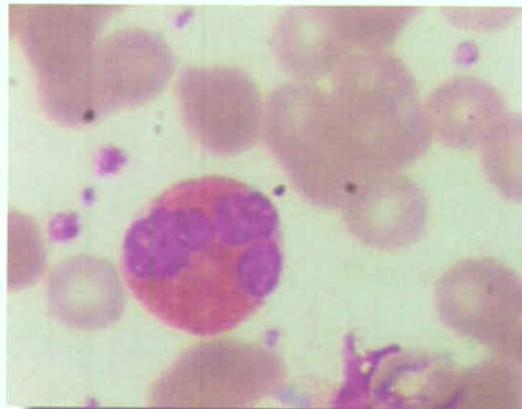
Granulocito segmentado (neutrófilo) Sangre periférica Objetivo de 100X.



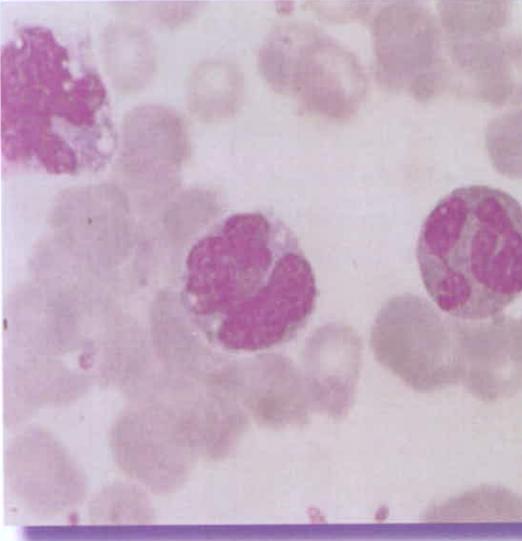
Es la célula sanguínea más granular. Los gránulos que en el estadio inicial pueden ser de color púrpura, se diferencian más tarde en basófilos con gránulos grandes de color azul negro, eosinófilos con gránulos grandes de color rojo ladrillo ó neutrófilos con gránulos de color rosa ó lila. Se caracteriza por la segmentación del núcleo en lóbulos conectados por delgados filamentos de membrana nuclear.



**Granulocito
basófilo** (gránulos
grandes de color
azul negro objetivo
100X)



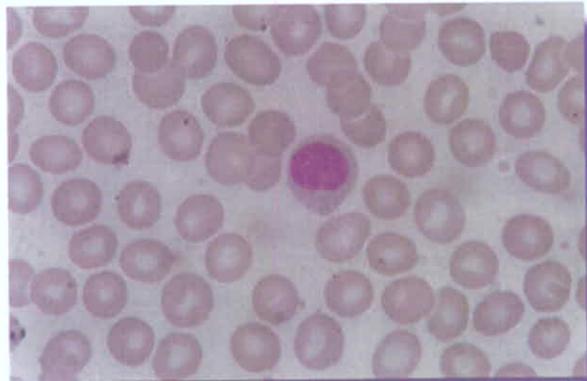
**Granulocito
eosinófilo** (gránulos
grandes de color
rojo ladrillo objetivo
100x)



Monocito
(objetivo 100x)

El monocito adulto se identifica fácilmente en los extendidos finos correctamente teñidos, pero en los que son gruesos o están demasiado teñidos desaparecen las características; un rasgo muy útil es que el núcleo monocítico se tiñe más débilmente que el de las células similares.

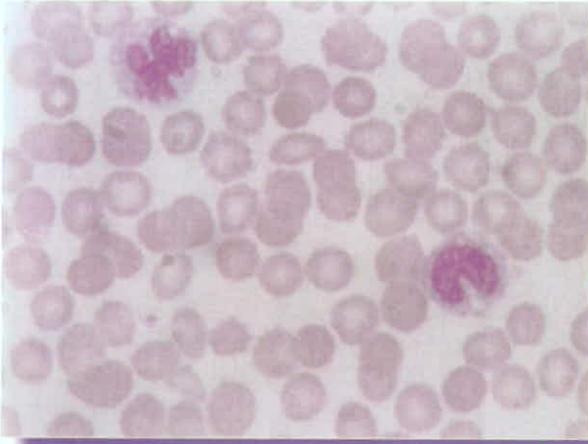
El núcleo presenta hendiduras o plegamientos sobre sí mismo y el citoplasma es de color gris claro ó gris azulado con gránulo.



Linfocito .
(objetivo 100 X)

De tamaño variable principalmente en función de la cantidad del citoplasma es posible que contenga gránulos azurófilos

grandes, el citoplasma de color azul celeste es característico, la cromatina es tosca y su núcleo presenta hendiduras.

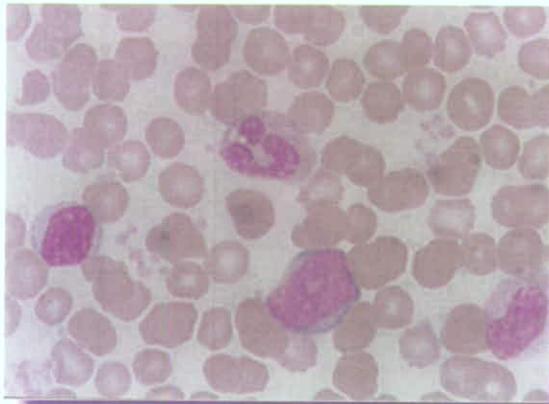


**Monocito,
neutrófilo en
banda o cayado**

El núcleo de la banda se condensa y se adelgaza tomando una forma de C ó de S, en los eosinófilos y los basófilos es más difícil determinar la forma del núcleo a causa de los gránulos.

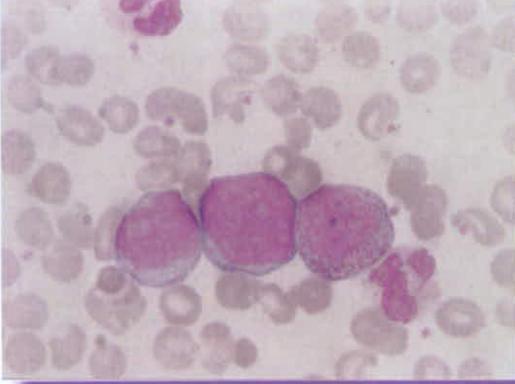
ALTERACIONES MORFOLÓGICAS DE LOS LEUCOCITOS EN SAGRE PERIFÉRICA.

**Blasto y
metamielocito**
(objetivo 100 x)



La célula del centro es un BLASTO (Mieloblásto) obsérvese la presencia de nucléolos y su cromatina delgada semejando una red o malla, un citoplasma azul intenso sin la presencia de gránulos.

A la derecha un METAMIELOCITO donde su núcleo presenta una invaginación, contiene gránulos específicos en el citoplasma mostrando un color entre rosa y grisáceo. Las células del centro hacia arriba un neutrófilo maduro y a la izquierda un linfocito maduro.

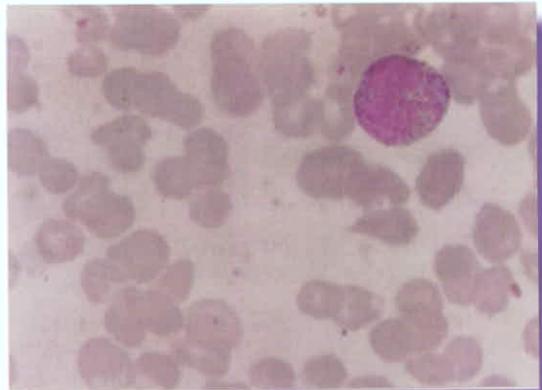


Extendido de sangre periférica de un paciente con leucemia mieloide
Objetivo 100 X)

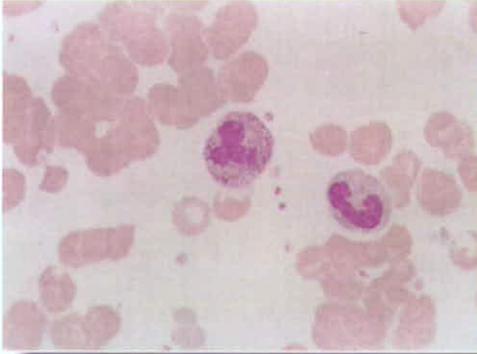
La célula de la derecha es un PROMIELOCITO, obsérvese la presencia de gránulos inespecíficos de color azul intenso, su citoplasma azul intenso y la presencia de nucléolos; se distingue de los Mieloblásto fundamentalmente por la existencia de los gránulos y de las células más maduras por la gran cantidad de estos, a veces los gránulos son grandes y redondos pero suelen ser finos e irregulares.

La célula del centro y la de la izquierda son MieloblástoS. Obsérvese la presencia de Nucléolos y citoplasma azul intenso sin presencia de gránulos.

Mielocito
(objetivo 100 X9

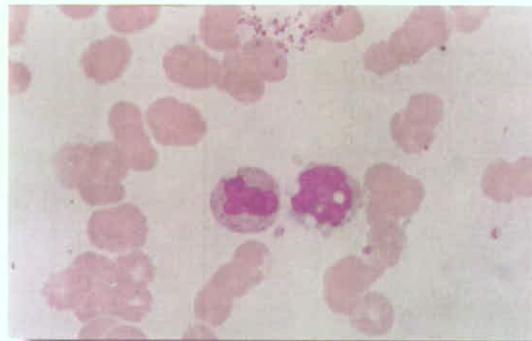


Es la célula más granulada, presenta gránulos inespecíficos y específicos; los gránulos que en el estadio inicial pueden ser de color púrpura, se diferencian más tarde en basófilos, eosinófilos y neutrófilos.



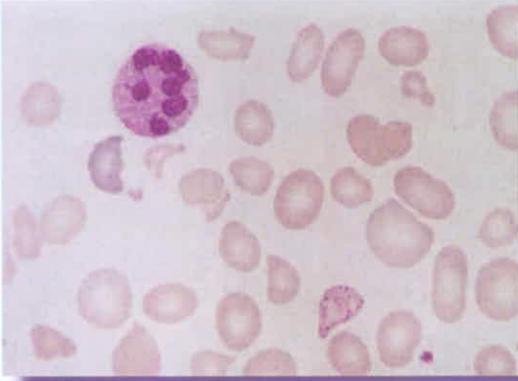
Neutrófilo con granulaciones tóxicas
(objetivo 100 x)

Los gránulos específicos de los neutrófilos son finos y de color lila, mientras que las granulaciones de las células más inmaduras son gruesas y moradas ó azul intenso. En las infecciones graves y en otras situaciones tóxicas los neutrófilos metamielocitos y bandas pueden contener gránulos toscos y de color morado, que son gránulos inespecíficos debido a la hiperactividad de la médula ósea, que los envía a sangre periférica, sin completar su proceso de maduración.



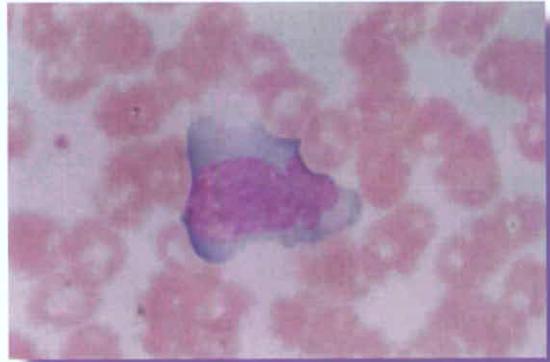
Monocito vacuolado
(Objetivo 100 X)

Las granulaciones tóxicas se acompañan a veces de vacuolización de citoplasma de monocitos y neutrófilos pero ello no es un índice de bacteremia. Obsérvese los espacios claros que presenta el monocito, estas son las denominadas vacuolas.



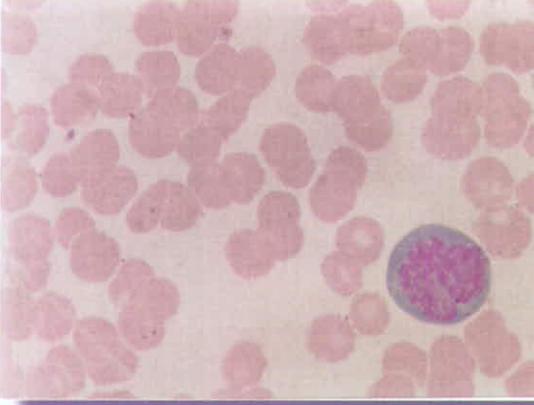
Polisegmentado o macropolicito

Extendido de sangre periférica de un paciente con anemia megaloblástica. Obsérvese punteado basófilo, policromatofilia diseritropoyesis.



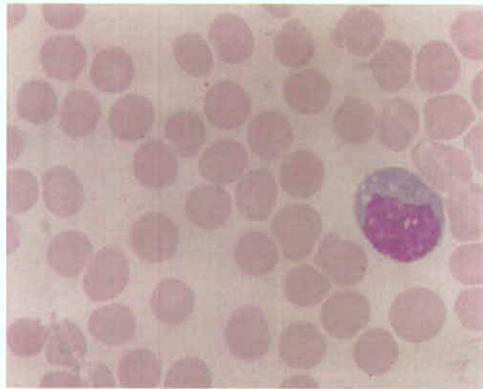
Linfocito atípico

Exhiben una variedad de características morfológicas y por lo regular tienen formas extrañas, éstas son células más grandes que los linfocitos normales, con aumento en la basofilia del citoplasma, lo mismo que los gránulos azurófilos y en ocasiones presentan vacuolas tanto en el núcleo como en el citoplasma, en algunas ocasiones presentan prolongaciones citoplasmáticas con basofilia en la periferia, el núcleo puede disponerse en forma alargada, redondo, estirado o irregular, la característica de la cromatina puede ser cerebriforme, estas células también son denominadas: linfocito reactivo, activado, transformado y pueden verse algunos en sangre periférica de personas normales; generalmente se encuentran aumentados en procesos vírales por tal motivo también son denominados virocitos



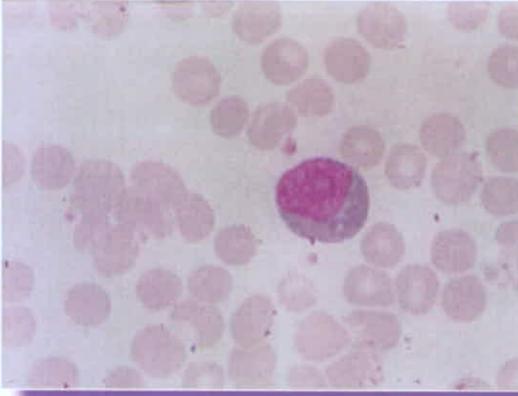
Linfocito atípico
(objetivo 100 X)

Este linfocito tiene cantidades elevadas de citoplasma azul oscuro lo que indica reactividad su núcleo es de aspecto cerebriforme. No tiene características definidas de linfocito ni Monocito por tal motivo se clasifica como linfocito atípico. Algunos autores lo denominan morocelos atípicos.



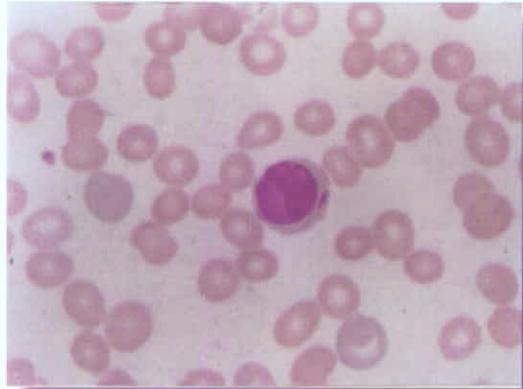
Linfocito atípico
(objetivo de 100 x)

Es una célula que no presenta características definidas. Es otra variedad de linfocito atípico.



Linfocito atípico
(objetivo de 100 x)

Obsérvese su citoplasma azul intenso, su cromatina bien condensada con presencia de nucléolos, la cual no puede definirse como una célula madura, por tal motivo se clasifica como linfocito atípico.



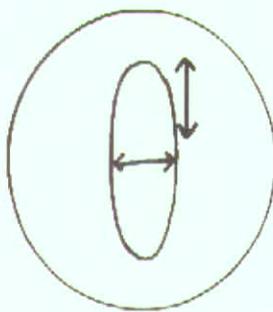
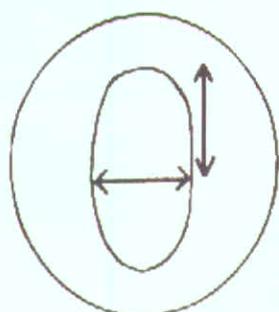
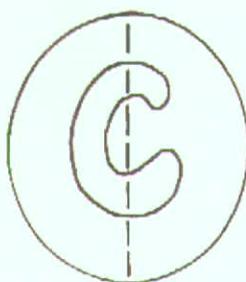
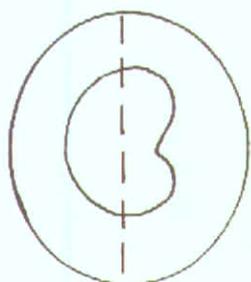
**Mieloblásto con
Baston de Auer**

Cuerpos de Auer o bastón de Auer se encuentran por lo general en la zona del centrosoma y en hendiduras nucleares. Aunque habitualmente tienen forma de bastón pueden ser ovaladas e incluso redondas, en la preparación coloreada con Wright aparecen como bastones de color púrpura de 1-6 micras de longitud, citoquímicamente son peroxidasa positiva, sudanófilos positivo etc. Solo se encuentran en los blastos de origen mieloide.

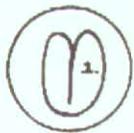
DIFERENCIAS ENTRE METAMIELOCITOS Y BANDAS.

METAMIELOCITO

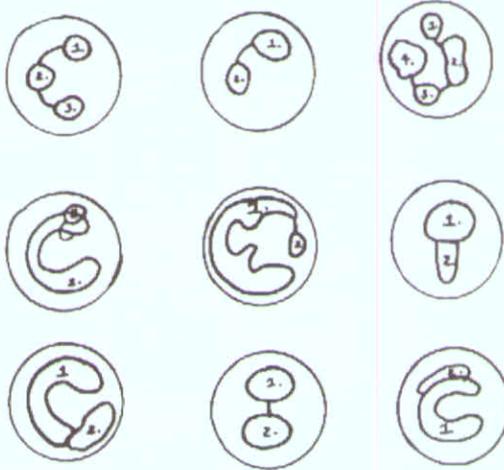
BANDA



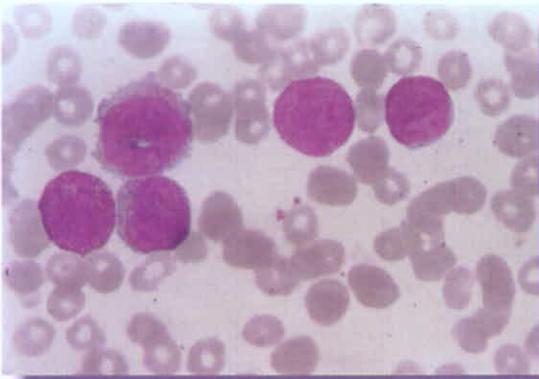
NEUTROFILOS EN BANDA



NEUTROFILOS SEGMENTADOS



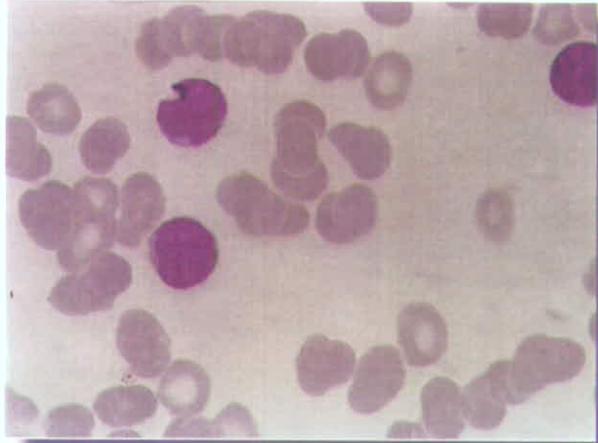
TRASTORNOS MIELOPROLIFERATIVOS Y LINFOPROLIFERATIVOS



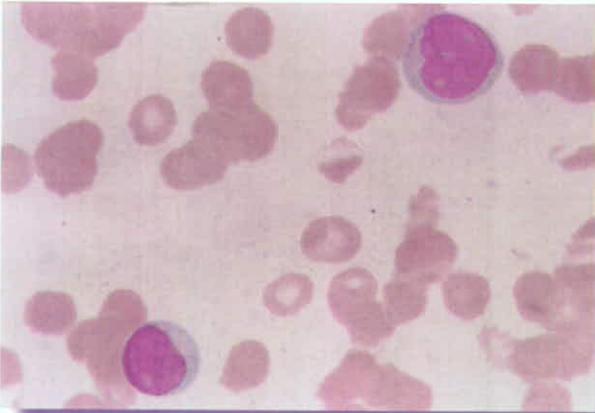
Extendido de sangre periférica en un paciente con leucemia mieloide aguda promielocítica m3 (objetivo 100 X)

La mayoría de las células tienen un citoplasmas granular, los gránulos se tiñen variablemente de rosa, rojo o púrpura, los cuerpos de Auer son frecuentes.

**Extendido de
sangre periférica
en un paciente
con leucemia l1**
(objetivo 100 X)



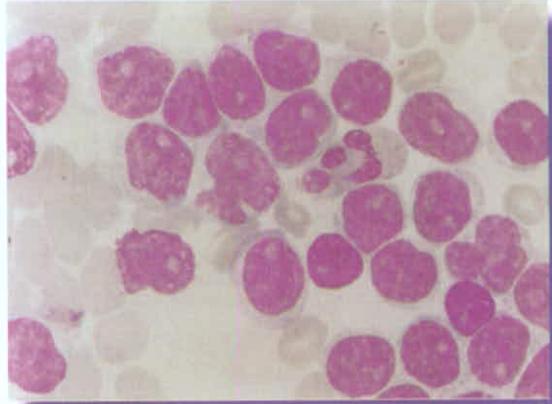
La célula predominante es pequeña, presenta poca variación en el tamaño, la forma del núcleo es regular, ocasionalmente hendido, nucléolos poco evidentes y citoplasma escaso y basófilo.



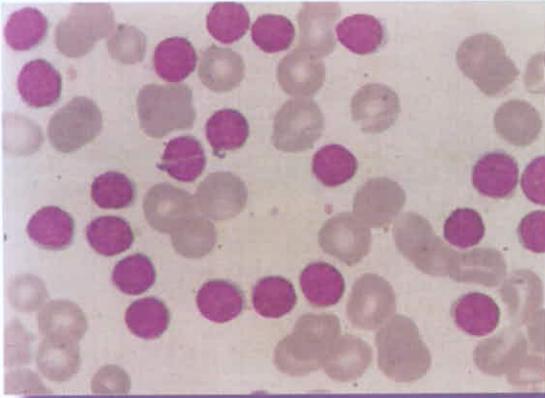
**Extendido de
sangre periférica
en un paciente
con leucemia
m1** (objetivo 100
X)

La célula predominante es un blasto no granular, con cromatina fina que semeja una malla, se observan uno ó más nucléolos el citoplasma es escaso y basófilo, mieloperoxidasa positivo, sudanófilos positiva y estearasas inespecíficas negativas.

**Extendido de
sangre periférica
en un paciente
con leucemia
prolinfocítica
crónica . llc**
(objetivo 100 X)



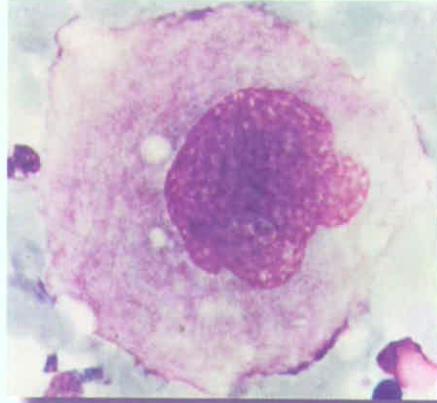
Elevada leucocitosis a expensas de células linfoides con nucléolos prominentes (prolinfocitos). Estas células se caracterizan por tener mayor tamaño que el linfocito de la leucemia linfocítica crónica LLC; moderada basofilia citoplasmática, cromatina condensada y nucléolo central prominente.



**Extendido de
sangre periférica
en un paciente
con leucemia
linfocítica crónica**
(objetivo 100 X)

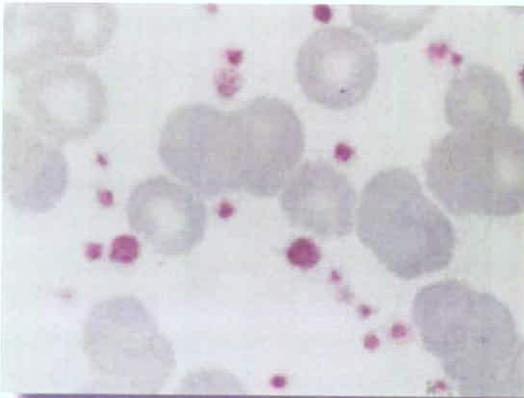
El dato más característico es la elevada leucocitosis con linfocitosis superior al 75%, los linfocitos son de pequeño tamaño, con núcleo redondo, cromatina condensada en grumos y escaso citoplasma, puede haber un pequeño porcentaje de otros linfocitos y prolinfocitos.

Promegacariocito. Es más grande que el megacarioblasto, (20-80 μ), se caracteriza por la presencia de gránulos azurófilos y es debido al proceso de poliploidía, núcleo lobulado con la presencia de 2 a 4 nucléolos, su cromatina tiene aspecto de red, el citoplasma es moderadamente basófilo con presencia de pocos gránulos.



Megacariocito. Médula ósea objetivo 100x

Es la células más grande encontrada en médula ósea (20-80 μ), el núcleo es multilobulado y a veces los lóbulos se disponen separadamente, con cromatina densa, citoplasma rosado con una ligera basofilia en la periferia y gránulos de color rojo o rojo azulado.



Plaquetas o trombocitos

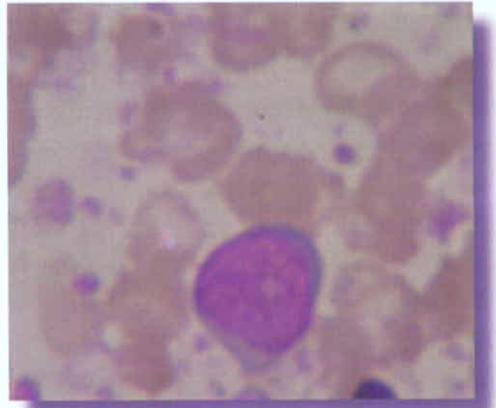
Su tamaño es de 2 a 5 μ con bordes irregulares debido al inicio de la actividad plaquetaria. Morfológicamente consta de:

hialómero homogéneo o ligeramente basófilo (parte clara de la plaqueta) granulómero (parte granular de la plaqueta) color rojo púrpura.

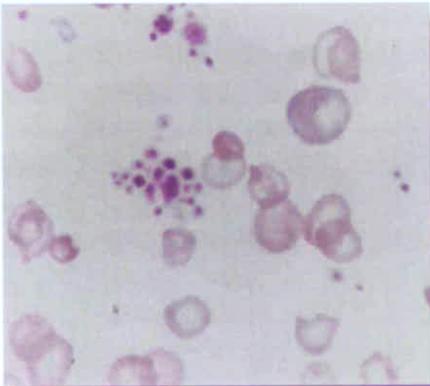
Los granúlos son granúlos alfa que contienen proteínas participando en el proceso de la coagulación (factores trombocíticos, fibrinógeno, factor de Von-Willebrand), los gránulos densos con calcio, fosfato, ADP, ATP y serotonina y los gránulos lisosómicos que contienen fosfatasa ácida, beta galactosidasa y otras enzimas.

ALTERACIONES DE LAS PLAQUETAS

Anisocitosis plaquetaria



Presencia de plaquetas de diferente tamaño pueden ser grande mayor de $5\ \mu$ o gigantes semejante al tamaño de un linfocito.



Agregación plaquetaria.

Presencia de plaquetas agregadas en el frotis de sangre periférica debido a trastornos en los procesos de agregación o adhesión plaquetaria o por dificultad en la toma de la muestra (presencia de coágulos).

En un frotis preparado sin anticoagulante las plaquetas se encuentran agregadas, ya que la agregación es una de sus funciones; si el frotis es preparado a partir de una muestra tomada con EDTA las plaquetas deben encontrarse en el frotis de sangre periférica en forma dispersa, si se presenta agregados plaquetarios puede ser debido a trastornos de las plaquetas o a una mala toma de la muestra.

Pseudotrombocitopenia

Este término se refiere a la presencia de plaquetas en sangre periférica, falsamente inferior con respecto al valor normal. Una pseudotrombocitopenia puede presentarse por una muestra tomada inadecuadamente (cuando se forman coágulos o microcoágulos en el tubo), así como por la dilución de una muestra obtenida del brazo de un paciente que esta recibiendo líquidos (lo cual sospechamos por la disminución del recuento de leucocitos y eritrocitos), errores similares se obtienen por una agitación u homogeneización inadecuada de la muestra.

También por la agregación y aglutinación de plaquetas como un fenómeno *in vitro* que ocurre en presencia del anticoagulante EDTA, en estos pacientes el recuento de plaquetas esta disminuido, ya que los equipos electrónicos no pueden cuantificar las plaquetas correctamente por la formación de microagregados, en este caso la pseudotrombocitopenia es un fenómeno debido a la presencia en algunos pacientes de anticuerpos que reconocen antígenos plaquetarios, los cuales son modificados o expuestos por la acción combinada del EDTA y la baja temperatura ambiental, sobre las glicoproteínas de la membrana plaquetaria, estos anticuerpos se comportan como aglutininas frías por ser reactivos solo a temperatura ambiente y no a 37 grados C.

La incidencia para la población en general es del 1%, los anticuerpos encontrados han sido de tipo Ig M, IgG, e IgA, estos anticuerpos van dirigidos hacia el complejo glicoproteico IIb/IIIa de la membrana plaquetaria.

Cómo descartar una pseudotrombocitopenia y realizar un reporte correcto?

La primera medida es la observación microscópica del extendido de sangre periférica cuando hay recuento de plaquetas bajas, si se observan agregados plaquetarios, debe repetirse la toma de la muestra con EDTA y anticoagulantes diferentes, como la heparina, Citrato de Sodio al 3,8%, incubando la muestra de inmediato a 37°C, con el fin de impedir la acción de los anticuerpos fríos.

Otra forma es tomar la muestra sin anticoagulante y realizar una dilución con oxalato de amonio al 1% y realizar conteo manual. Es importante que al paciente que se le ha identificado que presenta este fenómeno, se le informe e instruya de su condición para que en futuras ocasiones de cuantificación de sus plaquetas, facilite el procedimiento de toma de sus muestras, agilizando la determinación y así ganar tiempo y no repetir la prueba por su pseudotrombocitopenia.

COMO REALIZAR UN RECUESTO DE PLAQUETAS EN UN FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA

Método indirecto para el recuento de plaquetas

Para determinar estimativamente el total de las plaquetas/
mm³

Cuente el número de plaquetas en cada uno de 10 campos microscópicos, en diferentes áreas donde los eritrocitos se encuentren bien distribuidos. Evite los campos en los cuales

los eritrocitos están agrupados (Roleaux). Divida en número de plaquetas entre 10 para obtener un promedio y observe la siguiente tabla.

NUMERO DE PLAQUETAS/10	RECuento ESTIMATIVO DE PLAQUETAS / MM ³	REPÓRTELO COMO.
0-3	0-50.000	MARCADAMENTE REDUCIDO.
4-7	50.000-100.000	MODERADAMENTE REDUCIDO
8-11	100.000-150.000	LIGERAMENTE REDUCIDO
12-27	350.000	NORMAL

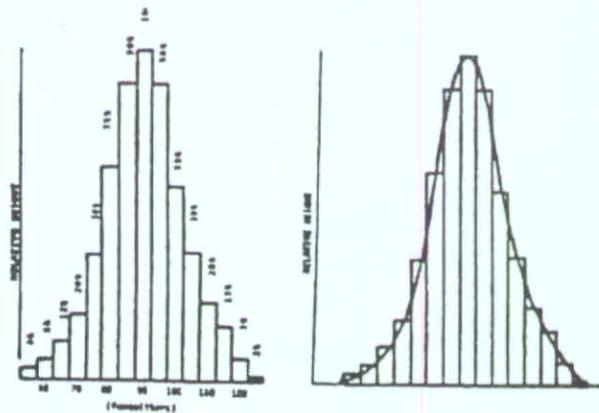
Pueden realizarse un recuento estimativo multiplicando el promedio de las plaquetas obtenido en 10 campos (100X) y multiplicar por 13.000 El resultado corresponde a el reporte en mm³

CAPÍTULO 7

CUADRO HEMATICO AUTOMATIZADO

HISTOGRAMAS

El principio Coulter (impedancia) para el recuento de células y la asignación de tamaño, se basa en la detección y medición de los cambios en la resistencia eléctrica producida por una partícula en un líquido conductivo atravesando una pequeña apertura, a medida que las suspensión de células diluidas pasan a través de la apertura, el paso de cada célula individual momentáneamente aumenta la resistencia de la trayectoria eléctrica entre dos electrodos sumergidos, ubicados a cada lado de la apertura. Mientras que el número de pulsos indica el recuento de partículas, la amplitud del pulso eléctrico producido depende del volúmen de la célula.



Un histograma es un resumen gráfico, de la variación de un conjunto de datos, la naturaleza gráfica del histograma nos permite ver pautas que son difíciles de observar en una simple

tabla numérica. El propósito del análisis de un histograma es, por un lado identificar y clasificar la pauta de variación y por otro desarrollar una explicación razonable y relevante de la pauta.

Son gráficos de frecuencia de volúmenes celulares representados en el eje de las X , graficado contra un numero relativo representado en el eje de la Y, por ser relativo no tiene un equivalente numérico real. El eje de la X se expresa en fentolitros (fL). En condiciones normales, en el informe se observa curvas cónicas o cóncavas que en su mayoría son modales, excepto la de plaquetas.

DISPERSOGRAMAS

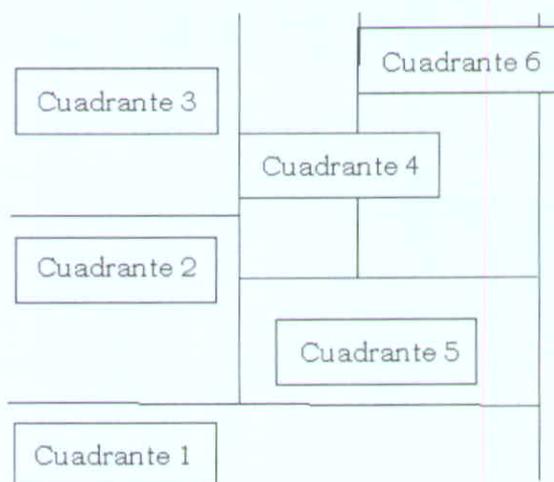
Son otro tipo de representación gráfica utilizada para el recuento diferencial de glóbulos blancos donde se mezclan diferentes tecnologías y tiene en cuenta diferentes propiedades celulares.

Se trata de un análisis tridimensional de las células, donde las diferentes casas comerciales utilizan mínimo tres parámetros que hacen coincidir con las propiedades específicas celulares, permitiendo de esta forma su clasificación en 5 grupos: Neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos. Permite sospechar con un alto grado de certeza

la presencia de células diferentes a las mencionadas.

- Se basa en las dispersiones de la luz obtenida de una sola célula sanguínea que pasa a través de un haz de luz
- La célula sanguínea crea una dispersión hacia delante y una lateral, detectadas por fotodetectores
- La dispersión hacia delante, es una medición del tamaño de la célula, y la dispersión lateral es una medición de la complejidad o granularidad de la célula

DISTRIBUCIÓN DE CÉLULAS EN UN DISPERSOGRAMA



Cuadrante 1. Agregados plaquetarios, Macroplaquetas, hemoparasitos, normoblastos, Células de difícil hemólisis, Células frágiles.

Cuadrante 2. Ubicación de los linfocitos maduros en la región central derecha, En la región superior e inferior derecha presencia de linfocitos atípicos, en la zona superior central de este cuadrante hace sospechar la presencia de Linfoblastos.

Cuadrante 3. Registro de monocitos en la región central derecha, la presencia de células en la región central superior hace sospechar la presencia de Monoblastos.

Cuadrante 4. En la región central neutrófilos, la presencia de granulocitos inmaduros en la región superior, en la región inferior del mismo cuadrante granulocitos pequeños (anomalía de Pelguer- huet y macropolicitos.

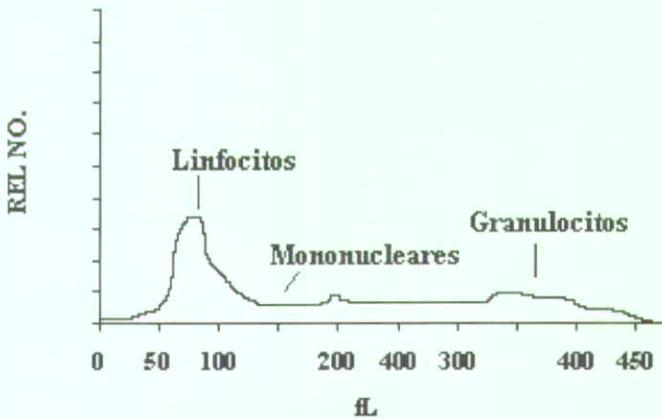
Cuadrante 5. No se presentan células. En caso de su presencia puede ser células dañadas o sangres viejas.

Cuadrante 6. En la región central presencia de eosinófilos y basófilos.

La aplicabilidad del dispersogramas se relaciona con un aumento o disminución de los diferentes glóbulos blancos; la línea granulocítica, monocítica y linfocítica.¹

HISTOGRAMA DE LEUCOCITOS.

En el histograma de leucocitos podemos tener la información del recuento de leucocitos, (WBC) el porcentaje y valor absoluto de las clases de leucocitos, que se encuentran agrupados en tres poblaciones; los linfocitos (LY), la población de células mononucleares (MO) y la población de células granulocíticas (GR).



Con el método de impedancia los leucocitos se determinan según su núcleo, mediante la acción de un agente lítico que actúa sobre la membrana y citoplasma provocando un engorgamiento de los diferentes tipos de células de manera que pueden ser identificados tres poblaciones.

En el eje de la X del histograma de leucocitos son observadas cuatro regiones a 35, 90, 160, y 450 femtolitros (fL)

¹ MANASCERO Aura Rosa. Reporte gráfico del Cuadro Hemático. automatización y relación con FSP.

La primera población está constituida por los linfocitos, que son las células de serie blanca más pequeñas (núcleo). Se inicia en 35 Fl y termina en 98 Fl, de manera que la región por debajo de 35 Fl debe estar limpia, Si embargo si hay partículas presentes, tales como plaquetas gigantes o cumulo de ellas, presencia de eritrocitos Nucleados Etc. Puede haber interferencias por debajo de los 35 Fl.

La segunda población se encuentra constituida por los monocitos, eosinófilos, basófilos, linfocitos atípicos, plasmocitos y blastos, se inicia en 98 Fl y termina 135 Fl, y 160 fl, esta población es llamada MID o mononuclear.

La tercera población se encuentra constituida por los neutrófilos que son las células más grandes debido a la presencia de abundantes gránulos citoplasmáticas que ocupan volúmen, en la curva se inicia entre 135 Fl a 160 y llega a 450 Fl.

Valor absoluto se obtiene así:

$$\% \text{ LINF } (10^3 \text{ celulas / uL}) = \frac{\% \text{ LINF} \cdot \text{Recuento de leucocitos}}{100}$$

$$\% \text{ MONO } (10^3 \text{ celulas / uL}) = \frac{\% \text{ MONO} \cdot \text{Recuento de leucocitos}}{100}$$

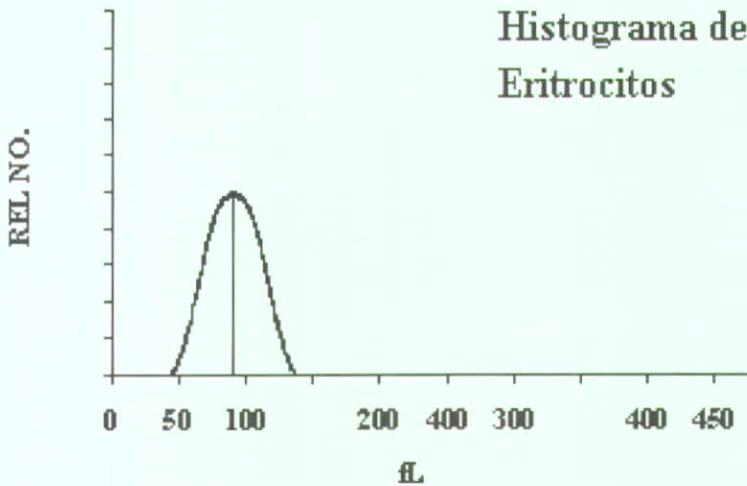
$$\% \text{ GRAN } (10^3 \text{ celulas / uL}) = \frac{\% \text{ GRAN} \cdot \text{Recuento de leucocitos}}{100}$$

HISTOGRAMA DE ERITROCITOS.

En general los histogramas celulares se registran en forma tal que en el eje vertical se relaciona con el número de células o partículas y en el horizontal el volúmen celular expresado en fentolitros.

En el histograma de eritrocitos cuentan partículas mayores

de 35 fL, las partículas de 2 o menos de 20 fL son contadas como plaquetas, los parámetros medidos en la apertura de eritrocitos son: el recuento de eritrocitos (RBC), El volúmen de los eritrocitos individuales y la hemoglobina el recuento de plaquetas (PLT), y el volúmen de las plaquetas individuales, de esta medición directa son calculados HCT VCM, HCM, CHCM, el RDW, y el volúmen plaquetario medio.



Para lograr la correcta interpretación del cuadro hemático es necesario recordar la definición de cada uno de los parámetros y en que casos los podemos encontrar alterados.

Recuento de eritrocitos (RBC). Número de eritrocitos medido directamente. Se expresa u/l. La cifra normal es:
 Volúmen corpuscular medio(MCV o VCM). El volúmen promedio de los glóbulos rojos y se expresa en femtolitros . Cifra normal de 80 - 96 fL.

Hemoglobina corpuscular media (HCM o MCH). Es la cantidad promedio de Hb contenida en cada glóbulo rojo y su resultado se expresa en picogramos. Cifra normal 26-34 pg
 Concentración de hemoglobina corpuscular media. (CHCM o MCHC). Es la concentración de Hb por decilitro. Se expresa en gr./dl Cifra normal 32 -36 gr./dl.

Ancho de distribución de eritrocitos. (ADE 0 RDW). Es una medida en la variación en el volúmen del eritrocito, en los instrumentos actuales el RDW es un coeficiente de variación, el resultado de dividir la población estándar de los eritrocitos, por la media. Se expresa en tanto por ciento (%) cifra normal 12-15 %.

Hematócrito. (HCT) Es el volúmen ocupado por los eritrocitos en un volúmen dado de sangre, en los contadores electrónicos es calculado con base en el recuento de eritrocitos y el MCV. (MCV X recuento de eritrocitos dividido 10) se expresa en tanto por ciento (%)

Concentración de Hemoglobina. (HGB). Después que la dilución de los leucocitos es estromalizada, el sistema proyecta un rayo de luz blanca a través de la apertura del baño de leucocitos pasando por un filtro óptico. Esta transmisión de luz monocromática (525 nm de longitud de onda) a través de una trayectoria estándar de solución de Hb es relacionada de acuerdo a la transmisión de esta luz en la misma forma, pero a través de un blanco reactivo. El sistema convierte esta relación en absorbancia, convirtiendo la absorbancia para valores de Hb en gr./dl usando un factor de calibración. Se expresa en gr./dl. (medida en la apertura de Blancos) El histograma de eritrocitos, a diferencia del histograma de leucocitos muestra las células en su tamaño original, el agente lítico usado en el baño de leucocitos no es añadido en el baño de eritrocitos, aunque hay leucocitos en el baño de eritrocitos y se encuentra incluido en el recuento de eritrocitos, son insignificantes en el número. Solamente cuando el recuento de leucocitos es marcadamente elevado es influenciado el histograma o recuento de eritrocitos.

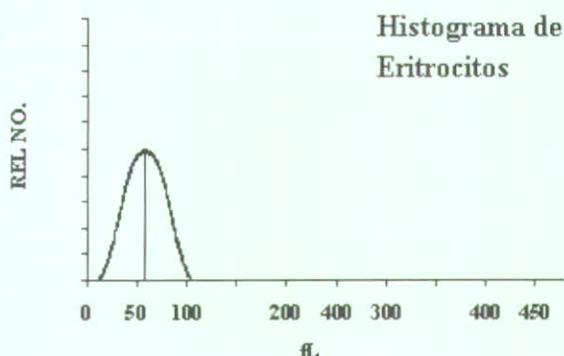
El histograma de eritrocitos se presenta en forma de una curva cuya morfología es la de una campana, su inicio se debe localizar en 50 Fl y debe terminar alrededor de 160 Fl, siendo la curva normal entre este rango.

El volúmen corpuscular medio lo obtenemos al proyectar la

campana sobre el eje horizontal, en el cual se encuentra el MCV en fL y el valor que se obtiene en la intersección de estas dos líneas representa en MCV de los eritrocitos.

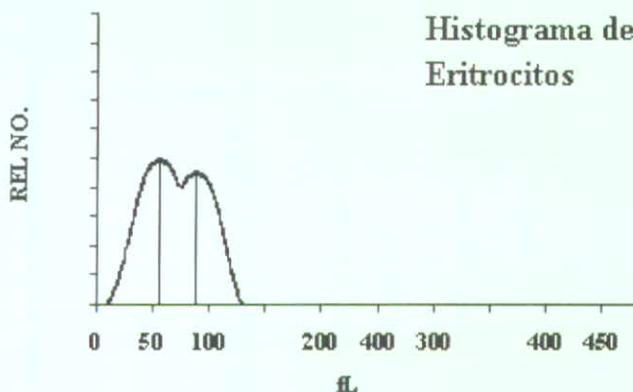
Dentro de las alteraciones de histogramas de los glóbulos rojos tenemos:

MICROCITOSIS



En Este caso la curva se desplaza a la izquierda , empezando antes de 50 fl, cuando la micricitos es pura, toda la población de eritrocitos es microcitica caracteristico de la anemia ferropenica, talasemias entre otras.

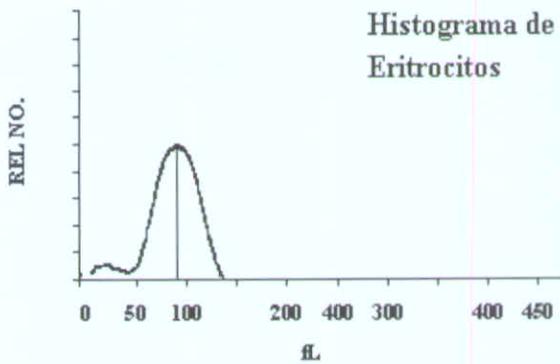
Curva bimodal. curva de doble población. Microcitos Normocitos.



Si un paciente con Microcitosis pura ha sido transfundido o se encuentra ya en tratamiento, aparece en el histograma las dos poblaciones de células presentes en la circulación del paciente. (Células transfundidas y células que se están formando como respuesta al tratamiento), en estos dos casos el histograma mostrará una doble campana o dos picos (bimodal) .

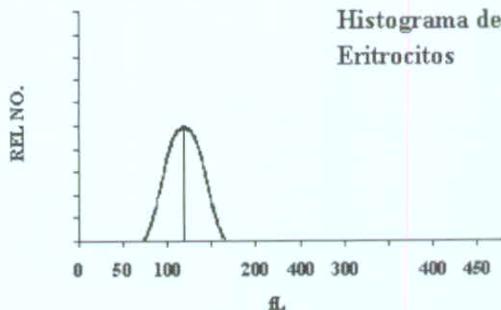
CURVA CON MACROPLAQUETAS.

Así se llama aquella curva que aparece por debajo de 50 Fl y por arriba de 20 Fl, la cual generalmente representa la presencia de microcitos, ya que los eritrocitos y la plaquetas son contados por el mismo orificio.



MACROCITOS.

En este caso la curva se desplaza a la derecha, o sea su inicio se da después de 50 Fl. Se presenta en anemias megaloblásticas, Recién nacidos Etc.



En este caso también se presenta un histograma bimodal que indica la presencia de dos poblaciones celulares según su tamaño. Se puede encontrar en estados patológicos como anemia megaloblásticas en tratamiento, presencia de crioaglutininas, Etc.

APRECIACIONES GENERALES DEL ANCHO DE DISTRIBUCION DE ERITROCITOS DEL (RDW).

Los contadores nos informan el grado de dispersión en tamaño de los glóbulos rojos contados, utilizando el histograma de frecuencia de hematíes calcula el RDW, por lo tanto, un RDW mayor de 15 Fl podría relacionarse con Anisocitosis, si está acompañado de VCM disminuido se encontrará Anisocitosis con Microcitosis, si está aumentado este VCM se relaciona con macrocitosis.

No obstante se debe tener cuidado con estas apreciaciones, ya que en la práctica se observa RDW aumentado por causas diferentes a la Anisocitosis, como el caso de poiquilocitosis con microesferocitos, esquistocitos, leptocitos, eliptocitos; ya que estas células son por sí mismas de menor tamaño, llegando incluso a ser menores de 30 fentolitros, o encontrar un VCM aumentado por el diámetro del eliptocitos sin necesidad de hablar de macro-ovalocito; así mismo se puede detectar RDW aumentado con un VCM normal en pacientes con anemias dimorfas; se encontrará anisocitosis tanto con microcitos como con macrocitos en el frotis de sangre periférica (FSP).

Otro caso en el que el RDW esta muy aumentado, se puede encontrar cuando se transfunde a un paciente en crisis hemolítica severa, mostrando una doble población celular, las células del paciente hacen una curva corrida hacia la izquierda y una segunda curva que se inserta con la primera observándose en ésta la población de células transfundidas (curva Bimodal), en éste caso el VCM es normal y el RDW es muy aumentado.

“lo importante es no confiarse y siempre corroborar los resultados que arrojan los equipos con las observaciones minuciosas del FSP.”

Generalmente los glóbulos rojos microcíticos contienen una cantidad reducida de hemoglobina, si la Microcitosis es marcada se observará la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) es inferior a 31 gr./dl.

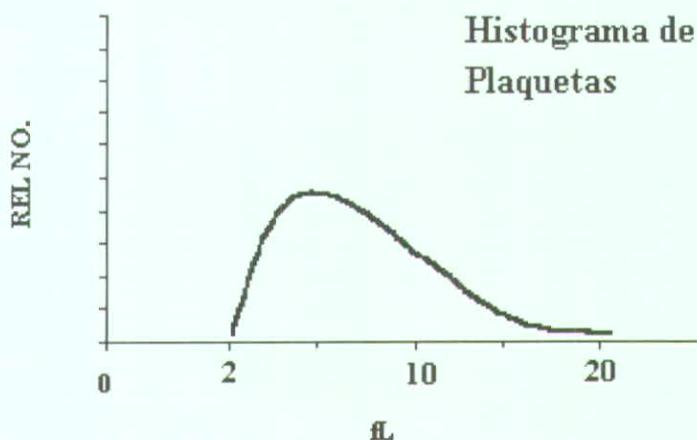
Si bien la correlación del FSP con los índices corpusculares es de gran ayuda, se debe analizar estos con mucho cuidado, ya que como se mencionó anteriormente, la presencia de esquistocitos a igual que los microesferocitos, leptocitos entre otros, disminuirá el VCM, sin que realmente exista una patología asociada a microcitos, casos como alteraciones en la producción del HEM o de GLOBINA.

Las alteraciones en la forma de los glóbulos rojos, también son detectadas por los contadores celulares y según su tamaño entra a formar parte del histograma de rojos o de plaquetas. Cabe aclarar que los equipos utilizan la misma dilución para contar rojos y plaquetas; se consideran a las plaquetas partículas menores de 20 fentolitros y rojos las de mayor tamaño; por este motivo en un cuadro hemático de un paciente con gran fragmento de células rojas se puede presentar células rojas de menor tamaño de 30 Fl que no entran en el histograma de rojos sino al de plaquetas; esto se identifica cuando dicho histograma arranca del eje Y del mismo histograma.

HISTOGRAMA DE PLAQUETAS.

El recuento de plaquetas(PLT) y la distribución del tamaño(MPV) se realiza en la apertura de eritrocitos, las partículas entre 2 y 20 Fl son contadas como plaquetas, el histograma de plaquetas representa el tamaño natural de la célula. Partículas de aproximadamente el tamaño de las plaquetas puede interferir con el recuento y el histograma de estas. Las partículas como burbujas, polvo se puede sobreponer en el

extremo inferior, los eritrocitos microcitos pueden introducirse en el extremo superior.



Existen algunas causas de alteración del histograma de plaquetas.

Hemólisis. El contador puede contar fragmentos de eritrocitos que se genera durante la hemólisis como plaquetas, lo que se debe de sospechar cuando la curva no termina.

Macroplaquetas. Como la plaqueta y los glóbulos rojos son contados en el mismo orificio, y ambos elementos están en la misma muestra examinada, la persistencia de la curva de plaquetas por arriba de 20 fL representa la presencia de macroplaquetas, en la interpretación corresponde a microcitos, lo que se confirma viendo la curva de glóbulos rojos que se encuentra desplazada hacia la izquierda.

Es importante recordar que recuentos de plaquetas después de dos horas de tomada la muestra puede originar una seudotrombocitopenia.

El recuento de plaquetas es inversamente proporcional al volumen medio plaquetarios.

VPM altos. Desordenes mieloproliferativos, púrpuras trombocitopenicas, esplenectomia, leucemias, etc.

VPM bajo. Hiperesplenismo, Post quimioterapia, anemia aplastica Etc.

Cifra normal

150.000 374.000 mm³

VPM 7.2 %

DISCREPANCIAS DE LOS ERITROCITOS EN LOS CONTADORES AUTOMATIZADOS

Los cambios de cierta química sanguínea causan un encogimiento o hinchazón temporal de las células cuando las células son mezcladas con una solución isotónica; como corresponde a un paciente con algún estado hiperosmolar en donde los eritrocitos se hinchan denominado pseudomacroцитosis. Ejemplo glicemias muy altas por encima de 600 mg/dl, también puede estar relacionado con paciente que tiene hipertrigliceridemia e hipernatremia, deshidratación, uremia o con venoclisis con carbohidratos o glucosa, en estos casos también el recuento de eritrocitos se afecta presentando falsa disminución (seudoeritrocitopenia), así como el hematocrito y las mediciones que dependen del recuento de eritrocitos. En otras situaciones puede presentar pseudomacroцитosis por la presencia de anticuerpos fríos o calientes o panaglutininas dependientes o no del Etil Diamino Tetraacético (EDTA). El volúmen corpuscular medio (VCM) puede verse falsamente aumentado.

La presencia de plaquetas gigantes pueden ser contadas como eritrocitos, aumentando su recuento y disminuyendo el VCM, pseudomicroцитosis, además se alteran los parámetros que dependen del recuento de eritrocitos; otra discrepancia encontrada es la presencia de esquistositos disminuyendo falsamente el VCM y aumentando el recuento de plaquetas, de igual forma afecta los parámetros que dependen del VCM.

Seudoeritrocitosis: consiste en una falsa elevación de los eritrocitos debido a que hay una contaminación con otros

elementos diferentes a los eritrocitos; se puede presentar cuando hay un aumento significativo de los leucocitos como en una leucemia mieloide crónica o linfonfoide crónica; la presencia de plaquetas gigante aumenta falsamente el recuento de eritrocitos como en el caso de un síndrome de Bernard- Soulier, igualmente se afecta por la presencia de crioaglutininas o crioglobulinas, ya que el equipo los cuenta falsamente como eritrocitos aumenta su recuento.

Seudoeritrocitopenia: se encuentra una falsa disminución de eritrocitos dado por la agregación de los eritrocitos, el equipo cuenta como una sola célula y aumenta el VCM y los parámetros que depende del recuento de eritrocitos, esta agregación de eritrocitos se puede dar por la presencia de anticuerpos fríos o calientes en el paciente, o en caso de presencia de panaglutininas dependientes del anticoagulante utilizado en hematología.

Hemoglobina: es un parámetro independiente de los otros parámetros, se obtiene por método colorimétrico (similar al método manual), la turbidez de la muestra altera los resultados de la hemoglobina. Se puede presentar falso aumento de la hemoglobina, por dos aspectos; el manejo de la muestra o la enfermedad del paciente.

El aumento de la hemoglobina de forma falsa (seudopolicitemia) puede deberse a la no relación anticoagulante sangre, es decir exceso de llenado de sangre, así cuando los tubos se encuentran en posición horizontal en forma prolongada, hace que en algunas partes se concentre las células, y no se da bien el proceso de homogenización de la muestra antes de introducirla por el equipo, otra causa de pseudopolicitemia puede deberse a la presencia de turbidez en la muestra, lo cual hace interferencia con el método colorimétrico utilizado para la determinación de hemoglobina en el cuadro hemático automatizado, casos como hiperlipidemias (triglicéridos por encima de 1.000) o falta de ayuno en el paciente, de acuerdo a lo anterior se recomienda que la toma de la muestra para cuadro hemático sea realizada cuando el paciente se encuen-

tre en ayunas; otra interferencia puede presentarse en las muestras que presenta aumento de las bilirrubinas, o en la presencia de carboxihemoglobina (fumadores) aumentando el valor del hemoglobina.

La hemoglobina se puede disminuir falsamente por la no relación anticoagunante sangre, la presencia de coágulos en la muestra y en pacientes que toman sulfonamidas, feneticinas, acetanilidina u otras aminas aromáticas; la causa se debe a la presencia de sulfahemoglobinemia la cual no es convertida en cianometahemoglobina y no es detectada por el hemoglobinómetro, por lo tanto los parámetros que depende de la hemoglobina también se presenta falsamente disminuidos como la hemoglobina corpuscular media (HCM), el recuento de eritrocitos y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). (Medicina de laboratorio Volúmen 11 2005)

PROTOCOLO A SEGUIR FRENTE A LAS DISCREPANCIAS DE ERITOCITOS

1. Revisar el histograma.
2. Examinar el frotis de sangre.
3. Volver analizar la muestra.
4. Tomar nueva muestra.

Presencia de cristales crioglobulinas Crio fibrinógeno: con la presencia de estos se debe calentar la muestra a 37 °C y proceda de nuevo, si continúa el problema proceda así: Verifique los resultados de la Hb, la turbidez eleva los resultados de la HB, MCH y CHCM, se debe realizar HB manual y corregir los índices eritrocitarios. Por los métodos tradicionales

Muestras hemolizadas, no se deben procesar. Si no se puede obtener una muestra no hemolizado y la hemólisis es in vivo, se pueden reportar el recuento leucocitos, porcentaje y su valor absoluto. El reporte del histograma de eritrocitos es erróneamente bajo, se debe procesar en forma manual la determinación de hemoglobina y hematocrito, los índices

eritrocitarios no se reportan, ya que el recuento de eritrocitos manual es una causa grande de error; se debe revisar el histograma de plaquetas para posibles anomalías observadas como la presencia de fragmentos de eritrocitos.

Discrepancias más frecuentes.

Recuento de eritrocitos erróneamente altos: Gran número de plaquetas gigantes o cualquier partícula por encima del umbral.

Hemoglobina: Turbidez de la muestra. Triglicéridos altos, recuento de leucocitos muy aumentado.

Hematócrito: éste puede estar alterado ya que depende del VCM y del recuento de eritrocitos debido a que este valor es calculado con estos parámetros.

VCM erróneamente bajos: fragmento de eritrocitos que caen por debajo del umbral o presente en Hiponatremia.

VCM erróneamente altos: Eritrocitos aglutinado.

RDW: Muestras con eritrocitos tan pequeños que caen por debajo del umbral. La aglutinación de eritrocitos, presencia de plaquetas gigantes, plaquetas agregadas, leucocitos aumentados y fragmentos de eritrocitos que caen por debajo del umbral, todos elevan el RDW.

El protocolo a seguir en estas discrepancias es: realizar Hematocrito manual y calcular el VCM y el CHCM, reportar lo que se observa en el extendido de sangre periférica.

DISCREPANCIAS DE LOS LEUCOCITOS EN LOS CONTADORES AUTOMATIZADOS

En las alteraciones de los leucocitos se puede presentar la pseudoleucocitos, es decir un falso aumento de los leucocitos; en el compartimiento donde son contados los leucocitos

también se determina la hemoglobina, en este compartimiento se utiliza una sustancia lisante que hemolisa los eritrocitos y solo quedan los leucocitos que son los que se evalúan en este compartimiento, las plaquetas con esta sustancia lisante no son destruidas y no afectan el recuento de leucocitos por su tamaño tan pequeño, sin embargo, cuando hay presencia de macroplaquetas que son visualizadas por medio del frotis de sangre periférica, puede afectar el recuento de leucocitos (seudoleucocitosis) y disminuir el recuento de plaquetas (seudotrombocitopenia), o no permitir el recuento de leucocitos por el aumento del tamaño en ésta célula.

Se puede presentar esta situación en paciente que tenga inmunoglobulinas ó Fibrinógeno inducidos por frío, la presencia de crioproteínas como las crioglobulinas, también puede darse por el anticoagulante EDTA (anticuerpos contra el EDTA) casos específicos en trastornos linfoproliferativos, mieloproliferativos en enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso, anemias hemolíticas entre otros; algunos de estas crioglobulinas se observan como estructuras cristalinas en el frotis de sangre periférica, que los contadores electrónico las cuentan como plaquetas aumentando el recuento de plaquetas, la presencia de fibrina hace que los eritrocitos se aglutinen y el lisante utilizado no logra destruir los eritrocitos es así que estos son contados como leucocitos, cuando hay plaquetas agregadas en el frotis de sangre periférica el contador las cuenta como leucocitos por lo tanto el recuento de plaquetas se afecta disminuyéndolos (seudotrombocitopenia).

En los pacientes con anemias hemolíticas o síndromes mielodisplásicos, donde hay presencia de normoblastos los contadores cuentan estos como leucocitos, ya que estas células son eritrocitos nucleados que el lisante utilizado no los destruye. La presencia de hemoparasitos, bacterias y hongos, es otra discrepancia que puede afectar el recuento de leucocitos, ya que estos microorganismos se encuentra dentro del glóbulo rojo, el equipo los confunde como si fueran células nucleadas, el lisante no los destruye y los cuenta como leu-

cocitos.

Es importante tener en cuenta que cuando se han pasado muestras de sangre con recuentos de leucocitos muy altos, como en el caso de la leucemia mielode crónica o la leucemia linfoide crónica, se puede presentar el fenómeno de arrastre que puede contaminar la muestra siguiente mostrando una pseudoleucocitosis, por lo tanto se recomienda que después de pasar una muestra con estas características se debe hacer un lavado pequeño al equipo y evitar esta discrepancia.

Todas estas situaciones que pueden ser inherentes a la muestra o al paciente también afectan el diferencial de leucocitos y el valor absoluto.

La pseudoleucopenia o falsa disminución de leucocitos puede presentarse por dos aspectos: fisiológico y manejo de la muestra.

La administración de algunos medicamentos como la Clozapina, paciente de raza negra o en pacientes con leucemia linfocítica crónica los leucocitos se tornan muy frágiles o sensibles al lizante, las células destruidas no son contadas por el equipo, dando resultados más bajos de los leucocitos; éstas células son las denominadas células en canasta o sombras de Gumprech. En pacientes con uremia cuyo tratamiento es con inmunosupresores es otra causa de pseudoleucopenia, la presencia de anticuerpos puede causar aglutinación de los leucocitos y dar resultados falsos (pseudoleucopenia).

Discrepancias por manejo de la muestra.

- Las muestras que son mantenidas por largos periodos a temperatura ambiente se deterioran o destruyen las células dando resultados erróneamente bajos, la presencia de microcoágulos es otra causa de recuento de eritrocitos disminuidos.

- La falta de una buena homogenización de la muestra antes de introducirlas por el equipo o cuando los tubos son llena-

dos de sangre más de lo indicado (no se conserva la relación anticoagulante – sangre).

En los casos antes mencionados se presentan también discrepancias en el recuento diferencial y el valor absoluto. (Medicina de laboratorio Volúmen 11 2005)

PROTOCOLO A SEGUIR FRENTE A LAS DISCREPANCIAS DE LEUCOCITOS.

Leucocitos anormales pequeños y frágiles: los medicamentos citotóxicos o inmunosupresores o la uremia pueden aumentar la fragilidad de los leucocitos, se debe realizar el recuento en cámara, examinar el frotis para verificar el resultado, corregir el porcentaje de células y su valor absoluto realizando diferencial en forma manual, revisar el histograma de plaquetas para verificar una posible interferencia de los fragmentos celulares, revisar plaquetas en el extendido y si se evidencian interferencias realizar recuento en cámara de plaquetas y no reportar el VMP.

Recuento de leucocitos altos: Realizar una dilución manual para obtener el resultado de leucocitos, y se debe corregir el diferencial, el valor absoluto y el histograma de rojos debe ser verificado manualmente ya que la turbidez de la muestra alteran los resultados arrojados por el equipo.

Muestra con eritrocitos Nucleados: si hay presencia de normoblastos, éstos son incluidos en el conteo de leucocitos; se debe corregir el recuento de leucocitos con la fórmula de corrección, después de realizado el diferencial en el extendido de sangre y determinar el número de normoblastos en 100 células contadas; además corregir el porcentaje de linfocitos, mononucleares y granulocitos realizando un diferencia manual y calcular valor absoluto.

$$\text{Leucocitos Corregido} = \frac{\text{Recuento de Leucocitos} \cdot 100}{\text{Numero de Normoblastos} + 100}$$

La presencia de normoblastos también puede aumentar el VCM pseudomacrocitosis, en estos casos no reportar el VCM, y los parámetros del histograma de rojos que dependen de él, revisar el frotis de sangre periférica y reportar lo observado.

Cuando hay hemoparasitos, bacterias y hongos, el procedimiento a seguir es realizar el recuento de leucocitos en cámara, hacer el diferencial en el frotis de sangre periférica y calcular el valor absoluto.

DISCREPANCIAS DE LAS PLAQUETAS EN LOS CONTADORES AUTOMATIZADOS

Las alteraciones falsas de plaquetas van muy relacionadas con las alteraciones falsas de los eritrocitos excepto la hemoglobina, ya que en el compartimiento donde se cuentan las plaquetas también se cuentan los eritrocitos.

Dentro de los casos que se pueden presentar discrepancias de plaquetas están:

- **Seudotrombocitosis:** la presencia de anticuerpos alteran los eritrocitos, ya que son aglutinados y pueden ser contados como plaquetas.
- La presencia de leucocitos fragmentados dado en la leucemia linfocítica crónica (sombras de Gumprech o células en canasta), el equipo las cuenta falsamente como plaquetas.
- En casos de anemias hemolíticas, en la coagulación intravascular diseminada, quemados, esferocitosis donde hay presencia de fragmentos de eritrocitos (esquistositos) microesferocitos, estas células pueden ser interpretadas como plaquetas aumentando su recuento, también se ha observado discrepancias en el recuento de plaquetas por la presencia de hemoparasitos, bacterias y cuerpos de Pappenheimer, aumentando el recuento de plaquetas.
- En pacientes con lisis tumoral por diferentes tratamientos puede desencadenar liberación de pequeños fragmentos que para el contador de células tienen el mismo tamaño de las plaquetas, aumentando sus recuentos.

Seudotrombocitopenia: si la muestra para realizar un cuadro hemático automatizado fue tomada con dificultad, en éste caso pudo haber agregación plaquetaria, presencia de coagulo o muestras mal mezcladas; las plaquetas pueden ser mal interpretadas por el equipo, son contadas como leucocitos aumentando su recuento y disminuyendo el recuento de las plaquetas.

La presencia de anticuerpos contra las plaquetas en pacientes con enfermedades autoinmunes, cirrosis, neoplasias, arteriosclerosis, sepsis, mononucleosis infecciosa, pacientes que reciben tratamiento con ácido valproico, en niños prematuros, en pacientes con artritis reumatoidea, (el factor reumatoide estimula la agregacion plaquetaria); en éstos pacientes las plaquetas se pueden aglutinar mostrando unaseudotrombocitopenia y aumentando en recuento de leucocitos.

Cuando hay presencia de plaquetas gigantes, o satelitismo plaquetario (frotis de sangre periférica) como en la enfermedad de Bernard-Soulier, anomalía de May-Hegglin, en los síndromes mieloproliferativos, los contadores cuenta estas macroplaquetas como leucocitos, arrojando resultados falsos, unaseudotrombocitopenia y unaseudoleucocitos.

(MPV) puede dar falso aumento con el EDTA utilizado como anticoagulante, se debe tener en cuenta y correlacionarlo con el Frotis de sangre periférica, de acuerdo a lo anterior se recomienda que los extendidos de sangre periférica sean realizado sin anticoagulante, o mantener la muestra a 37°C hasta que ser procesada. (Medicina de laboratorio Volúmen 11 2005)

PROTOCOLO A SEGUIR FRENTE A LAS DISCREPANCIAS DE PLAQUETAS

Plaquetas agrupadas: no se deben reportar; si hay presencia de plaquetas agrupadas puede darse por mala toma de la muestra (presencia de coagulo) o alteraciones en la agre-

gación plaquetaria inherente al paciente (síndrome de Bernal-Soulier); en esta situación se procede a tomar una nueva muestra, si continua el problema (muestra con EDTA) se toma con Citrato de sodio al 3.8% se revisa las plaquetas en el extendido para observar si se presentan agrupadas y se deben reportar las anormalidades encontradas en el extendido (alteraciones en la agregación plaquetaria del paciente), revise el histograma de leucocitos; recuento de leucocitos, porcentaje y valor absoluto, si es necesario se debe contar las plaquetas y leucocitos en forma manual.

Plaquetas gigantes: se debe proceder a realizar recuento de plaquetas manuales, y revisar el histograma de leucocitos para observar interferencias, que deben solucionarse como recuento manual de leucocitos, el porcentaje y valor absoluto. Revisar el histograma de eritrocitos para verificar interferencias por la presencia de plaquetas gigantes. Realiza Hto centrifugado, calcular de nuevo el VCM ,MCH CHCM ,RDW verifique la Anisocitosis del extendido.

La presencia de satelitismo plaquetario y fragmentos de plaquetas producen resultados erróneamente bajos; partículas o residuos celulares y eritrocitos muy pequeños pueden causar error en el recuento de plaquetas.

Los resultados del Volumen Medio Plaquetario en las muestras viejas pueden ser falsamente altos, así como en muestras con satelitismo plaquetario o plaquetas agrupadas pueden ser falsamente altos.

BIBLIOGRAFÍA

Atlas de análisis de frotis de sangre
<http://www.chronolab.com/hema/hemacontent.htm> atlas de Hematología

Atlas de Hematología On Line
http://orbita.starmedia.com/~forobioq/a_h_eritro.html
Diseño: Dr. Eduardo Luis Freggiaro

Atlas de Hematología de la Universidad de Nagoya
<http://pathy.med.nagoya-u.ac.jp/atlas/doc/atlas.html>

Atlas of hematology.
<http://www.cc.uoa.gr/health/pathology/aoh/images.htm>

Atlas de hematología: Universidad de Washington
www.medtropoli.com/atlas/hemato.htm - 3k - En caché

Atlas de Hematología, ... Histología de la Sangre.
<http://www.udl.es/dept/medicina/citoweb/hemato/hemopoyesis/dcha.htm>

Atlas of hematology
<http://www.md.huji.ac.il/mirrors/pathy/Pictures/atoras.html>

American Association of Blood Banks
[Http://www.aabb.org/](http://www.aabb.org/)

Borrador de la clasificación de la OMS de las neoplasias.

Blood (journal of the American Society of Hematology)
<http://www.bloodjournal.org/>

HECKNE, Freund. Atlas de Hematología Madrid España: Ed.

Marban. 1997

HILMAN, Dane. Et al. Manual de Hematología. México: Ed. Manual moderno. 1998.

<http://www.cc.uoa.gr/health/pathology/aoh/images.htm>

http://orbita.starmedia.com/~forobioq/a_h_eritro.html Diseño: Dr. Eduardo Luis Freggiaro

<http://www.chronolab.com/hema/hemacontent.htm>

<http://www.md.huji.ac.il/mirrors/pathy/Pictures/atoras.html>

<http://pathy.med.nagoya-u.ac.jp/atlas/doc/atlas.html>

<http://www.udl.es/dept/medicina/citoweb/hemato/hemopoyesis/dcha.htm>

<http://www.iladiba.com/sep96/htm/achemat.htm>

l of peripheral blood cell morphology. Baltimore. 1984:

ISSELBACHER, Kurt. Et al. Harrison principios de medicina interna. México: Ed. Interamericana 1994.

KATHLECH, Morrisson. Laboratorio clínico y pruebas diagnósticas. México: Ed. manual

LLANO V, Clara Inés. SANIN a Olga María. Hematología e inmunohematología. Manizales: 1990.

MARY LOUISE TURGEON Hematología clínica teoría y procedimientos. Manual moderno 2006

MANASCERO Aura Rosa. Reporte gráfico del cuadro Hemático. Bayer Lab. Febrero 2000.

MCKENZIE. Shirlyn B. Hematología clínica. manual moderno . segunda edición 2000.

Medicina de laboratorio Volúmen 11 2005

MIALE, Jhon B. Hematología Medicina de Laboratorio. 1985.

O'CONNOR, Barbara. A color atlas and instruction manual

OSORIO , Guido, Hematología diagnóstico y terapéutica Chile: Ed mediterráneo 1997

Reporte gráfico del cuadro hemático. Bayer Ana Rosa Manascero febrero 2000.

RESTREPO, Alberto. Et al. Fundamentos de Medicina Hematología. Medellín: Ed. CIB. 1997.

RODAK. F. Hematologia fundamentos y aplicación clínica, editorial panamericana 2006

SANS, Sabrafen. Hematología clínica. Barcelona: Ed. Mosby 1994.

WILLIAN, Willinans. Manual de Hematología. México: Ed. Interamericana. 1997.

WINTROBE, Hematología clínica. Buenos Aires. : Ed. Intermedic. 1994.

académicas del área de la salud le han permitido tener una visión integral y reconocer la valiosa interacción entre los profesionales asistenciales de la bacteriología y de la medicina como estrategia de optimización del recurso humano y técnico en beneficio de los usuarios.

Incansable en su estudio de la hematología, apasionada con la docencia y motivada por sus colegas y estudiantes, presenta una vez más el resultado de su persistente trabajo en beneficio de la bacteriología colombiana.

Deseamos que estos esfuerzos motiven las nuevas generaciones en el proceso de consolidación de la capacidad académica del gremio nacional.



Universidad
Católica
de Manizales