



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

Principios de Hematología

Dra. Elena Franco Robles

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Contenido

PARTE I. Introducción a la hematología veterinaria

1. Composición de la sangre
2. Hematopoyesis

PARTE II. Métodos de diagnóstico. Citometría hemática manual.

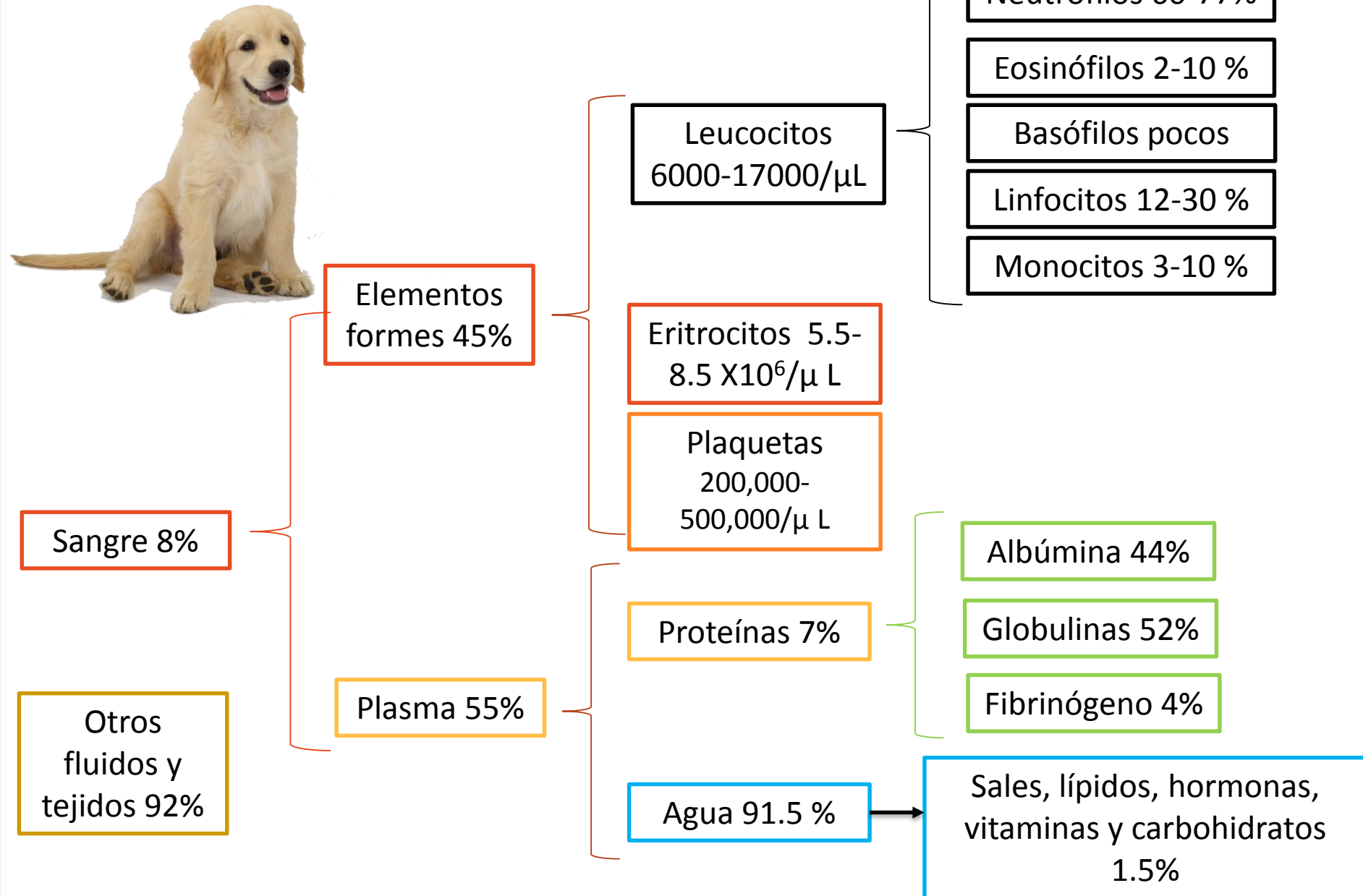
1. Toma de muestra
2. Hematocrito
3. Conteo de eritrocitos y leucocitos
4. Determinación de hemoglobina

PARTE I. Introducción a la hematología veterinaria

Hematología

Rama de la medicina que se encarga del estudio de los elementos que componen la sangre, sus alteraciones y las patologías relacionadas a estas.

Figura 1. Composición de la sangre de un perro sano



Hematopoyesis

La hematopoyesis primitiva comienza fuera del cuerpo del embrión en el **saco vitelino** y poco después en la **región aórtica-gónada-mesonefros (AGM)** del embrión.

Hemangioblastos → Células madre hematopoyéticas (CMH)

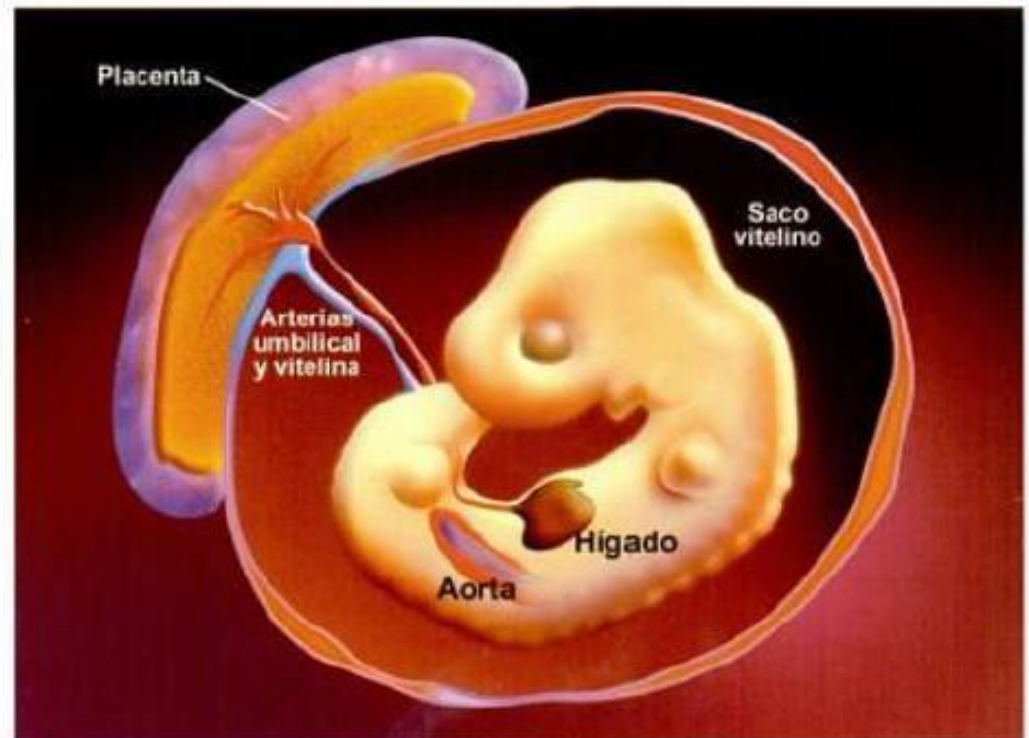
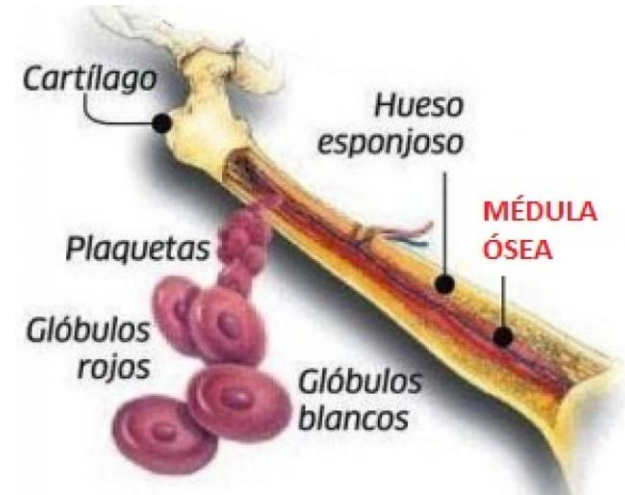


Figura 2. Sitios generadores de CMH en el embrión.

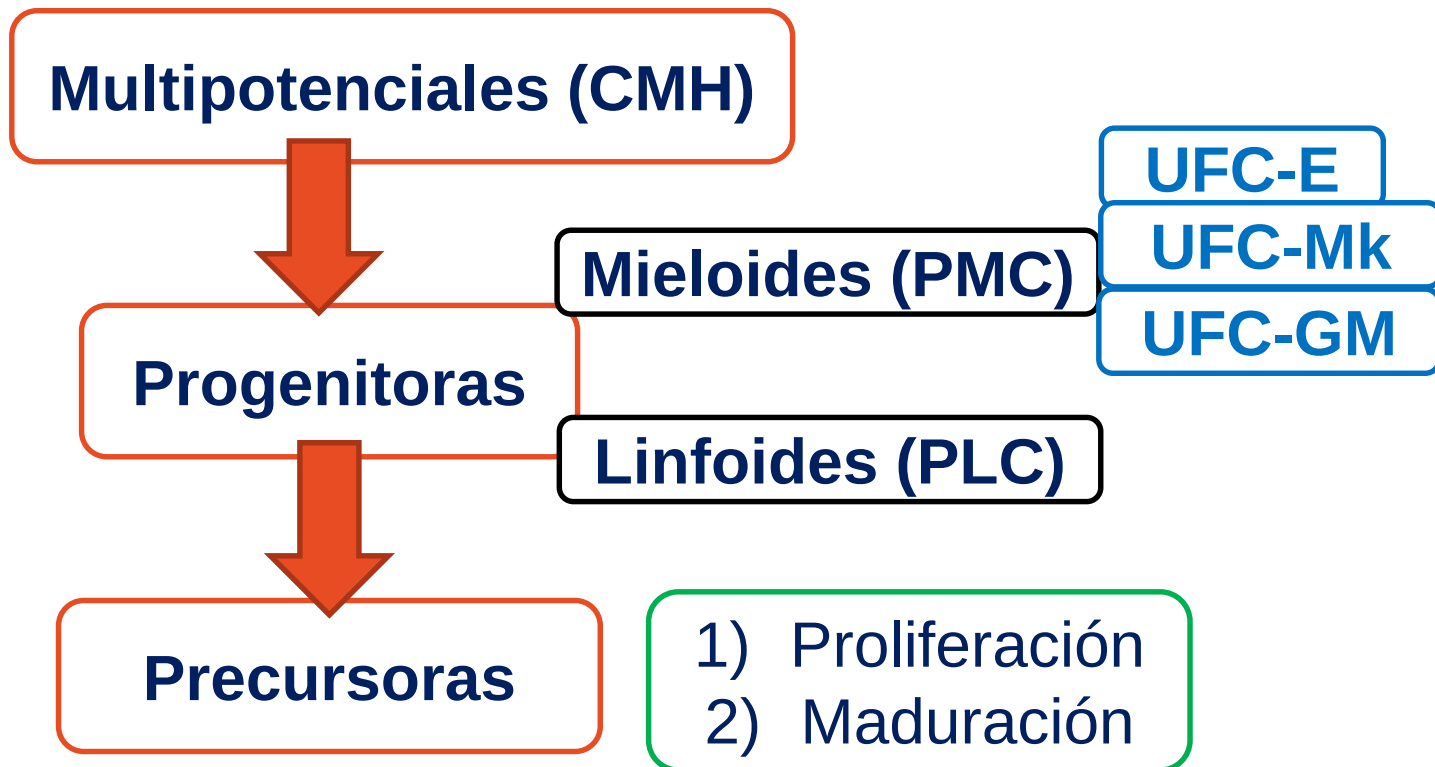
En la gestación y en la vida post-natal las CMH proliferan, se auto-renuevan y diferencian en la **médula ósea (MO)**.

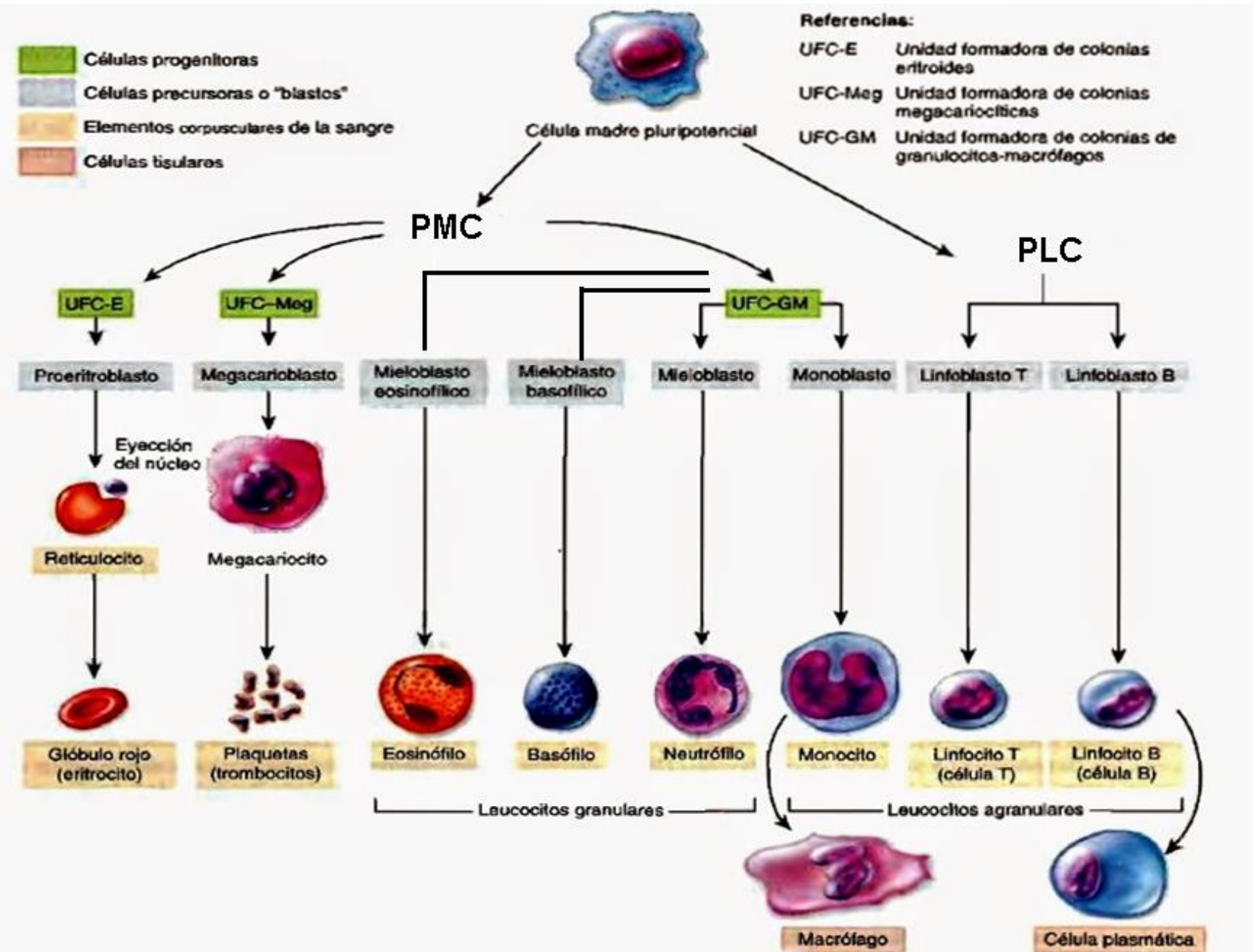


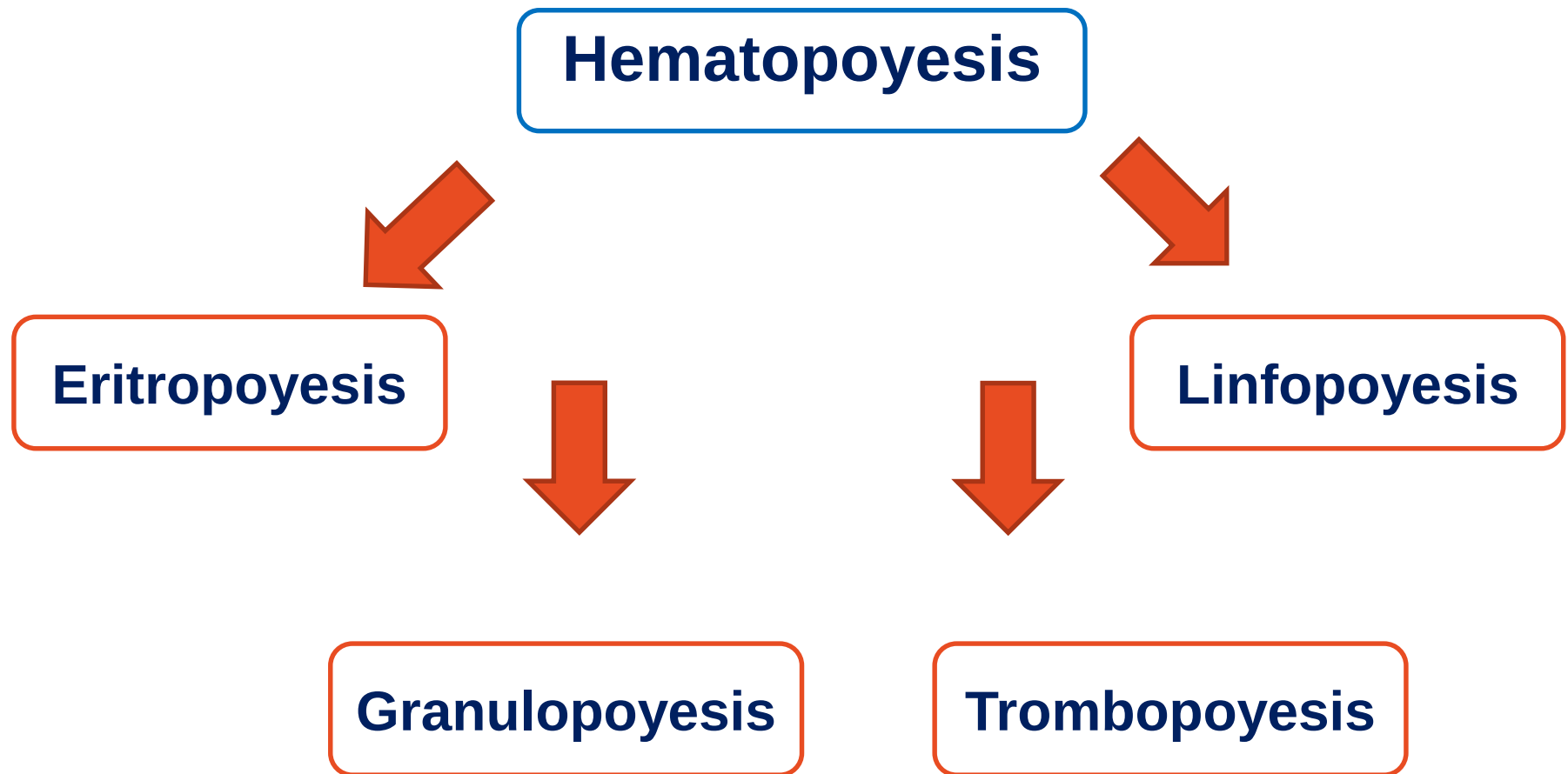
Hay otros órganos capaces de producir células sanguíneas de manera extramedular: **bazo (B) e hígado (H)**. Esta función se activa en casos de hipoxia crónica.

Aves adultas, MO; reptiles adultos MO, B; anfibios, R, H, B y MO; peces, R y B.

Las células hematopoyéticas se encuentran conformadas en 3 grupos de acuerdo con la función que realizan durante el proceso de hematopoyesis:



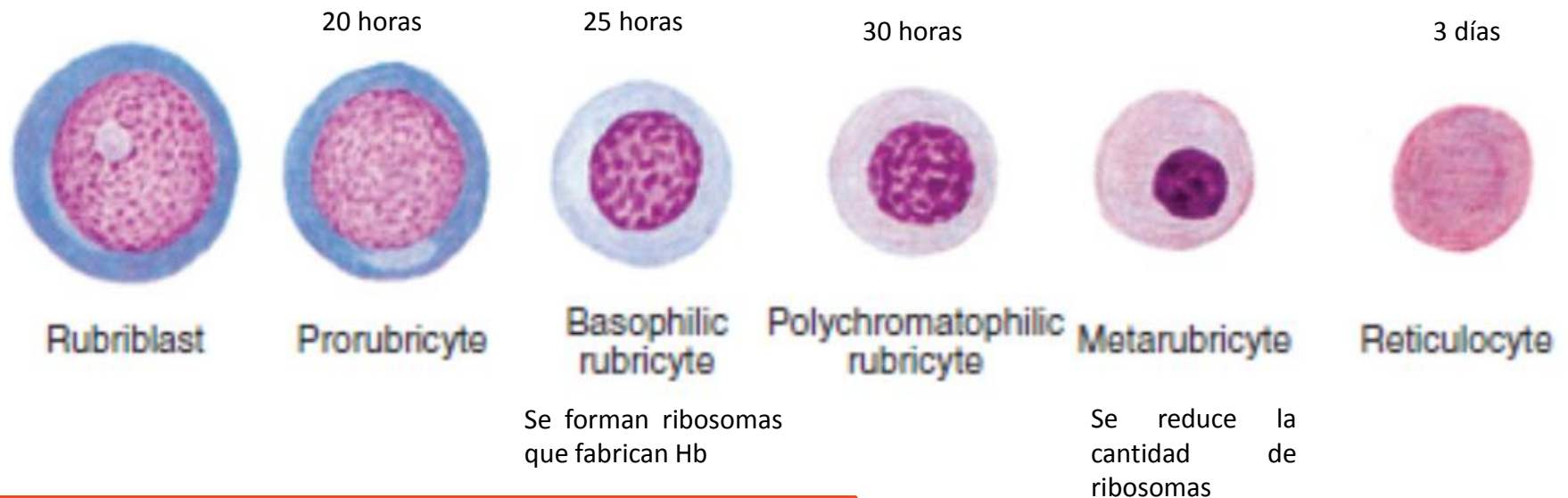




Eritropoyesis

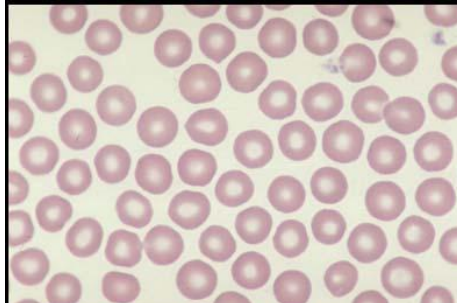
Proceso de producción de eritrocitos desde la maduración de un precursor nucleado (**hemocitoblasto**) pasando por diferentes etapas hasta llegar a un eritrocito maduro.

Eritropoyetina → principal factor de crecimiento involucrado en la proliferación y diferenciación de UFC-E en **rubriblastos**.

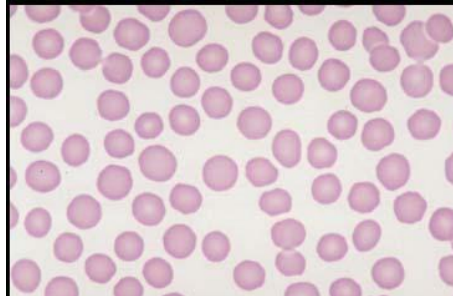


Los eritrocitos viejos o dañados son removidos en el hígado, bazo y médula ósea.

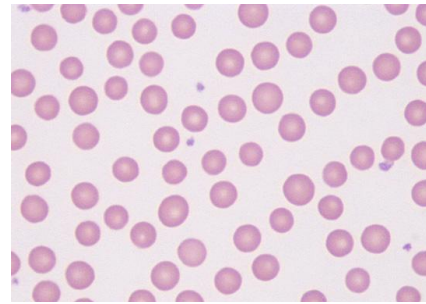
Eritrocitos



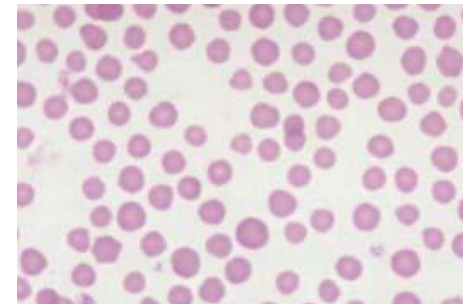
Perro: 7 μ m, palidez central.



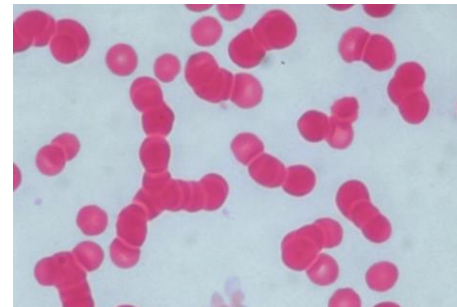
Gato: 5.8 μ m, anisocitosis, ligera palidez.



Bovino: 5.5 μ m, anisocitosis, crenación.



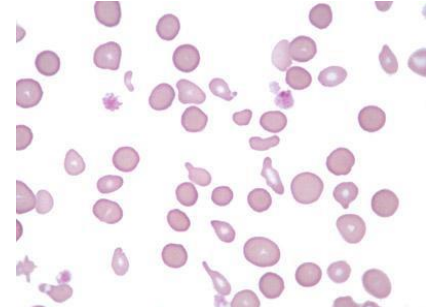
Ovino: 4.5 μ m, similares a bovino.



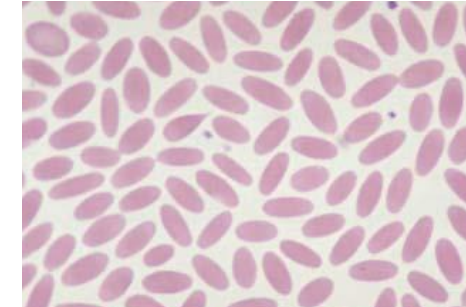
Caballo: 5.7 μ m, Roleaux.



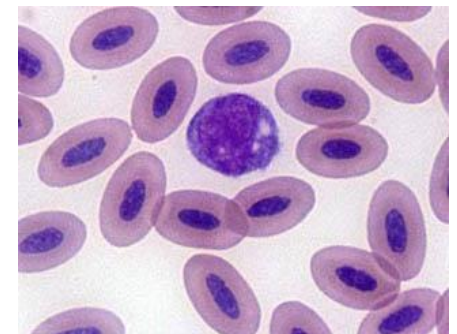
Cerdo: 6 μ m, Poiquilocitosis.



Cabra: 4 μ m, Anisocitosis y Poiquilocitosis.



Camélidos: 1x6.5 μ m.



Aves: 12x6 μ m. Ovalados y nucleado.

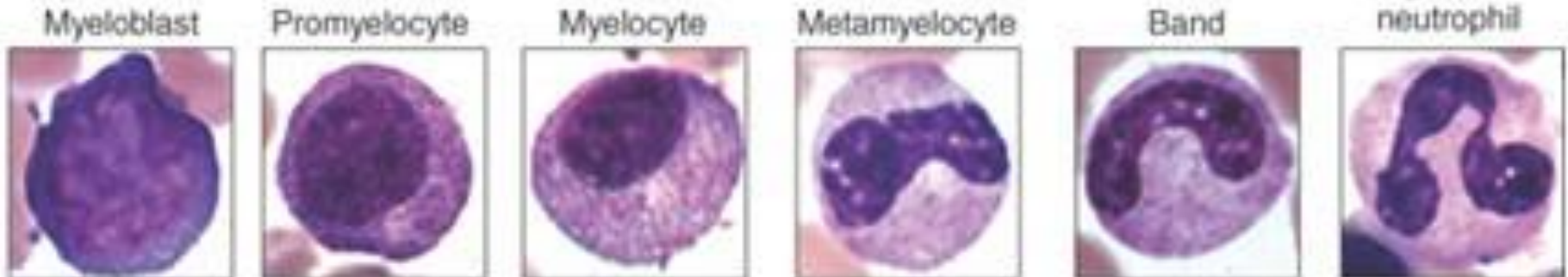
Granulopoyesis

Proceso de formación y maduración de los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) en sangre, se inicia a partir de un precursor en común llamado **mieloblasto**.

Se produce principalmente en la **médula ósea a partir de CMH** con expansión a sitios extramedulares por mayor demanda o con enfermedad de la médula ósea

Proliferación 48-60 horas

Maduración 47-70 horas



Granulopoyesis

PMC



UFC-GM



Eosinophilic
myelocyte



Eosinophilic
metamyelocyte



Eosinophilic
band



Eosinophil



Myeloblast



Promyelocyte



Neutrophilic
myelocyte



Neutrophilic
metamyelocyte



Neutrophilic
band



Neutrophil



Basophilic
myelocyte



Basophilic
metamyelocyte



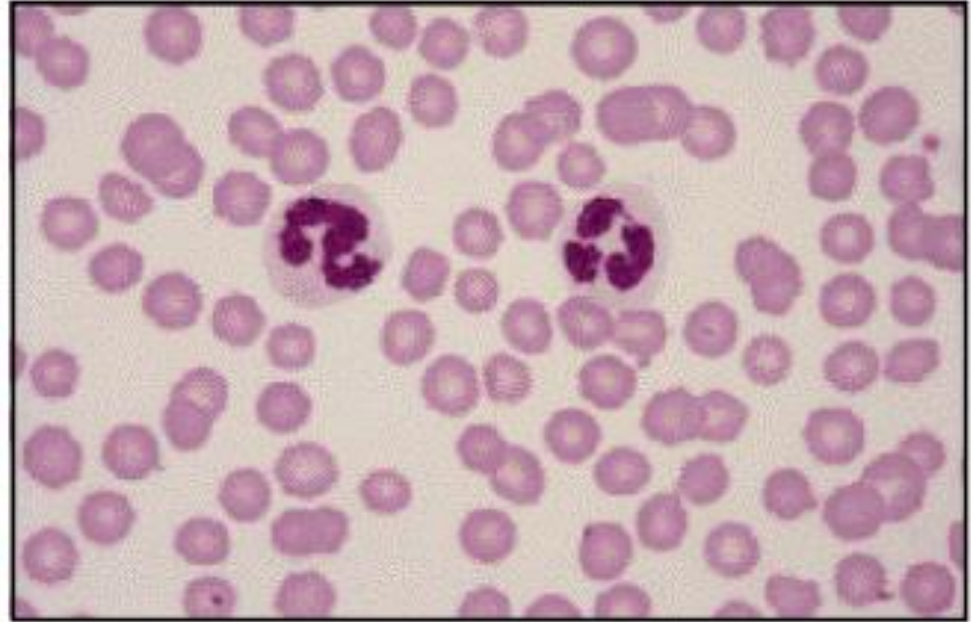
Basophilic
band



Basophil

Neutrófilos

- Circular
- Medida: de 12.0 μ a 15.0 μ de diámetro
- Abundante citoplasma granular rosa pálido
- Núcleos lobulados con cromatina concentrada y tinción profunda

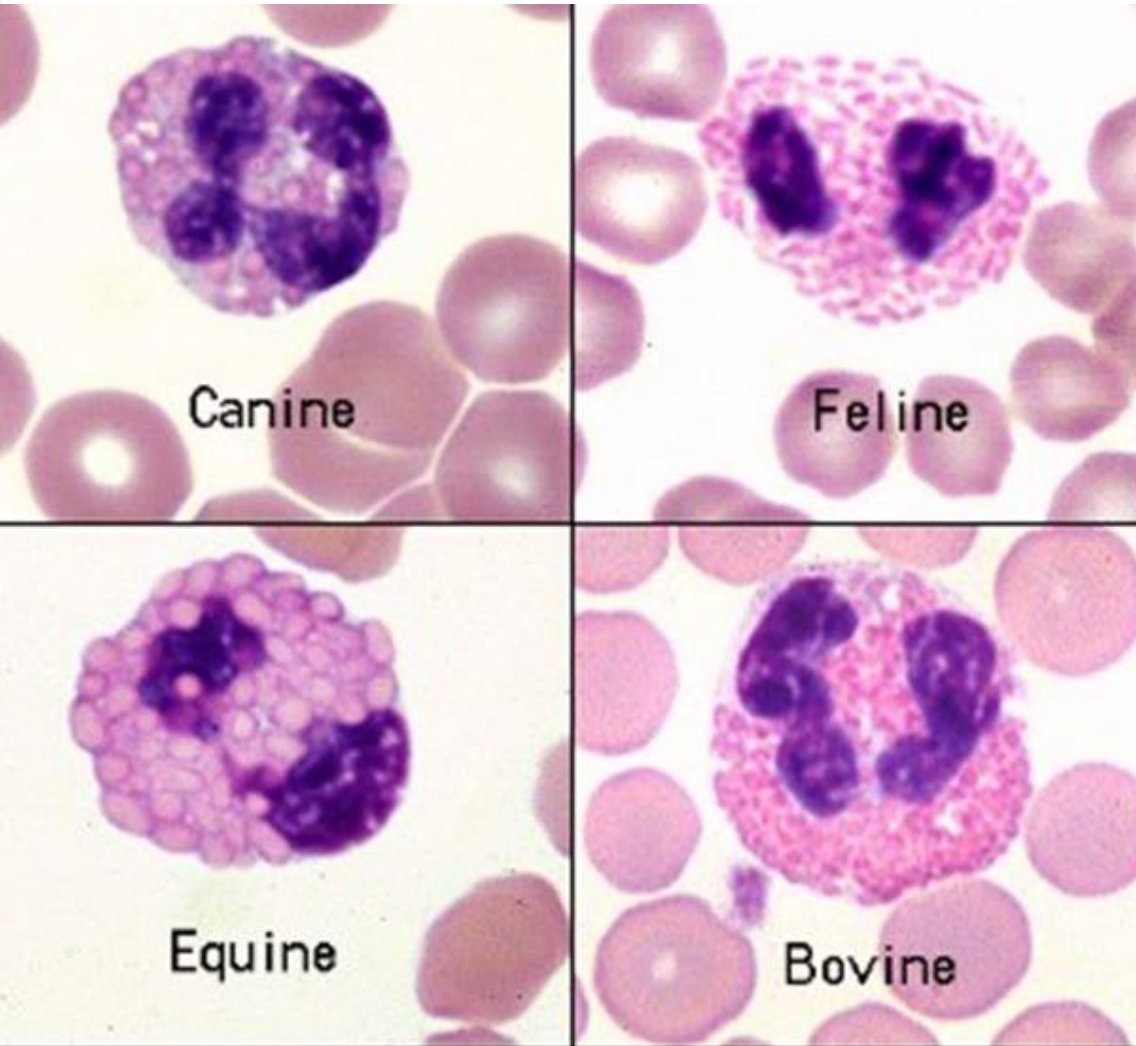


Neutrófilos circulares sanos

En períodos de salud, sólo rara vez se observan neutrófilos inmaduros (células en banda) (<300/ μ l cuando los recuentos de glóbulos blancos son normales).

La producción de un neutrófilo a partir de un mieloblasto demora alrededor de 5 días

Eosinófilos



- 10-12 μm
- Núcleo bilobulado
- Gránulos citoplasmáticos color rojo-anaranjado (eosinofílicos).

Eosinófilos de varias especies

Basófilos

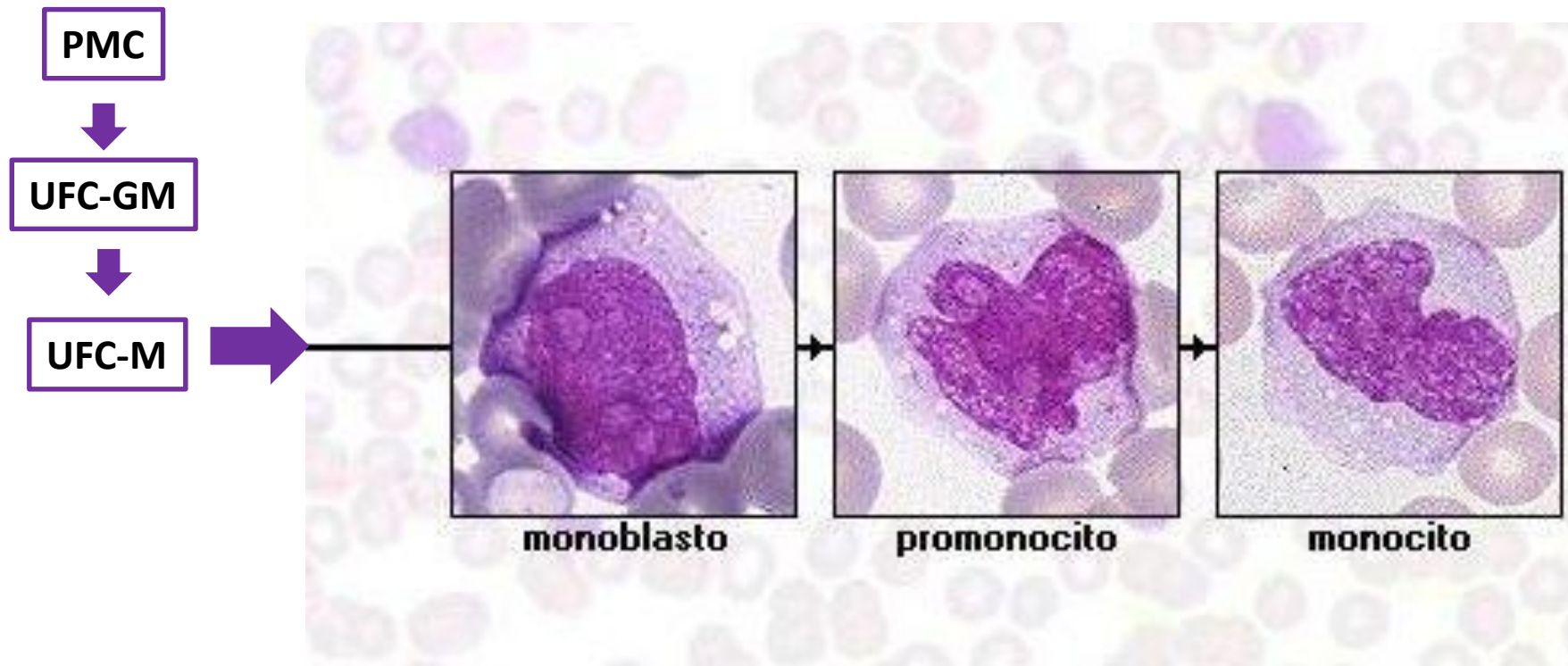


Basófilo

- 10 μm
- Núcleo segmentado
- Citoplasma de color azul-violeta.
- Gránulos gruesos y escasos.
- Intervienen en los procesos alérgicos.

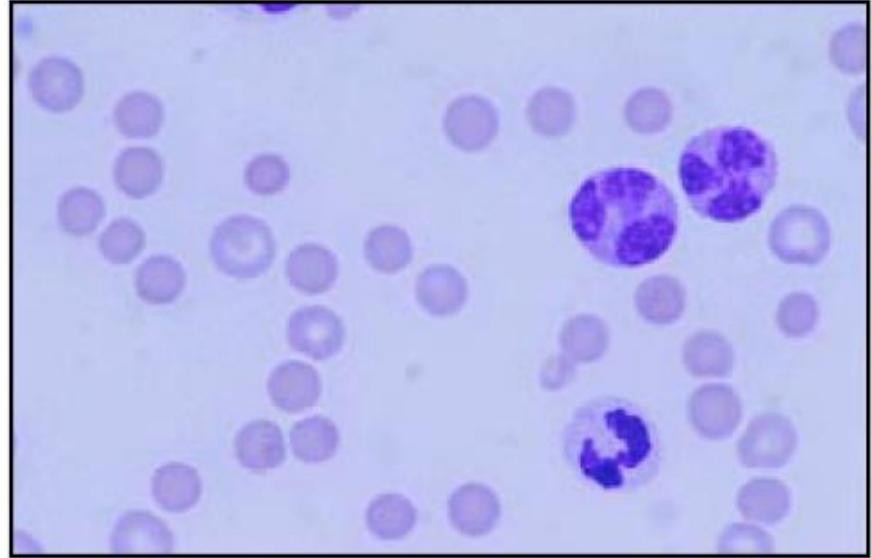
Monopoyesis

Proceso de formación de los monocitos a partir de las UFC-M que proceden de la UFC-GM que es una división de la PMC.

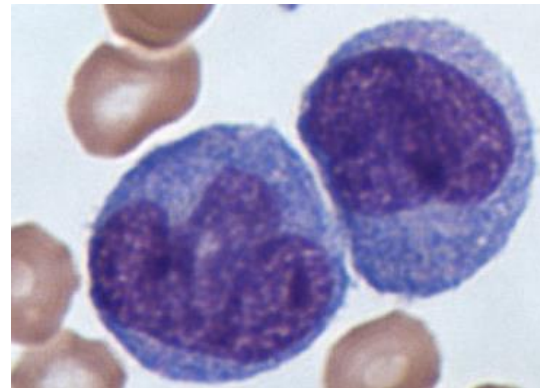


Monocitos

- 18 μm
- Núcleo irregular con cromatina ligera.
- Citoplasma abundante y vacuolado de color gris-azul.

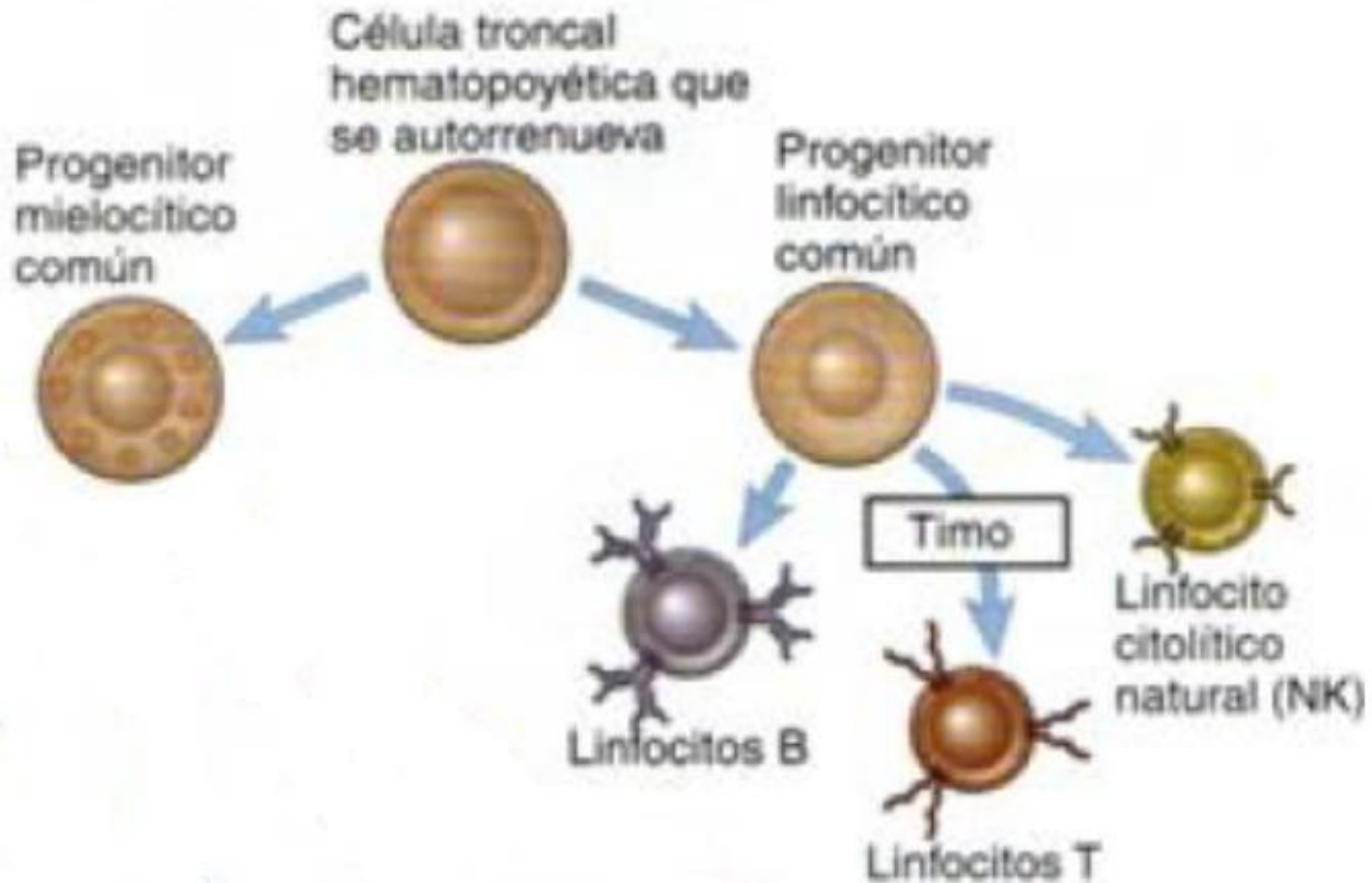


Monocitos caninos normales

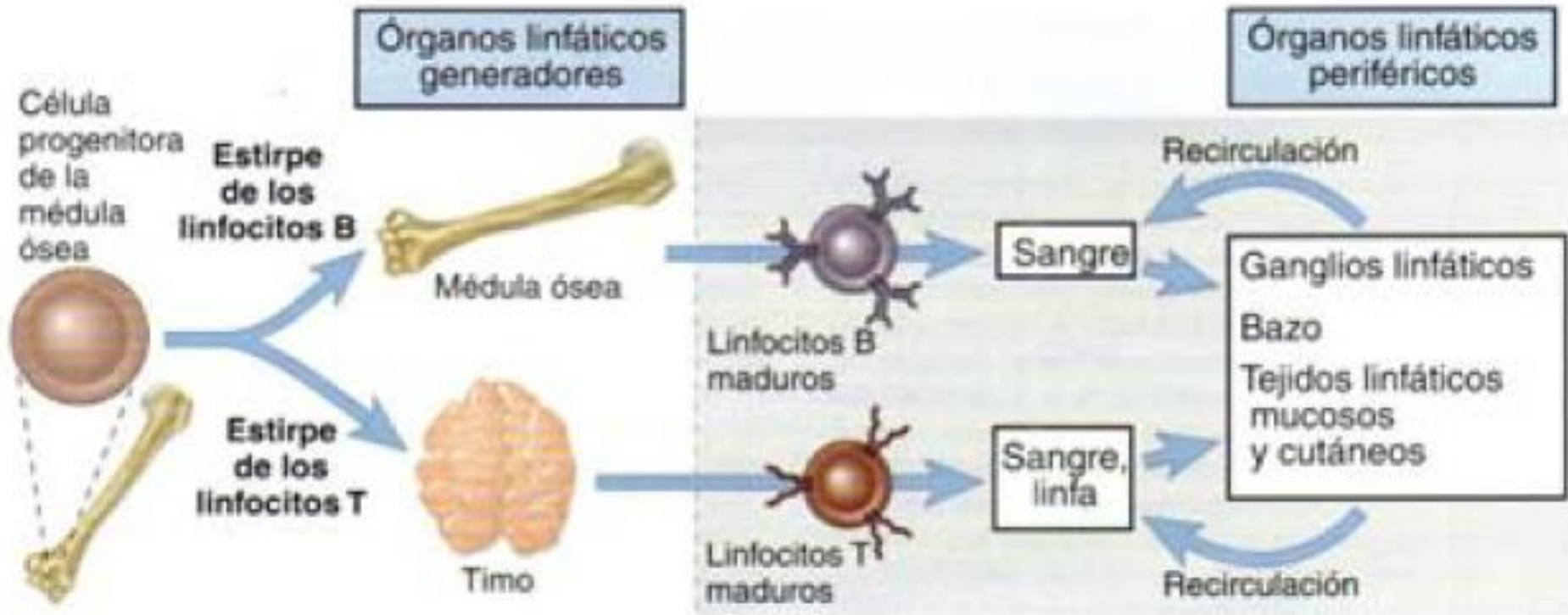


Linfopoyesis

Proceso de producción y maduración de nuevos linfocitos a partir del PLC dando lugar a LB, LT y NK.



Linfopoyesis



LT se diferencian en el timo (mamíferos y aves).

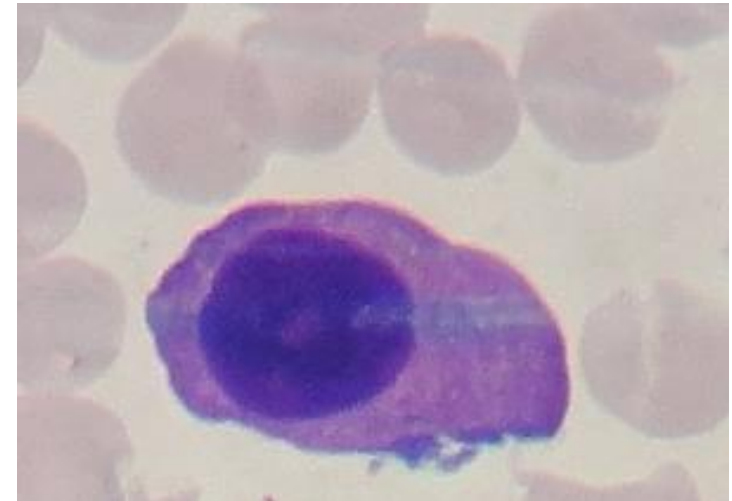
LB en varios órganos distintos: bolsa de Fabricio en aves, en médula ósea en primates y roedores y en placas de Peyer en rumiantes y cerdos.

Linfocitos

- Circular
- 9-12 μm
- Gran núcleo esférico que se tiñe de violeta-azul.
- Citoplasma escaso azul pálido.
- Inactivos o activados (plasmocitos)



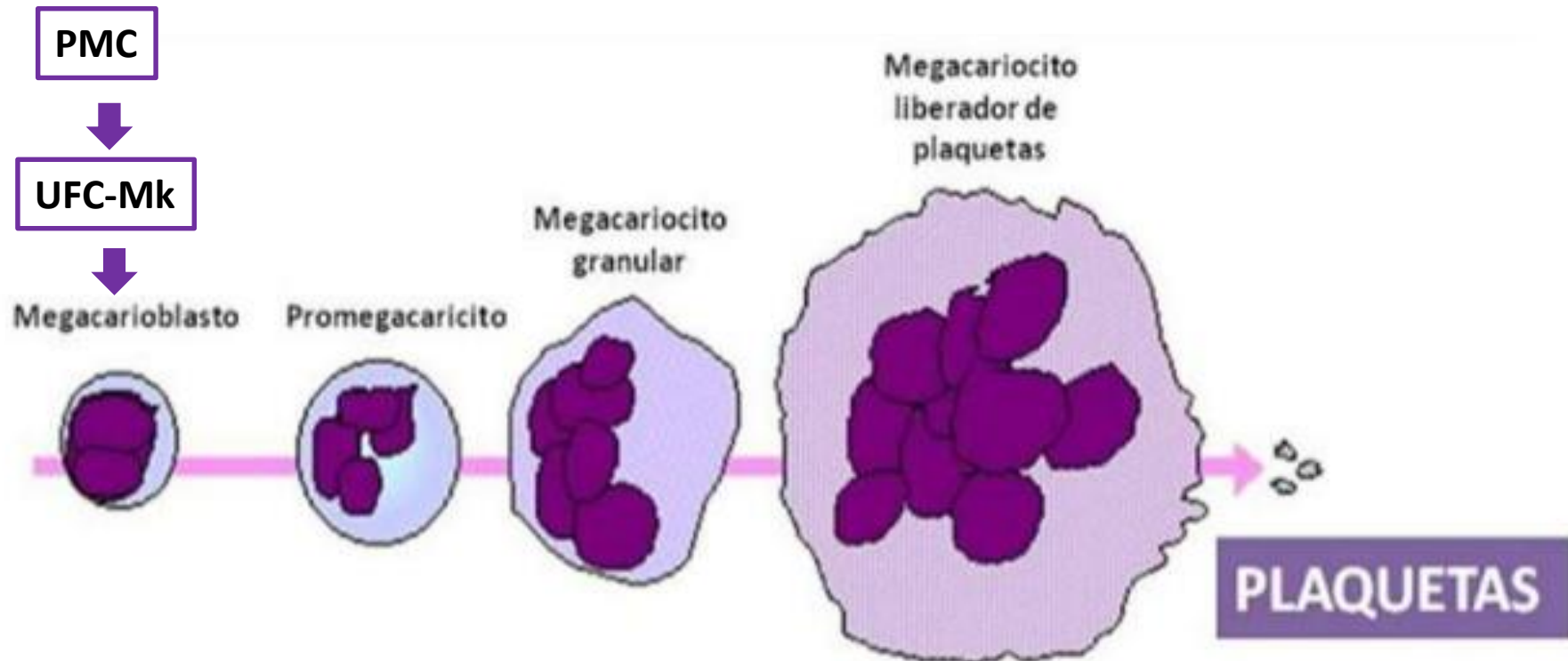
Linfocito T o B inactivos



Plasmocito (LB activado)

Trombopoyesis

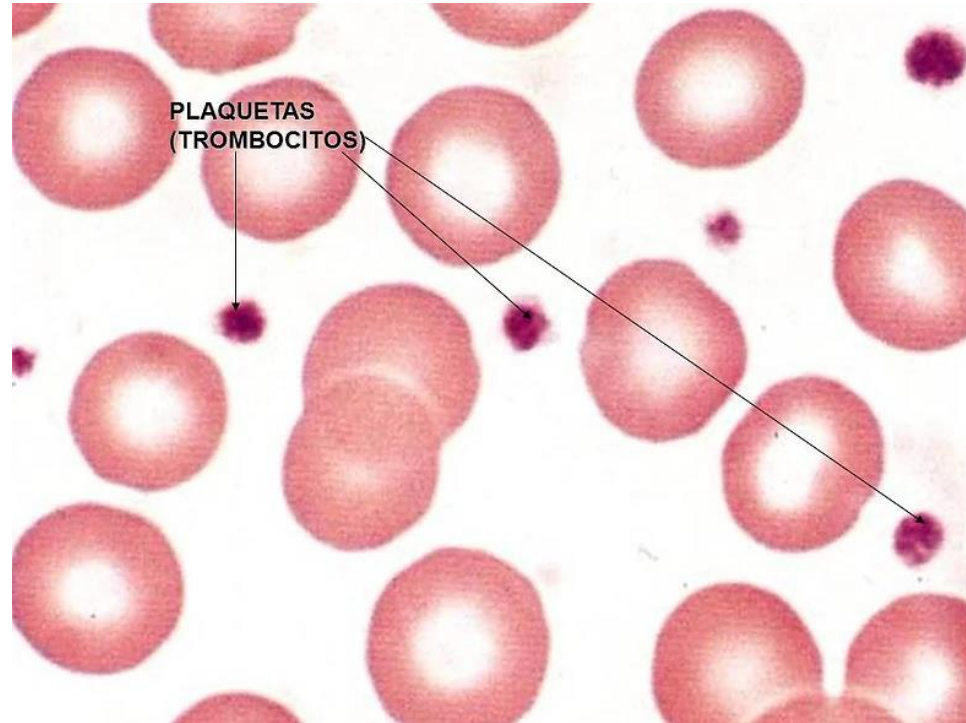
Proceso mediante el cual se generan las plaquetas que promueven la coagulación para impedir la pérdida de sangre en caso de una lesión vascular.



La **trombopoyetina** es un regulador de la producción de plaquetas y es sintetizado principalmente por el hígado, en menor medida en el riñón y por las células del estroma de la MO.

Plaquetas

- Pequeños fragmentos citoplasmáticos
- Irregulares
- Carecen de núcleo
- 2-3 μm
- Trombocitos



Plaquetas (Trombocitos)

PARTE II. Métodos de diagnóstico. Citometría hemática manual.

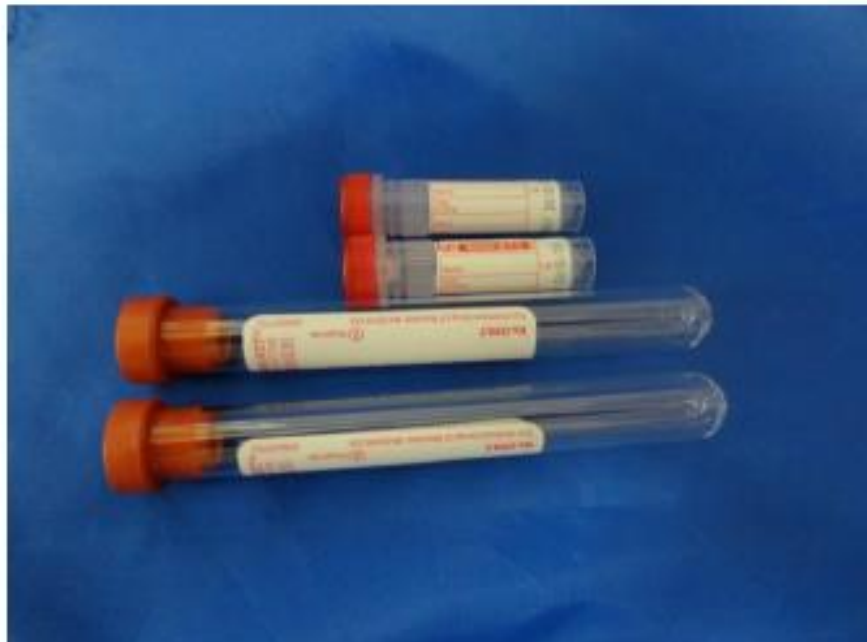
FACTORES BÁSICOS EN LA TOMA Y ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO

El éxito para un diagnóstico correcto y oportuno depende de tres factores:

- Calidad de la muestra
- Cantidad de la muestra
- Tiempo transcurrido en la ruta crítica

- La muestra debe ser tomada en los primeros estados de la enfermedad.
- El material a enviar debe ser limpio, sin desinfectantes, no contaminado, ni con otros productos que permitan alterar la muestra.
- No maltratar al animal cuando se vaya a tomar la muestra.
- Toda muestra debe ser remitida con la mayor información posible.

CONTENEDORES DE RECOLECCIÓN PARA MUESTRAS SANGUÍNEAS TUBOS VACUTAINER®



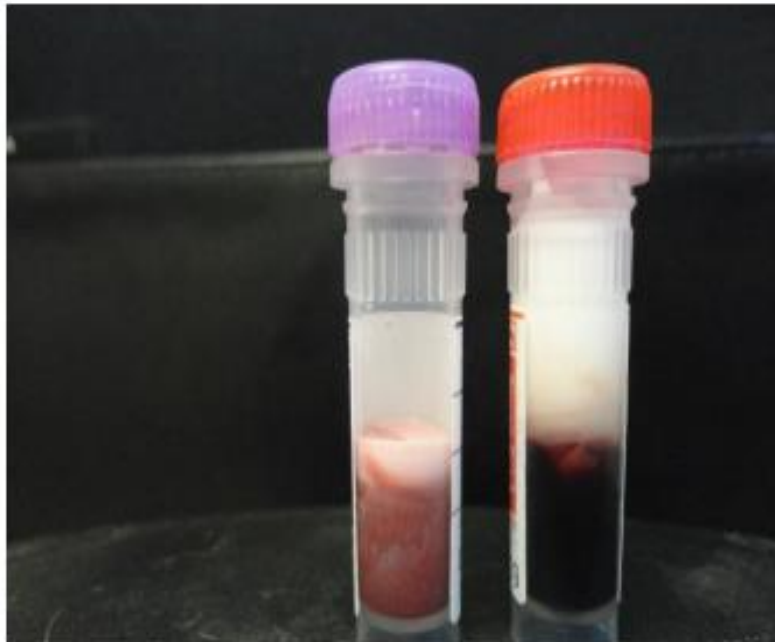
CONTENEDORES DE RECOLECCIÓN PARA MUESTRAS SANGUÍNEAS TUBOS VACUTAINER®

Cuadro 1. Calibres de aguja recomendados de acuerdo con la especie animal

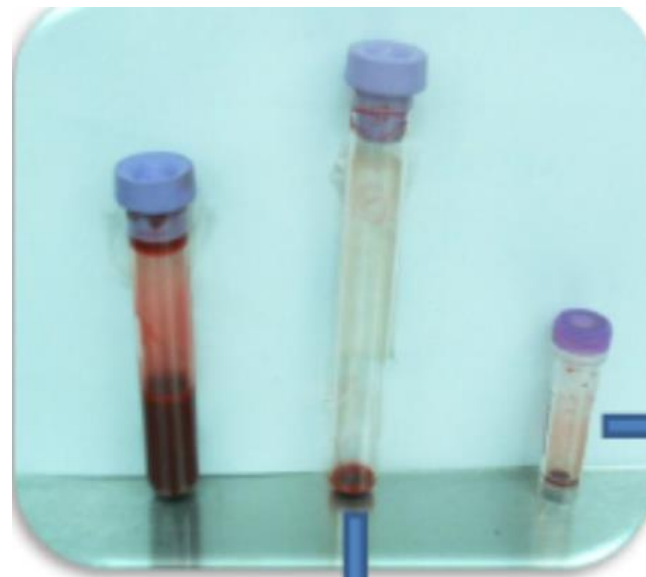
ESPECIE ANIMAL	CALIBRE DE LA AGUJA (G)
Perro	20 – 22
Gato	22 – 23
Equino	16 – 20
Bovino	14 – 18
Ovino	18 – 20
Caprino	18 – 20
Cerdo	18 – 22
Ave	21 – 22
Reptil	21 – 22



CONTENEDORES DE RECOLECCIÓN PARA MUESTRAS SANGUÍNEAS TUBOS VACUTAINER®



CONTENEDORES DE RECOLECCIÓN PARA MUESTRAS SANGUÍNEAS TUBOS VACUTAINER®



Exceso de EDTA
falsa aglutinación

Esto no
alcanza
para
NADA

HEMOGRAMA O CITOMETRÍA HEMÁTICA

El cuadro hemático se convierte en una herramienta de enorme valor práctico por su fácil acceso en todos los casos donde se sospeche de una enfermedad.

Los análisis que se realizan dentro de este estudio arrojan datos correspondientes a la **serie roja**, **serie blanca** y **serie trombocítica**.

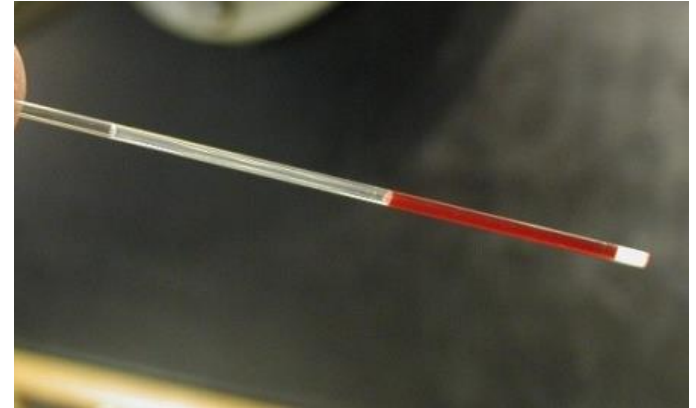
El hemograma es el examen de laboratorio de mayor uso diagnóstico en Medicina veterinaria.

HEMATOCRITO

Proporción que los eritrocitos ocupan en un volumen de sangre. Se mide en %.

Existen 2 métodos:

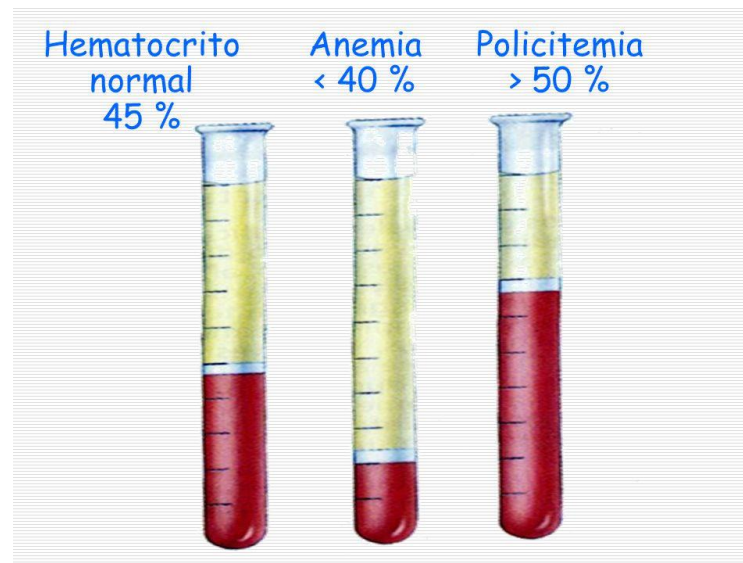
- Macrométodo (Método de Wintrobe)
- Micrométodo (Microhematocrito)



HEMATOCRITO

Su **valor promedio** en diversas especies es de **40%**;
↑ la viscosidad de la sangre aumenta con rapidez
→ **eritrocitosis**.

↓ se refiere a una cantidad anormal de glóbulos rojos en la sangre → **anemia**, esta alteración puede conllevar a un aumento del gasto cardiaco con el fin de proveer la cantidad adecuada de oxígeno cada minuto a los tejidos.



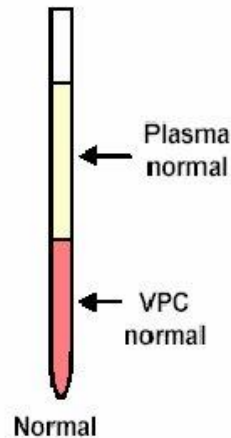
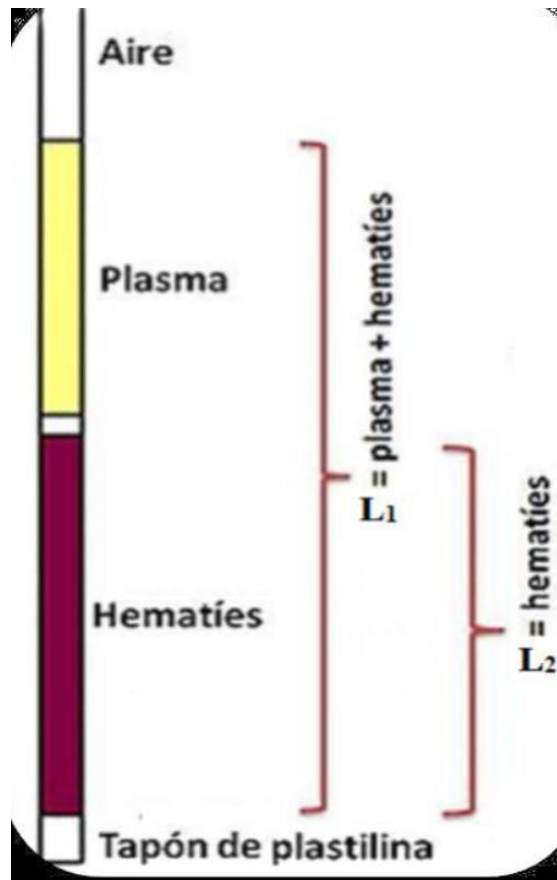
HEMATOCRITO

Materiales:

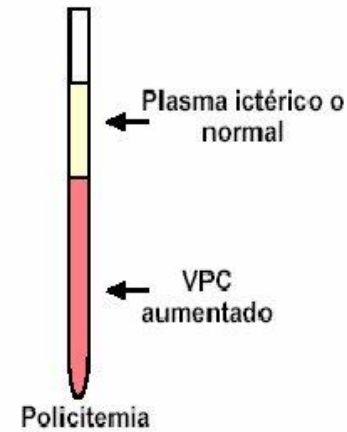
- Muestra de sangre venosa con EDTA o Heparina ó
- Muestra de sangre capilar (oreja, labio o dedo)
- Guantes desechables
- Tubos capilares rojos (heparina; para sangre capilar) ó
- Tubos capilares azules (sin heparina; para sangre venosa con anticoagulante)
- Microcentrífuga
- Lector de microhematocrito
- Plastilina

HEMATOCRITO

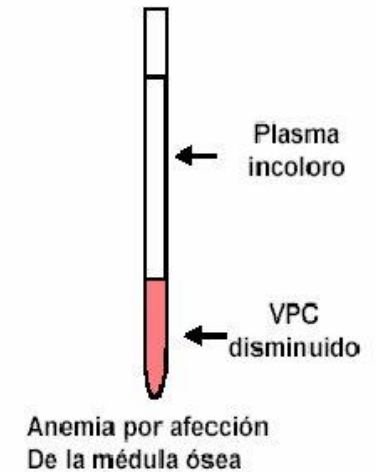
Interpretación:



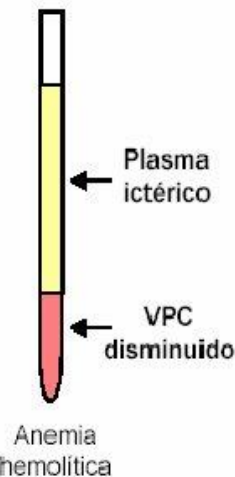
Normal



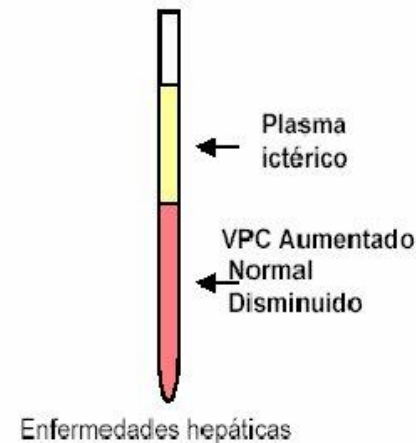
Policitemia



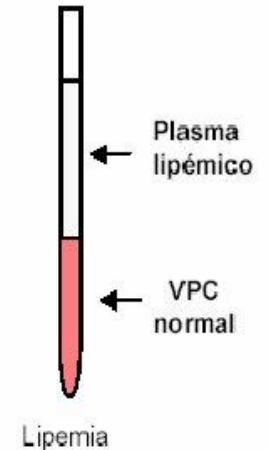
Anemia por afección
De la médula ósea



Anemia
hemolítica



Enfermedades hepáticas



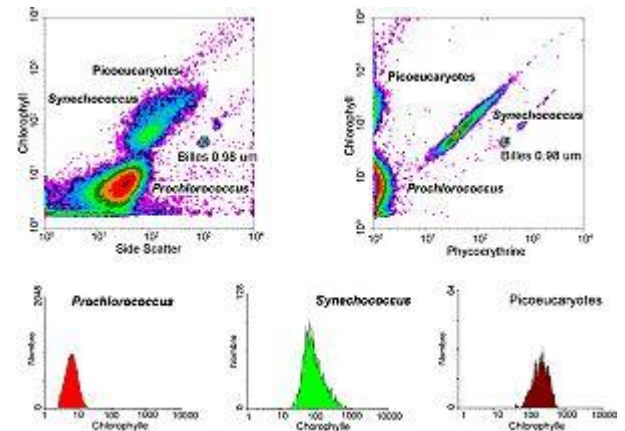
Lipemia

CONTEO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS

El recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas es un examen de sangre que determina el número de glóbulos rojos y blancos y plaquetas que tiene un animal.

Existen 2 métodos:

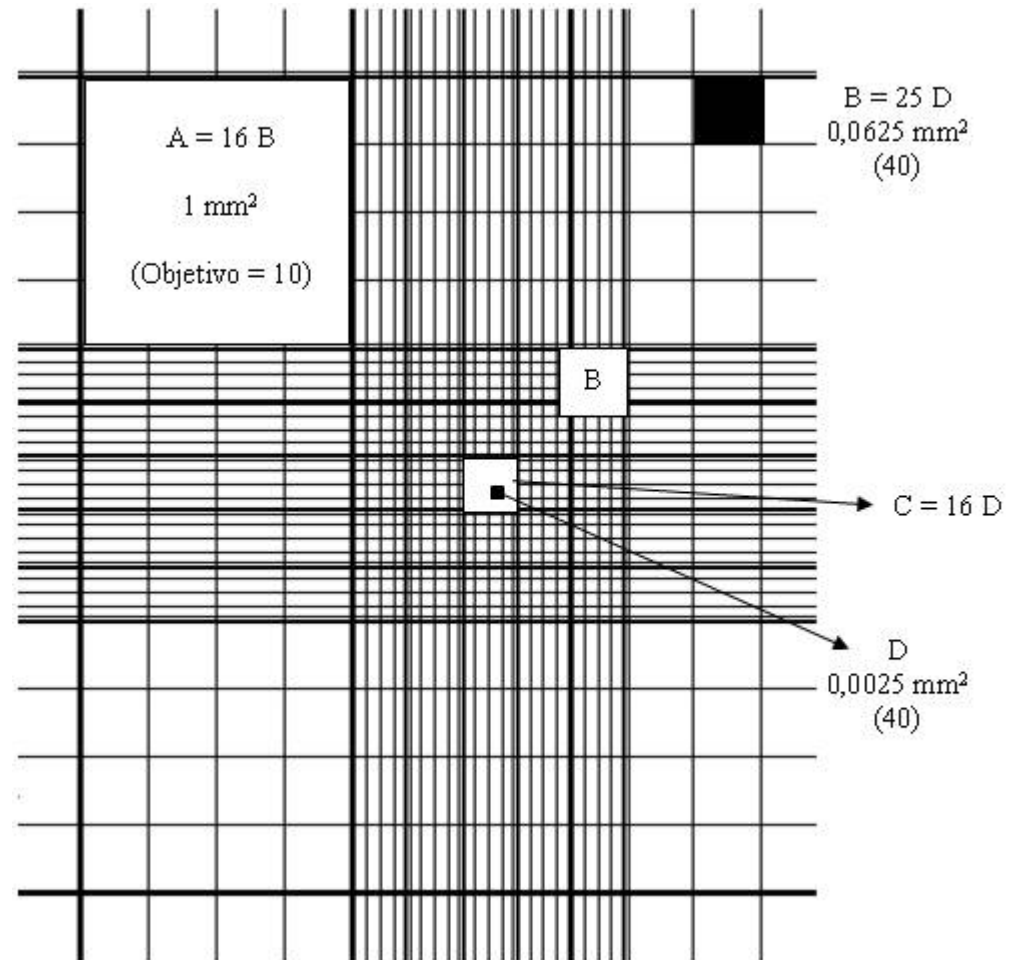
- Manual (cámara de Neubauer)
- Automático (analizadores automatizados)



CÁMARA DE NEUBAUER

Las cámaras de recuento se utilizan para determinar el número de partículas por unidad de volumen de un líquido.

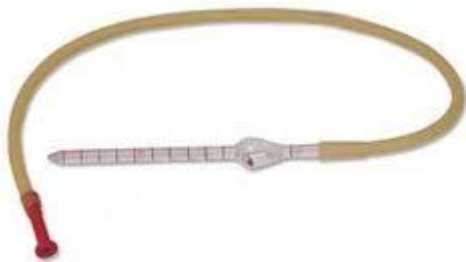
- A. Recuadros grandes (16): 1 mm² (10X). Recuento de **Leucocitos**
- B. Recuadros medianos 0.04 mm² (16x0.0025) (40X). Recuento de **Eritrocitos y trombocitos.**



CONTEO DE ERITROCITOS

Materiales:

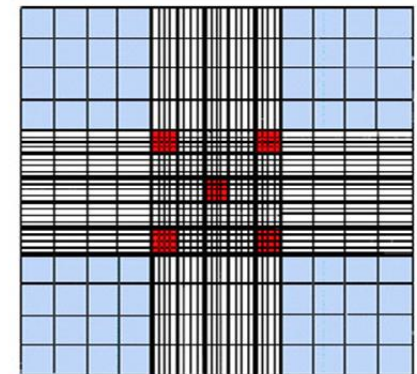
- Muestra de sangre venosa en tubo con anticoagulante EDTA
- Guantes desechables
- Microscopio óptico
- Cámara de Neubauer
- Pipeta de Thoma perla roja
- Solución de Hayem para conteo de eritrocitos
- Cámara de Neubauer



Dilución: 1:200



■ areas en donde se cuentan glóbulos blancos



■ areas en donde se cuentan eritrocitos

CONTEO DE ERITROCITOS

Interpretación:

Fórmula de valoración (válida universalmente)

$$\text{partículas por } \mu\text{L volumen} = \frac{\text{partículas contadas}}{\text{superf. cont. (mm}^2\text{)} \cdot \text{profundidad cámara (mm)} \cdot \text{dilución}}$$

Para el conteo de eritrocitos, se puede seguir el siguiente ejemplo:

Células contadas: **528 eritrocitos**

Superficie contada: 5 cuadros medianos, que corresponden a 0.2 mm²

Profundidad de la cámara: 0.1 mm²

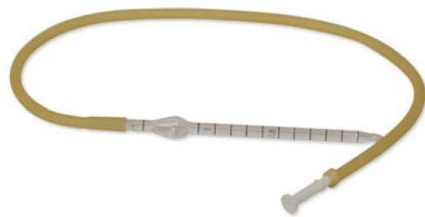
Dilución: 1:200

No. de eritrocitos contados = $(528 \times 200) / (0.2 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm} \times 1) = \mathbf{5200000}$ de **eritrocitos / mm³** o **5.2 x 10⁶ eritrocitos/ mm³** o **5.2 x 10⁶ eritrocitos/μL**

CONTEO DE LEUCOCITOS

Materiales:

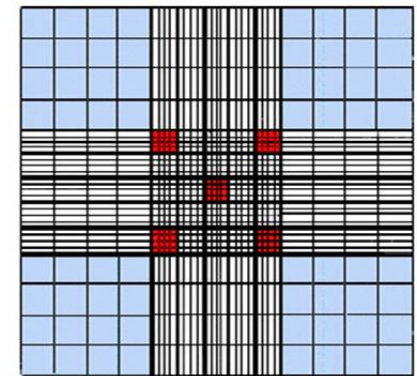
- Muestra de sangre venosa en tubo con anticoagulante EDTA
- Guantes desechables
- Microscopio óptico
- Cámara de Neubauer
- **Pipeta de Thoma perla blanca**
- **Solución de Turk para conteo de leucocitos**
- Cámara de Neubauer



Dilución: 1:20



■ areas en donde se cuentan glóbulos blancos



■ areas en donde se cuentan eritrocitos

CONTEO DE LEUCOCITOS

Interpretación:

Fórmula de valoración (válida universalmente)

$$\text{partículas por } \mu\text{L volumen} = \frac{\text{partículas contadas}}{\text{superf. cont. (mm}^2\text{)} \cdot \text{profundidad cámara (mm)} \cdot \text{dilución}}$$

Para el conteo de leucocitos, se puede seguir el siguiente ejemplo:

Células contadas: **150 leucocitos**

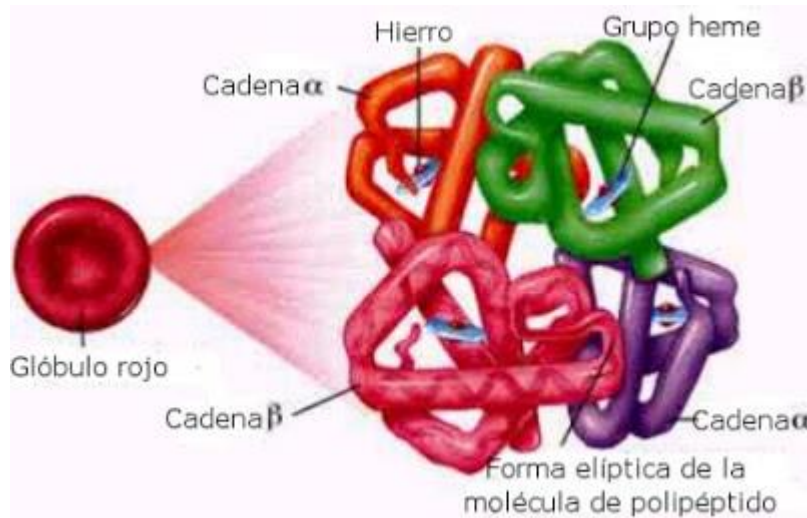
Superficie contada: 4 cuadros grandes, que corresponden a 4 mm²

Profundidad de la cámara: 0.1 mm²

Dilución: 1:20

No. de leucocitos contados = $(150 \times 20) / (4 \text{ mm}^2 \times 0.1 \text{ mm} \times 1) = 7500$ de **leucocitos / mm³** o **7.5 x 10³ leucocitos/ mm³** o **7.5 x 10³ leucocitos/μL**

DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA



Método de detección: Reacción colorimétrica cianometahemoglobina.

Análisis: Espectrofotómetro 540 nm.

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	2,5	2,5	2,5
Calibrador (μ L)	--	10	--
Muestra (μ L)	--	--	10

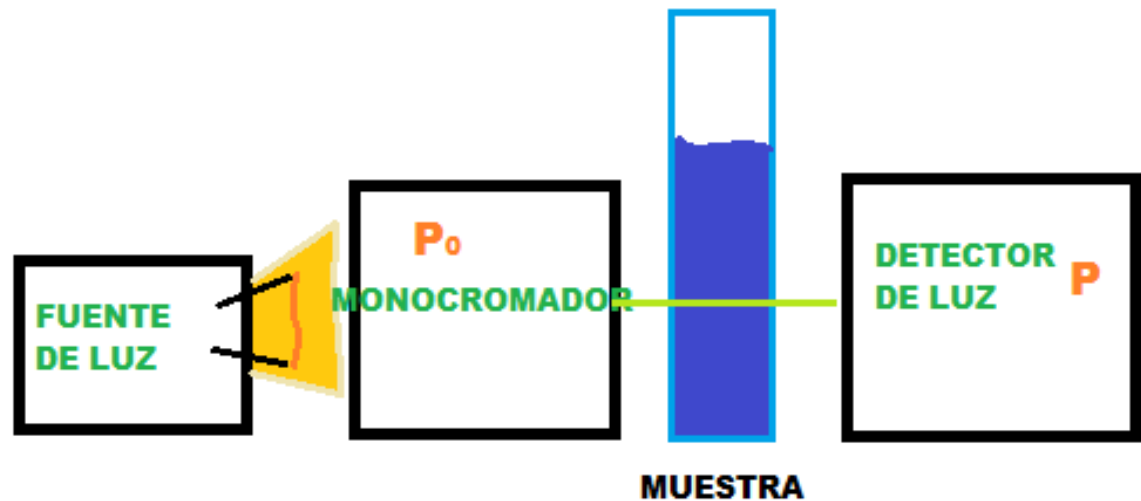
(A) Muestra x Factor (lo indica el equipo) = g/dL de hemoglobina en la muestra

ESPECTROFOTOMETRÍA

Las reacciones analíticas que se miden empleando longitudes de onda dentro del espectro visible se denominan colorimétricas.

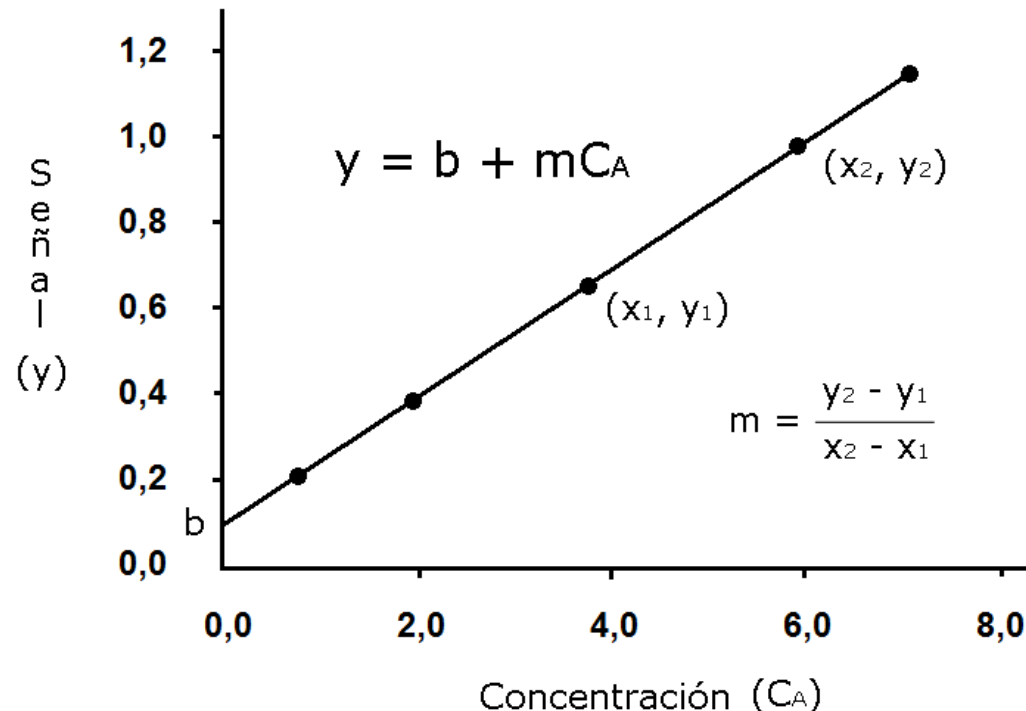
Espectrofotómetro UV-Vis

$$\text{ABSORBANCIA} = \log (P_0/P)$$



CURVA DE CALIBRACIÓN

Es una representación gráfica en un eje de coordenadas de absorbancia (ordenadas) frente a concentración (abscisas) de un patrón y sus diluciones.



OTROS PARÁMETROS DE LA SERIE ROJA

Volumen corpuscular medio (VCM): Es la media del volumen individual de los eritrocitos (glóbulos rojos).

El volumen corpuscular medio es calculado de la siguiente manera:

$$\text{VCM (fL)} = \text{Hct (\%)} / \text{RBC (x10}^6/\mu\text{L)} * 10$$

De acuerdo al valor en el que se encuentre este parámetro, se desprenden dos conceptos; microcítico y macrocítico: **anisocitosis**.

OTROS PARÁMETROS DE LA SERIE ROJA

La **concentración de hemoglobina corpuscular media**, o **CHCM**, es una medida de la concentración de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos.

$$CHCM \text{ (g/dl)} = \frac{\text{Hemoglobina (g/dl)}}{\text{Hematocrito (Vol\%)}} \times 100$$

La CHCM disminuye en las anemias microcíticas.

La CHCM aumenta en la esferocitosis hereditaria, enfermedad de células falciformes.

OTROS PARÁMETROS DE LA SERIE ROJA

La **hemoglobina corpuscular media** o hemoglobina celular media (**HCM**), es una medida de la masa de la hemoglobina contenida en un glóbulo rojo.

$$\text{HCM (pg/cel)} = (\text{Hgb} * 10) / \text{RBC}$$

Está disminuida en anemias hipocrómicas y normal en anemias normocrómicas.

TABLE 1
Reference Intervals for Hematology Values in Domestic Animals

Test	Units	Dogs ^a (N = 130)	Cats ^a (N = 45)	Horses ^a (N = 70)	Cows ^b (58)	Pigs ^c (99)	Goats ^d (NR)
Hematocrit	%	40-56	34-51	30-44	22-32	34-44	22-38
RBC	$\times 10^6/\mu\text{L}$	5.7-8.3	7.4-10.4	6.6-11.0	5.1-7.6	6.4-8.4	8.0-18.0
Hemoglobin	g/dL	14-20	11-16	11-16	8-12	10-14	8-12
MCV	fL	64-74	42-52	38-51	38-50	49-59	16-25
MCH	pg	22-26	13-17	13-19	14-18	NR	5.2-8.0
MCHC	g/dL	33-38	30-33	35-39	36-39	29-33	30-36
RDW	(%)	11-14	13-16	16-21	16-20	15-24	NR
Reticulocytes	$\times 10^3/\mu\text{L}$	8-65	8-57	0	0	NR	0
Platelets	$\times 10^3/\mu\text{L}$	134-396	160-502	100-308	193-637	211-887	300-600
MPV	fL	10-15	10-22	5.9-9.9	4.5-7.5	NR	NR
Icterus index ^e	Units	<5	<5	5-20	2-15	<5	2-5
Plasma protein ^e	g/dL	6.0-8.0	6.2-8.0	6.0-8.0	7.0-8.5	6.0-8.0	6.0-7.5
Fibrinogen ^e	mg/dL	100-400	100-300	100-400	300-700	100-500	100-400
Total leukocytes	$\times 10^3/\mu\text{L}$	5.0-13.0	5.4-15.4	5.6-11.6	4.9-12.0	15.6-38.9	4.0-13.0
Bands	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0-0.3	0-0.3	0-0.1	Rare	NR	Rare
Neutrophils	$\times 10^3/\mu\text{L}$	2.7-8.9	2.3-9.8	2.6-6.7	1.8-6.3	3.0-17.4	1.2-7.2
Lymphocytes	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.9-3.4	0.9-5.5	1.1-5.7	1.6-5.6	7.7-20.4	2.0-9.0
Monocytes	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.1-0.8	0-0.8	0-0.7	0-0.8	0.6-3.4	0-0.6
Eosinophils	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.1-1.3	0-1.8	0-0.6	0-0.9	0.1-2.3	0.1-0.7
Basophils	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0-0.1	0-0.2	0-0.2	0-0.3	0.1-0.3	0-0.1

RBC, red blood cell count; MCV, mean cell volume; MCH, mean cell hemoglobin; MCHC, mean cell hemoglobin concentration; RDW, red blood cell distribution width; MPV, mean platelet volume; NR, not reported.



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

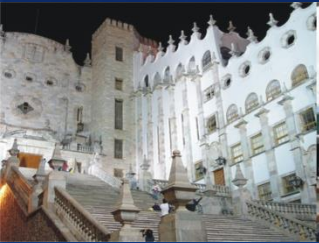




Figura 1-2. Nicho hematopoyético en el adulto. Las CTH se encuentran adyacentes a los osteoblastos que están regulados por la proteína ósea morfogenética (POM) (nicho osteoblástico). Las CTH también se localizan adyacentes a los vasos sanguíneos (nicho vascular). La quimiocina CXCL12 regula la migración de las CTH de la circulación a la médula ósea. El espacio medular contiene células estromales (fibroblastos) que soportan la hemopoyesis y además producen citocinas (ligando c-kit, entre otras) que estimulan a las CTH y a los progenitores hemopoyéticos.

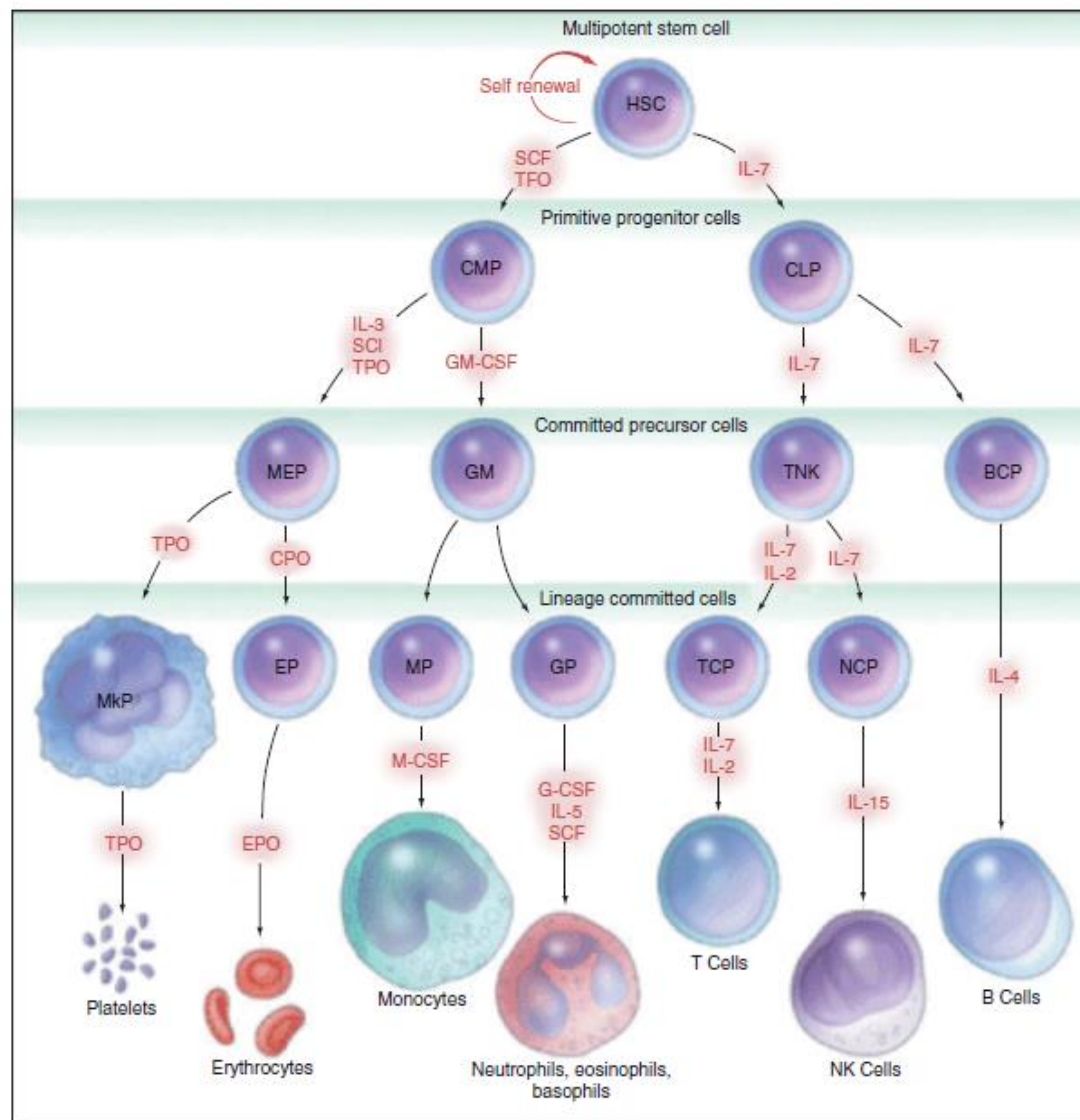
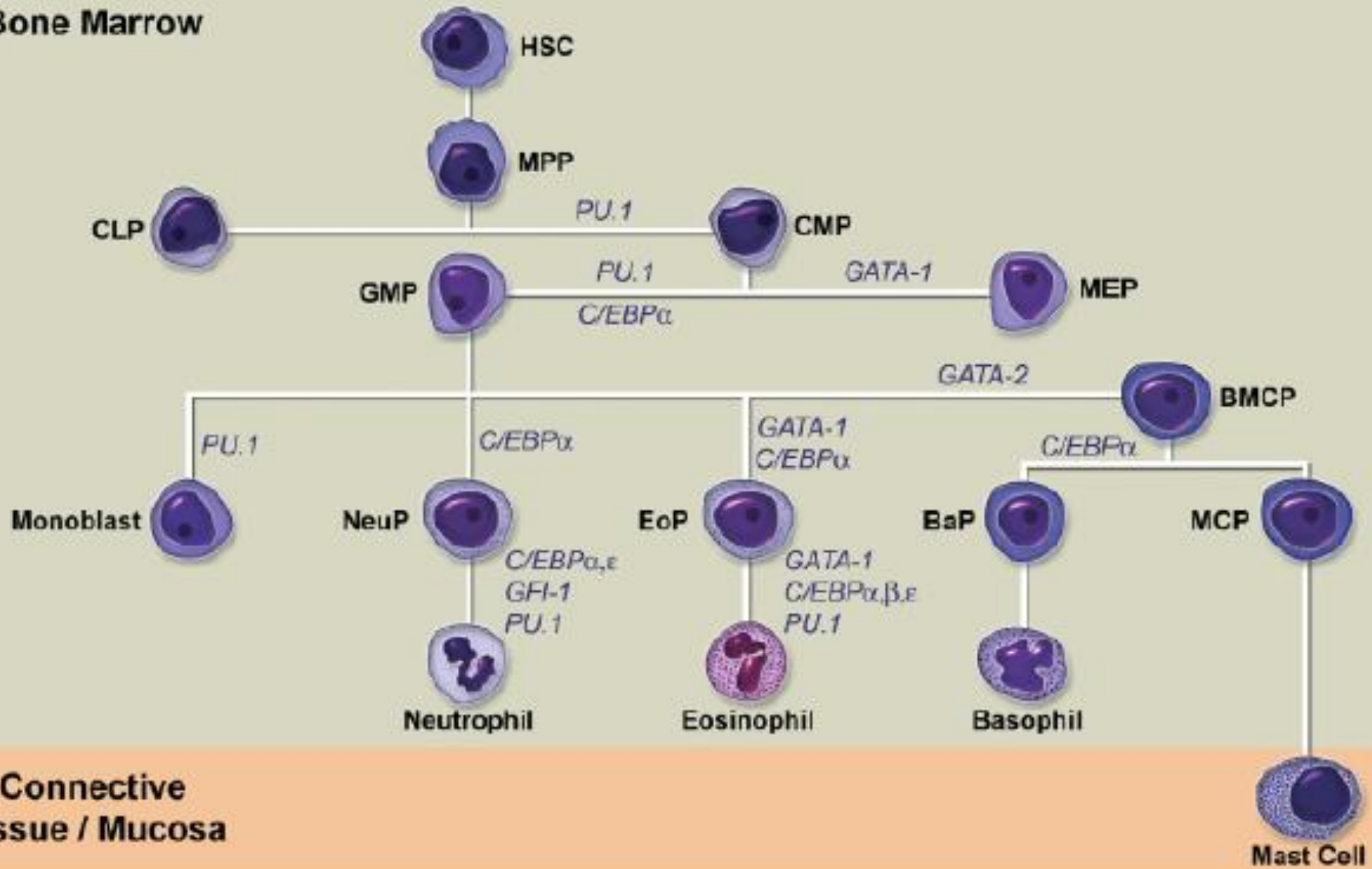


FIGURE 3.2 A general model of hematopoiesis. Blood cell development progresses from a hematopoietic stem cell (HSC), which can undergo either self-renewal or differentiation into a multilineage committed progenitor cell: a common lymphoid progenitor (CLP) or a common myeloid progenitor (CMP). These cells then give rise to more differentiated progenitors, comprising those committed to two lineages that include T cells and natural killer cells (TNKs), granulocytes and macrophages (GMs), and megakaryocytes and erythroid cells (MEPs). Ultimately, these cells give rise to unilineage committed progenitors for B cells (BCPs), NK cells (NKPs), T cells (TCPs), granulocytes (GPs), monocytes (MPs), erythrocytes (EPs), and megakaryocytes (MkPs). Cytokines and growth factors that support the survival, proliferation, or differentiation of each type of cell are shown in red. For simplicity, the three types of granulocyte progenitor cells are not shown; in reality, distinct progenitors of neutrophils, eosinophils, and basophils or mast cells exist and are supported by distinct transcription factors and cytokines (e.g. interleukin-5 in the case of eosinophils, stem-cell factor [SCF] in the case of basophils or mast cells, and G-CSF in the case of neutrophils). IL denotes interleukin, TPO thrombopoietin, M-CSF macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF granulocyte-macrophage CSF, and EPO erythropoietin. (Reprinted from Kaushansky K. Lineage-specific hematopoietic growth factors. *New Engl J Med* 2006;354:2034–2045, with permission. ©Massachusetts Medical Society 2006.)

Bone Marrow



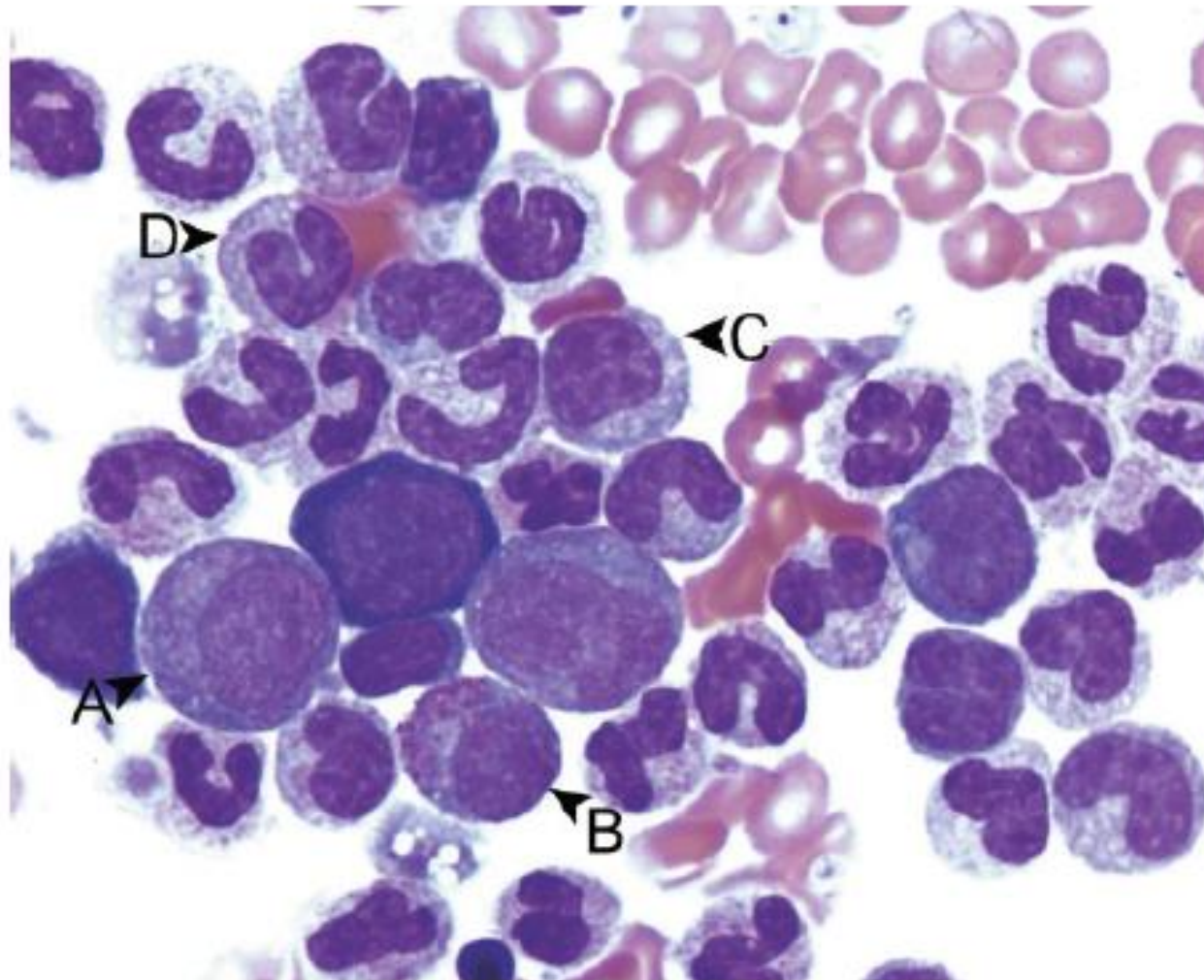


FIGURE 7.2 Granulocytic precursors in canine bone marrow. (A) promyelocyte, (B) eosinophilic myelocyte, (C) metamyelocyte, (D) band neutrophil. Wright Giemsa stain; original magnification 1000 $\times$.

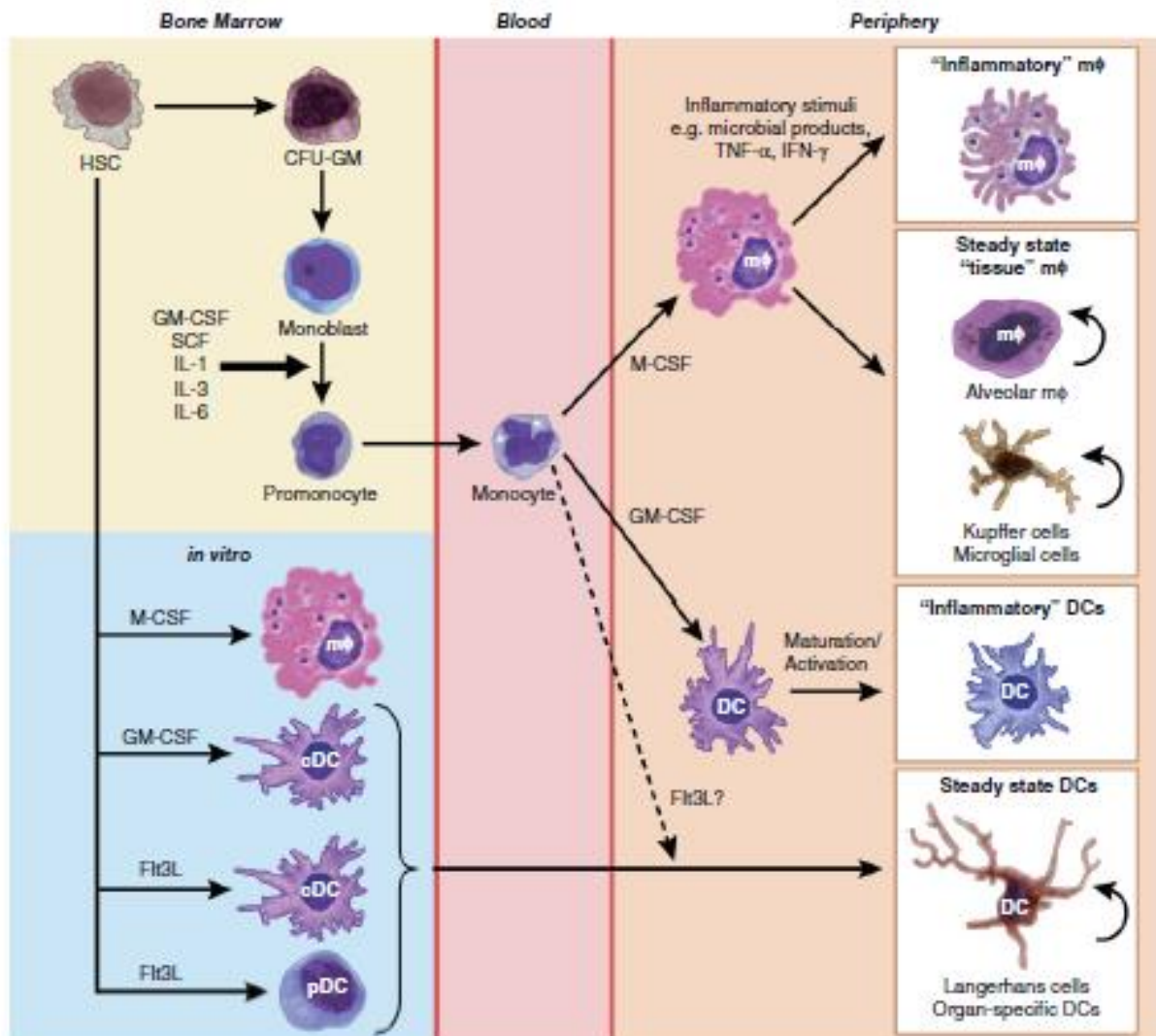


FIGURE 8.1 Location and developmental pathways of monocytes, macrophages (mφ) and dendritic cells (DCs). Hematopoietic stem cells (HSCs) give rise to CFU-GM which can then give rise to monocytic (and granulocytic) precursors. Monocytes circulate in blood and can develop into either macrophages or DCs. M-CSF promotes development of mφs from monocytes. GM-CSF promotes development of DCs. Inflammatory stimuli and other mφ factors can give rise to "inflammatory" mφ and DC populations. In steady state, tissue mφs and DCs are replenished by either circulating monocytes or self-renewal. In vitro, HSCs give rise to mφs when cultured with M-CSF, conventional DCs (cDCs) when cultured with GM-CSF, and cDCs and plasmacytoid DCs (pDCs) when cultured with Flt3L. Flt3L acts on bone marrow to generate both cDCs and pDCs that represent "steady state" DCs. GM-CSF acts on monocytes to generate DCs with an "inflammatory" phenotype.