1 Perspectiva general del laboratorio de hematología clínica

George A. Fritsma

CONTENIDO

Historia
Eritrocitos
Hemoglobina, hematocrito e índices hematimétricos
Reticulocitos
Leucocitos
Plaquetas
Hemograma completo
Examen del frotis sanguíneo
Células endoteliales
Coagulación
Procedimientos de hematología avanzados
Otros procedimientos en hematología
Seguridad de la calidad y control de calidad en hematología

El ser humano promedio posee 5 litros de sangre. La sangre transporta oxígeno desde los pulmones a los tejidos, elimina de estos el dióxido de carbono, transporta glucosa, proteínas y grasas y moviliza los desechos hacia el hígado y los riñones. La porción líquida es el plasma, que, entre muchos otros componentes, proporciona enzimas de la coagulación que protegen a los vasos sanguíneos del traumatismo y mantienen la circulación.

El plasma transporta y nutre las células de la sangre. Hay tres familias de células sanguíneas: glóbulos rojos o *eritrocitos*; glóbulos blancos o *leucocitos* y trombocitos o *plaquetas*.[1] La hematología es el estudio de las células sanguíneas. Mediante la tinción, el recuento, el análisis y el registro del aspecto, el fenotipo y el genotipo de los tres tipos de células, el laboratorista clínico puede predecir, detectar y diagnosticar enfermedades de la sangre y muchas enfermedades sistémicas que afectan a las células sanguíneas. Los médicos se basan en los resultados de pruebas de laboratorio de hematología para seleccionar y supervisar el tratamiento de estos trastornos.

HISTORIA

Los primeros científicos, como Athanasius Kircher en 1657, describieron "gusanos" en la sangre, y Anton van Leeuwenhoek en 1674 les dio el nombre de glóbulos rojos,[2] pero recién a fines de 1800 Giulio Bizzozero describió las plaquetas como "placas pequeñas".[3] El desarrollo de la tinción de Wright por James Homer Wright en 1902 abrió un nuevo mundo del examen visual de la sangre a través del microscopio. Aunque ahora muchos instrumentos automatizados permiten diferenciar y contar las células sanguíneas, la tinción de Wright del tipo Romanowsky (policromática, una mezcla de colorantes ácidos y básicos), y las modificaciones posteriores, siguen siendo el centro de la identificación de las células sanguíneas.[4]

En el laboratorio de hematología actual se analiza el aspecto de los eritrocitos, los leucocitos y las plaquetas en forma visual mediante el examen por microscopia óptica con un aumento de 500× a 1.000× de las células fijadas a un portaobjetos y teñidas con *tinción de Wright* o de *Wright-Giemsa* (véase Cap. 15). El término científico para expresar el aspecto de la célula es *morfología*, que abarca el color, el tamaño, la forma, las inclusiones citoplasmáticas y la condensación nuclear.

ERITROCITOS

Los eritrocitos son células bicóncavas y anucleadas que contienen una proteína rojiza, la hemoglobina (Hb), que transporta el oxígeno y el dióxido de carbono (véase Cap. 10). Los eritrocitos presentan un aspecto rosado a rojo y miden de 6 a 8 µm de diámetro, con una zona pálida que recubre un tercio de su centro (Fig. 1-1, A) que refleja su biconcavidad (véanse Caps. 8 y 9).

Rodak: Hematología. Fundamentos y aplicaciones clínicas. 4a Edición © 2014

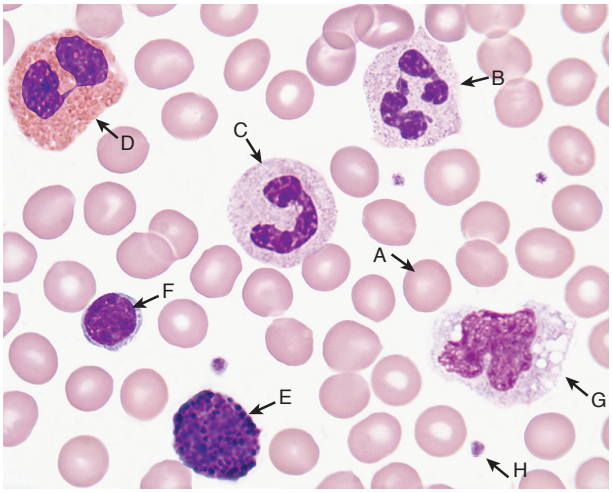

Figura 1-1 **A,** eritrocito normal. **B,** neutrófilo polimorfonuclear normal (PMN). **C,** neutrófilo en banda normal. **D,** eosinófilo normal. **E,** basófilo normal. **F,** linfocito normal. **G,** monocito normal. **H,** plaqueta normal.

Desde antes de 1900, los médicos y los laboratoristas contaban los eritrocitos en volúmenes medidos para detectar anemia o policitemia. *Anemia* significa pérdida de la capacidad de transporte de oxígeno y a menudo se refleja en un recuento reducido de eritrocitos (véanse Caps. 14 y 18). *Policitemia* significa un aumento del recuento de eritrocitos que refleja una masa mayor de eritrocitos en el organismo, una enfermedad que conduce a la hiperviscosidad (véase Cap. 34). Para contar los eritrocitos, los laboratoristas pipetean con cuidado una pequeña alícuota de sangre entera y la mezclan con solución fisiológica al 0,85% (normal). Esta concentración de solución fisiológica coincide con la osmolalidad normal de la sangre; en consecuencia, los eritrocitos en suspensión conservan su morfología original, no están hinchados ni contraídos. Hasta el advenimiento de la automatización, para el recuento de eritrocitos se usaba una dilución 1:200 y lo usual era utilizar una pipeta de vidrio diseñada para proporcionar esta dilución, la pipeta de Thoma, que todavía está disponible en empresas de suministros para laboratorios clínicos.

La sangre diluida se transfería a una cámara de recuento o hemocitómetro (véase Fig. 14-1). El laboratorista observaba y contaba los eritrocitos en áreas seleccionadas de la cámara, aplicaba una fórmula matemática basada en la dilución y en el área contada (véase Cap. 14), e informaba el recuento de eritrocitos en células por microlitro (μL), mililitro (mL, también llamado centímetro cúbico o cc) o litro (L).

El recuento visual de eritrocitos fue desarrollado antes de 1900 y, aunque nunca exacto, era la única forma de contar los eritrocitos hasta 1958, cuando se introdujeron los contadores de partículas automatizados en el laboratorio clínico. El primer contador electrónico, patentado en 1953 por Joseph y Wallace Coulter de Chicago, Illinois, tuvo un uso tan difundido que en la actualidad los contadores automatizados de células a menudo se denominan contadores Coulter, aunque existen muchos competidores de alta calidad (véase Cap. 39).[5] El principio Coulter de impedancia eléctrica de corriente continua todavía se usa para el recuento de eritrocitos en muchos instrumentos con perfil automatizado de hematología. Afortunadamente, la amplia disponibilidad de contadores celulares automatizados ha sustituido el recuento visual de eritrocitos.

Hemoglobina, hematocrito e índices hematimétricos

Los eritrocitos también se evalúan para determinar la concentración de hemoglobina y el hematocrito (Hct, véanse Caps. 10 y 14). La medición de la hemoglobina se basa en una solución débil de cianuro de potasio y ferrocianuro de potasio, conocido como reactivo de Drabkin. Una alícuota de sangre se mezcla con un volumen medido de *reactivo de Drabkin*, la hemoglobina se convierte en *cianmetahemoglobina* estable (hemoglobincianuro) y la solución se coloca en un fotómetro con luz incidente de 540 nm de longitud de onda. La intensidad de color se compara con la de un blanco del reactivo y un estándar conocido y en forma matemática se convierte en concentración de hemoglobina. El reactivo de Drabkin se utiliza en las aplicaciones manuales y la mayoría de las automatizadas, aunque algunos instrumentos de hematología automatizados utilizan una formulación de surfactante iónico (detergente), el *dodecilsulfato de sodio*, para reducir el cianuro ambiental.

El hematocrito es la relación entre el volumen de eritrocitos y el volumen de sangre entera; se determina mediante la transferencia de sangre a un tubo de plástico graduado que se centrifuga, se mide la columna de eritrocitos y se divide por la altura total de eritrocitos y plasma. La relación normal se aproxima al 50% (los valores de referencia se muestran en la retiración de tapa). El hematocrito también se llama volumen de células empacadas (VCE); las células empacadas se refieren a los eritrocitos. A menudo se puede ver una capa de color claro entre el plasma y los eritrocitos. Esta es la capa enriquecida de leucocitos y plaquetas (*buffy coat*). El laboratorista puede utilizar los tres resultados numéricos, el recuento de eritrocitos, la hemoglobina y el hematocrito, para calcular los índices hematimétricos: el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración hemoglobínica corpuscular media (CHCM, véase Cap. 14). El VCM, aunque una medida de volumen, refleja el diámetro de los eritrocitos en un frotis de sangre teñido con Wright; la CHCM refleja la intensidad de la tinción o el grado de palidez de los eritrocitos. La HCM expresa la masa de la hemoglobina y refleja mejor la CHCM. Un cuarto índice eritrocítico, la amplitud de la distribución eritrocítica (ADE), expresa el grado de variación en el volumen de eritrocitos. La variabilidad extrema del volumen de los eritrocitos se observa en el frotis de sangre teñido con Wright como la variación del diámetro y se denomina *anisocitosis*. La ADE se basa en la desviación

estándar del volumen de eritrocitos y se informa de manera usual en los contadores automatizados de células, pero no se puede proporcionar mediante las mediciones manuales de eritrocitos. Además de ayudar al diagnóstico, los índices hematimétricos proporcionan mediciones estables para el control de calidad interno (véase Cap. 5).

Los laboratoristas utilizan de manera habitual el examen visual con aumento 1.000× (véase Cap. 4) para revisar la morfología de los eritrocitos, en la que describen el diámetro de estos, el color o la hemoglobinización, la forma y la presencia de inclusiones citoplasmáticas (véase Cap. 18). Todos estos parámetros, recuento de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito, índices y morfología de los eritrocitos, se usan para detectar, diagnosticar, evaluar la intensidad y supervisar el tratamiento de la anemia, la policitemia y numerosas enfermedades sistémicas que afectan a los eritrocitos. En casi todos los laboratorios, se utilizan equipos automatizados de hematología para generar estos datos, aunque el examen del frotis sanguíneo teñido con Wright es todavía fundamental.

Reticulocitos

En el frotis sanguíneo teñido con Wright, del 1 al 2% de los eritrocitos superan el diámetro promedio de 6 a 8 mm y se tiñe de color azul grisáceo. Estos son eritrocitos policromatófilos, liberados recientemente desde la médula ósea, el sitio de producción de los eritrocitos (véanse Caps. 8 y 16). Los eritrocitos policromatófilos se observan en detalle porque indican la regeneración de la médula ósea en casos de pérdida de sangre y ciertas anemias (véanse Caps. 23 a 25).

Para diferenciar y contar estos eritrocitos jóvenes, se utilizan los colorantes de azul de metileno, denominados tinciones de ácidos nucleicos o vitales, que son colorantes absorbidos por las células viables. Los eritrocitos jóvenes contienes ácido ribonucleico (RNA) y se denominan reticulocitos cuando el RNA se destaca mediante el empleo de tinciones vitales. El recuento de reticulocitos fue (y sigue siendo) una tarea visual tediosa e imprecisa hasta el advenimiento del recuento automatizado de reticulocitos por TOA Corporation (en la actualidad Sysmex Corporation, Kobe, Japón) en 1990. Ahora, todos los equipos completamente automatizados proporcionan un recuento absoluto de reticulocitos y una medida particularmente sensible de la función de la médula ósea, el recuento de reticulocitos inmaduros o la fracción de reticulocitos inmaduros. A pesar del desagrado de algunos, todavía es necesario confirmar de vez en cuando los recuentos realizados en los equipos automatizados con el análisis visual para que los laboratoristas mantengan esta destreza.

LEUCOCITOS

Los leucocitos, o glóbulos blancos, no son realmente células sanguíneas; son una agrupación vagamente relacionada de familias de células dedicadas a proteger a su huésped de infecciones y lesiones (véanse Caps. 12 y 28). Los leucocitos son como "pasajeros" en la sangre desde su origen, en general la médula ósea o el tejido linfoide, a su destino en los tejidos. Se denominan así porque son casi incoloros en una suspensión celular no teñida. En la *leucemia crónica*, el aumento extremo en el recuento de leucocitos imparte un aspecto lechoso a la sangre (véanse Caps. 34 y 36).

Los leucocitos pueden contarse en forma visual mediante el empleo de un microscopio, un hemocitómetro y una pipeta de Thoma. La técnica es similar a la del recuento de eritrocitos, pero la dilución típica es de 1:20 y el diluyente está formado por ácido acético diluido en solución fisiológica normal. El ácido provoca la lisis (destrucción) de los eritrocitos; sin ello, los eritrocitos enmascararían a los leucocitos, cuyo número oscila entre 4.500 y 11.500/µL. El recuento visual de leucocitos ha sido reemplazado en gran medida por equipos automatizados de hematología, pero es exacto y útil en situaciones en que no se dispone de esta automatización. Los laboratoristas que analizan los líquidos corporales, como el líquido cefalorraquídeo, emplean a diario el recuento visual de leucocitos.

La disminución en el recuento de leucocitos (menos de 4.500/µL) se denomina *leucopenia* y el aumento del recuento (más de 11.500/µL) se llama *leucocitosis*, pero los recuentos de leucocitos solo tienen valor clínico moderado. El laboratorista debe diferenciar las familias de leucocitos transportados en la sangre mediante un frotis sanguíneo teñido con Wright y microscopia óptica (véase Cap. 15). Los tipos de leucocitos son los siguientes:

- Neutrófilos polimorfonucleares (PMN o neutrófilos segmentados; véase la Fig. 1-1, B). Son células fagocíticas cuyo único propósito es fagocitar y destruir las bacterias que han sido marcadas antes como nocivas por el sistema inmunitario. El aumento de PMN se denomina *neutrofilia* y a menudo indica infección bacteriana. La disminución se denomina *neutropenia* y a menudo es causada por la administración de fármacos a largo plazo o por una infección viral.
- Neutrófilos en banda o en cayado (véase Fig. 1-1, C). Estos neutrófilos son parte de la familia de los PMN; son simplemente menos diferenciados o menos "maduros" que los PMN. El aumento de los neutrófilos en banda indica infección bacteriana y se suele denominar como *desviación a la izquierda*. El citoplasma de los neutrófilos segmentados y en banda tiene gránulos submicroscópicos, teñidos de rosa, que contienen secreciones bactericidas.
- Eosinófilos (véase Fig. 1-1, D). Los eosinófilos son células con gránulos citoplasmáticos regulares de color anaranjado brillante que contienen histamina. El recuento elevado de eosinófilos se denomina *eosinofilia* e indica una respuesta frente a una alergia o infección parasitaria.
- Basófilos (véase Fig. 1-1, E). Los basófilos son células con gránulos citoplasmáticos de color violeta oscuro e irregulares

que enmascaran al núcleo. El recuento de basófilos elevado se denomina *basofilia*, una situación rara que a menudo indica una enfermedad hematológica, como la leucemia.

- Los PMN, los neutrófilos en banda, los eosinófilos y los basófilos se denominan en conjunto *granulocitos* debido a sus gránulos citoplasmáticos prominentes, aunque difieren en sus funciones. La distribución de eosinófilos y basófilos en sangre es tan pequeña en comparación con los PMN que los términos *eosinopenia* y *basopenia* son teóricos y no se utilizan. La leucemia es una proliferación descontrolada de leucocitos que puede ser crónica, por ejemplo la *leucemia mielógena crónica* (granulocítica), o aguda, como la *leucemia mieloblástica aguda*. Hay varias formas de leucemias granulocíticas (véanse Caps. 34 a 36), clasificadas por sus respectivas alteraciones genéticas (véanse Caps. 31 y 32), y los laboratoristas son responsables de su identificación mediante el uso de frotis de médula ósea teñidos con Wright, tinciones citoquímicas, citogenética y técnicas de diagnóstico molecular (véanse Caps. 16, 30, 31 y 32).
- Linfocitos (véase Fig. 1-1, F). Los linfocitos constituyen un sistema complejo de células que proporcionan inmunidad al huésped; estas células reconocen los antígenos extraños y montan respuestas de anticuerpos (humoral) y respuestas antagónicas *mediadas por células*. En un frotis teñido con Wright, casi todos los linfocitos son redondos, algo más grandes que los eritrocitos y tienen núcleos casi redondos sin características especiales y un borde delgado de citoplasma no granular. El aumento en el recuento de linfocitos se denomina *linfocitosis* y a menudo se asocia con infecciones virales. El recuento de linfocitos anormalmente bajo se conoce como *linfopenia* o *linfocitopenia* y se asocia con el tratamiento con fármacos a largo plazo o la inmunodeficiencia. Los linfocitos también están implicados en la leucemia; la *leucemia linfocítica crónica* es prevalente en personas mayores de 70 años, mientras que la *leucemia linfoblástica aguda* es la forma más frecuente en la niñez (véanse Caps. 36 a 38). Los laboratoristas clasifican las leucemias linfocíticas, de las cuales hay varias, sobre la base de frotis sanguíneos teñidos con Wright y la citometría de flujo (véase Cap. 33).
- Monocitos (véase Fig. 1-1, G). El monocito es un *macrófago* inmaduro que pasa a través de la sangre desde su punto de origen, en general en la médula ósea, a una localización tisular específica. Los macrófagos son las células más abundantes en el organismo, más abundante que los eritrocitos o las células cutáneas, aunque son un componente menor del recuento diferencial en los frotis sanguíneos. Ocupan cada una de las cavidades del cuerpo; algunos son móviles y otros inmóviles. Su función consiste en identificar y fagocitar partículas extrañas y ayudar a los linfocitos en el desarrollo de la respuesta inmunitaria por medio del ensamblado y la presentación de *epítopos* inmunógenos. En los frotis teñidos con Wright, los monocitos presentan un diámetro algo mayor que los otros leucocitos, citoplasma gris y núcleo lobulado. El aumento del número de monocitos puede indicar una enfermedad hematológica, como leucemia, y se denomina *monocitosis*. Los laboratoristas rara vez confirman la disminución del recuento de monocitos, por lo que el término teórico de *monocitopenia* es inusual. El linaje celular de monocitos-macrófagos es otra fuente de leucemias, por ejemplo, leucemia monocítica crónica o aguda (véase Cap. 36).

PLAQUETAS

Las plaquetas, o trombocitos, son células sanguíneas verdaderas que mantienen la integridad de los vasos sanguíneos al promover las reparaciones de la pared vascular (véase Cap. 13). Las plaquetas se adhieren con rapidez a las superficies de los vasos dañados, forman agregados con las plaquetas vecinas para taponar los vasos y secretan proteínas y pequeñas moléculas que activan la trombosis o formación de coágulos. Las plaquetas son las células que controlan la *hemostasia*, una serie de mecanismos celulares y plasmáticos que sellan las heridas, las reparaciones de las paredes de los vasos y mantienen la permeabilidad vascular. Miden tan sólo de 2 a 4 mm de diámetro, son redondas u ovaladas y ligeramente granulares (véase Fig. 1-1, H). Su pequeño tamaño las hace parecer insignificantes, pero son esenciales para la vida y están ampliamente estudiadas por su fisiología compleja. La activación hemostática y descontrolada de las plaquetas determina la aparición de trombosis de las venas profundas, embolia pulmonar, infartos agudos de miocardio, accidentes cerebrovasculares (ictus), enfermedad por anergia periférica y abortos espontáneos repetidos.

El profesional del laboratorio cuenta las plaquetas en un hemocitómetro, con la misma técnica utilizada para el recuento de leucocitos, aunque el recuento se suele limitar al milímetro cuadrado central del hemocitómetro. Debido a su volumen minúsculo, las plaquetas son difíciles de distinguir visualmente en el hemocitómetro y se utiliza microscopia de fase para facilitar su identificación (véase Cap. 4). Los equipos automatizados han reemplazado en gran medida el recuento visual de plaquetas y proporcionan mayor precisión (véase Cap. 39).

Una ventaja de estos equipos automatizados es su capacidad para generar un volumen plaquetario medio (VPM), que no puede determinarse por los métodos visuales. La presencia de plaquetas predominantemente mayores genera un valor elevado de VPM, que a veces indica una respuesta regenerativa de la médula ósea ante el consumo de plaquetas (véanse Caps. 13 y 43).

Los recuentos elevados de plaquetas, conocidos como *trombocitosis*, indican inflamación o traumatismo, pero tienen escaso significado intrínseco. La *trombocitemia esencial* es una enfermedad maligna rara caracterizada por recuentos

Rodak: Hematología. Fundamentos y aplicaciones clínicas. 4a Edición © 2014

de plaquetas muy elevados y la producción descontrolada de plaquetas que representa un trastorno hematológico potencialmente mortal (véase Cap. 34).

El recuento bajo de plaquetas, conocido como *trombocitopenia*, es una consecuencia común del tratamiento con fármacos y puede ser mortal. Dado que las plaquetas participan en la reparación y el mantenimiento de los vasos sanguíneos normales, la trombocitopenia suele acompañarse por hematomas y hemorragia no controlada (véase Cap. 43). La trombocitopenia explica la mayoría de las consultas en el departamento de urgencias relacionadas con hemorragias. Para la seguridad del paciente, en muchos trastornos o regímenes terapéuticos es esencial realizar el recuento exacto de plaquetas para diagnosticar la trombocitopenia.

HEMOGRAMA COMPLETO

El laboratorista puede recolectar una muestra de sangre para realizar el hemograma completo; un flebotomista, enfermero, médico o técnico que asiste al paciente también puede recolectar la muestra (véanse Caps. 3, 14 y 45). En todos los casos, el laboratorista es responsable de la integridad de la muestra y de asegurar que está exenta de coágulos, hemólisis y proporciones inadecuadas de anticoagulante-muestra conocidos como "extracciones cortas". El laboratorista también asegura que la muestra es lo suficientemente reciente como para el análisis exacto (véase Cap. 5) y luego registra con precisión la muestra en la lista de trabajo, un proceso conocido como *adquisición* de la muestra. Esta puede automatizarse, sobre la base del código de barras o la tecnología de identificación por radiofrecuencia.

Aunque todos los laboratoristas están preparados para realizar los recuentos visuales de eritrocitos, leucocitos y plaquetas con pipetas de dilución, hemocitómetros y microscopios, la mayoría de los laboratorios emplea equipos automatizados para generar los parámetros del hemograma completo, enumerados en el Recuadro 1-1. Los equipos más sofisticados proporcionan comentarios sobre la morfología de eritrocitos, leucocitos y plaquetas (véase Cap. 39). Cuando uno de los resultados de estos aparatos es anormal, el instrumento proporciona una indicación de esto, a veces llamado mensaje de alerta (*flag*). En este caso, el laboratorista realiza la revisión del *examen del frotis sanguíneo* (véase Cap. 15).

El examen del frotis es una actividad especializada, exigente y fundamental del hemograma completo. No obstante, si todos los resultados brindados por el equipo son normales, se omite el examen del frotis sanguíneo en el hemograma completo. En realidad, el examen del frotis no se exige en el 50 al 80% de los casos, dependiendo de la combinación de casos de la instalación. En las instalaciones de cuidados intensivos se informan más *hemogramas completos* normales que en los centros de atención especializada o terciarios, en los que el porcentaje de exámenes de frotis sanguíneos puede superar el 50%. Los médicos pueden solicitar un examen del frotis sanguíneo sobre la base de la sospecha clínica, incluso cuando los resultados obtenidos por los equipos automatizados están dentro de los límites normales.

RECUADRO 1-1 Mediciones generadas por los equipos automatizados de hematología

Parámetros de eritrocitos
Recuento de eritrocitos
Hemoglobina
Hematocrito
VCM
HCM
CHCM
ADE
Reticulocitos

Parámetros de leucocitos
Recuento de leucocitos
Recuento de neutrófilos segmentados: % y absoluto
Recuento de neutrófilos en banda: % y absoluto
Recuento de linfocitos: % y absoluto
Recuento de monocitos: % y absoluto
Recuentos de eosinófilos y basófilos: % y absoluto

Parámetros de plaquetas
Recuento de plaquetas
VPM

ADE, amplitud de la distribución eritrocítica; CHCM, concentración hemoglobínica corpuscular media; HCM, hemoglobina corpuscular media; VCM, volumen corpuscular medio; VPM, volumen plaquetario medio.

EXAMEN DEL FROTIS SANGUÍNEO

Para realizar el examen del frotis sanguíneo, el laboratorista prepara un extendido con la técnica en cuña sobre un portaobjetos de vidrio, permite que se seque, se fija y se tiñe con la tinción de Wright o Giemsa-Wright (véase Cap. 15). El laboratorista fija el portaobjetos a la platina del microscopio y examina los eritrocitos y las plaquetas para determinar alteraciones de la forma, el diámetro, el color y las inclusiones mediante el empleo de objetivos de inmersión en aceite 50× o 100× para generar aumentos de 500× o 1.000× (véase Cap. 4). El recuento de leucocitos y el recuento de plaquetas se estiman por comparación con los recuentos del equipo automatizado y se registran de manera meticulosa todas las alteraciones. El laboratorista realiza la revisión sistemática, identifica y tabula 100 (o más) leucocitos para determinar su distribución porcentual. Este proceso se conoce como *fórmula diferencial de leucocitos*. Esta actividad individualizada depende mucho de la pericia, la

agudeza visual y la integridad del laboratorista y proporciona una amplia información diagnóstica. Los laboratoristas se enorgullecen de sus habilidades técnicas y analíticas para realizar el examen del frotis sanguíneo. Los resultados del hemograma completo, que incluyen todos los parámetros y el examen del frotis sanguíneo y los comentarios interpretativos, son proporcionados en una sola página o pantalla del ordenador para la revisión médica con los resultados anormales destacados.

CÉLULAS ENDOTELIALES

Dado que son estructurales y no fluyen en el torrente sanguíneo, las células endoteliales, que son las células endodérmicas que forman la superficie interna del vaso sanguíneo, rara vez son estudiadas en el laboratorio de hematología. Sin embargo, las células endoteliales son importantes para mantener el flujo sanguíneo normal, el atrapamiento de plaquetas en el momento de lesiones y posibilitar que los leucocitos salgan del vaso sanguíneo al tejido circundante cuando sea necesario. Los métodos de laboratorio cada vez más refinados nos permitirán examinar por completo al menos las secreciones (citocinas) de estas células importantes.

COAGULACIÓN

La mayor parte de los laboratorios de hematología cuenta con un departamento de pruebas de la coagulación sanguínea (véanse Caps. 41, 42 y 45). La coagulación plasmática es un componente de la hemostasia; otro es, como se describió, las plaquetas. El sistema de coagulación emplea una secuencia compleja de proteínas plasmáticas, algunas enzimas y algunos cofactores de enzimas para producir la formación de un coágulo después de la lesión del vaso sanguíneo. Otras seis a ocho enzimas ejercen control sobre el mecanismo de la coagulación, y un tercer sistema de enzimas y cofactores digiere los coágulos para restaurar la permeabilidad del vaso, un proceso conocido como *fibrinólisis*. Los trastornos hemorrágicos y de la coagulación son múltiples y complejos, y la sección de coagulación del laboratorio de hematología proporciona una serie de pruebas de laboratorio basadas en el plasma que reflejan las interacciones complejas de las células hemáticas con las proteínas plasmáticas (véanse Caps. 40 y 45).

El laboratorista se centra sobre todo en la integridad de la muestra de sangre para el laboratorio de coagulación, porque defectos menores de la muestra de sangre, como coágulos, hemólisis, lipemia, bilirrubina plasmática y extracciones cortas convierten a la muestra en inútil (véanse Caps. 3 y 45). Las pruebas de coagulación de grandes volúmenes adecuadas para los servicios de cuidados intensivos incluyen el recuento de plaquetas y el VPM como se describió antes, el *tiempo de protrombina* y el *tiempo de tromboplastina parcial* (o tiempo de tromboplastina parcial activado), el *tiempo de trombina* (o tiempo de coagulación de la trombina), el *ensayo de fibrinógeno* y la *prueba del dímero D* (véase Cap. 45). El tiempo de protrombina y el tiempo parcial de tromboplastina son ensayos en los que se necesitan particularmente grandes volúmenes. Estas pruebas evalúan las deficiencias de cada rama de la vía de la coagulación y se utilizan para monitorizar el tratamiento anticoagulante. Otros 30 a 40 análisis de bajos volúmenes están disponibles en instalaciones especializadas o de nivel terciario. El laboratorio de coagulación especializado o terciario con sus complejidades interpretativas es un refugio para los laboratoristas superiores con conocimiento y habilidades de comunicación especializados.

PROCEDIMIENTOS DE HEMATOLOGÍA AVANZADOS

Además de realizar el hemograma completo, el laboratorio de hematología provee *exámenes de médula ósea, análisis citogenéticos por citometría de flujo* y *análisis para el diagnóstico molecular*. Estas pruebas pueden requerir preparación avanzada o dedicación especial de los laboratoristas con deseo de especializarse.

Los laboratoristas colaboran con los médicos para la recolección de médula ósea y la preparación, la tinción y la observación microscópica de los frotis (véase Cap. 16). Los *aspirados* y las *muestras de biopsia* de médula ósea se recolectan y se tiñen para analizar células nucleadas que son precursores de las células sanguíneas. Las células de la serie *eritroide* son precursores de los eritrocitos (véase Cap. 8); las células de la serie *mieloide* maduran para formar neutrófilos en banda y segmentados, eosinófilos y basófilos (véase Cap. 12) y los *megacariocitos* producen plaquetas (véase Cap. 13). Los hematólogos, los anatomopatólogos clínicos y los laboratoristas revisan los frotis de aspirados teñidos con Wright para determinar alteraciones morfológicas, concentración alta o baja de células en la médula ósea y distribuciones inadecuadas de las líneas celulares. Un aumento en la línea celular eritroide puede indicar compensación de la médula ósea en caso de un consumo anormalmente mayor de eritrocitos durante la hemorragia (véase Cap. 18). La muestra de biopsia, teñida con *hematoxilina y eosina* (H-E), puede revelar alteraciones en la arquitectura de la médula ósea que indica leucemia, anemia aplásica o alguno de una serie de otros trastornos hematológicos. Los resultados del examen de los aspirados y de las muestras de biopsia de médula ósea se comparan con los del hemograma completo, obtenidos en la sangre periférica con el fin de establecer puntos en común y desarrollar diagnósticos basados en patrones.

En el laboratorio de médula ósea pueden emplearse tinciones citoquímicas para diferenciar células eritroides, mieloides y linfoides anormales (véase Cap. 30). Estas tinciones son *mieloperoxidasa, negro Sudán B, esterasa inespecífica y específica, ácido peryódico de Schiff, fosfatasa ácida resistente a tartrato* y *fosfatasa alcalina*. Las técnicas citoquímicas son tinciones consagradas por el tiempo y poco a poco están siendo reemplazadas por inmunofenotipificación por citometría de flujo, citogenética y diagnóstico molecular (véanse Caps. 31 a 34). Desde 1980, los métodos de *inmunotinción*

nos han permitido identificar con certeza líneas celulares, sobre todo precursores de linfocitos. Un ejemplo de inmunotinción es un colorante unido a anticuerpos contra el factor VIII de la coagulación, que está presente en megacariocitos y puede ser diagnóstico de la leucemia megacarioblástica.

Los citómetros de flujo pueden ser *cuantitativos,* como los citómetros de flujo clínicos que evolucionaron del principio original Coulter, o *cualitativos,* que incluyen instrumentos basados en láser que se desarrollaron a partir de aplicaciones de investigación (véase Cap. 39). Los dispositivos antiguos son instrumentos automatizados que generan parámetros cuantitativos del hemograma completo por medio de la aplicación de la impedancia eléctrica y láser o interrupción del haz de luz (véase Cap. 39). Los citómetros de flujo cualitativos basados en láser son mecánicamente más simples, si bien más exigentes desde el punto de vista técnico. Ambos citómetros de flujo, cualitativos y cuantitativos, se emplean para analizar poblaciones celulares mediante la medición de los efectos de las células individuales sobre la luz láser, como *dispersión frontal de la luz fluorescente*, *dispersión de la luz fluorescente en ángulo recto* y por *inmunofenotipificación* para los epítopos de la membrana celular. El laboratorio de citometría de flujo cualitativa es indispensable para el diagnóstico de leucemia y linfoma.

Las técnicas de diagnóstico molecular mejoran y hasta reemplazan a algunos de los métodos hematológicos avanzados. La reacción en cadena de la polimerasa, la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, las micromatrices y los sistemas de secuenciación permiten detectar mutaciones como fusión *BCR/ABL*, *JAK2* y la translocación t(15;17) que indican formas específicas de leucemia y establecen su perfil terapéutico y pronóstico (véanse Caps. 32 y 34).

OTROS PROCEDIMIENTOS EN HEMATOLOGÍA

Los laboratoristas cuentan con varios métodos manuales en sangre entera para respaldar el diagnóstico hematológico. La prueba de fragilidad osmótica utiliza concentraciones escalonadas de soluciones salinas para detectar esferocitos, eritrocitos con áreas de la membrana de superficie proporcionalmente reducida, en la anemia *esferocítica hereditaria* o en la anemia *hemolítica autoinmunitaria por anticuerpos calientes* (véanse Caps. 23 y 25). Asimismo, las pruebas de *análisis de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa* para una deficiencia hereditaria de la enzima en los eritrocitos que causa anemia hemolítica episódica grave (véase Cap. 23). El ensayo para la detección sistemática de solubilidad de los drepanocitos y su prueba de seguimiento, la electroforesis de la hemoglobina, se utilizan para detectar y diagnosticar la anemia drepanocítica y otras alteraciones hereditarias cualitativas de la hemoglobina y las talasemias (véanse Caps. 26 y 27). Una de las pruebas más antiguas, la *velocidad de eritrosedimentación*, detecta inflamación y brinda una estimación grosera de su intensidad (véase Cap. 14).

Por último, el laboratorista de hematología revisa los recuentos celulares, la distribución y la morfología en los líquidos corporales distintos de la sangre (véase Cap. 17). Estos incluyen los líquidos cefalorraquídeo, sinovial (articular), pericárdico, pleural y peritoneal, en los que puede haber eritrocitos y leucocitos en la enfermedad y en los que además puede haber células malignas que requieren habilidades de detección especializadas. El análisis de los líquidos corporales no sanguíneos siempre debe realizarse en forma rápida, porque las células en estos ambientes hostiles pierden con rapidez su integridad. Las enfermedades en las que se necesita la obtención de líquidos corporales para el diagnóstico siempre son agudas.

SEGURIDAD DE LA CALIDAD Y CONTROL DE CALIDAD EN HEMATOLOGÍA

Los laboratoristas emplean sistemas de control de calidad especialmente complejos en el laboratorio de hematología (véase Cap. 5). Debido a la falta de estándares establecidos, la medición de células y sistemas biológicos desobedece la estandarización química y exige la validación minuciosa, el examen del efecto matriz, la linealidad y las determinaciones del intervalo de referencia. Una metodología estándar interna conocida como *promedio móvil* surgió también en aplicaciones de laboratorio de hematología.[6] Los laboratoristas comparan métodos mediante cálculos de eficacia clínica que producen sensibilidad y especificidad clínica, valores predictivos positivos y negativos para cada ensayo. Deben monitorizar la integridad de la muestra y los patrones de solicitud de la prueba y garantizar la integridad de los informes, incluidos los informes numéricos y narrativos y las comparaciones de intervalos de referencia. Como en la mayoría de las ramas de la ciencia de laboratorio, el laboratorio de hematología supone una enorme responsabilidad en cuanto a la exactitud, la integridad, el juicio y la puntualidad en la entrega de los resultados del profesional responsable.

REFERENCIAS

1. Rhan DH: Examination of the blood. In Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, et al, editors: Williams hematology, ed 7, New York, 2006, McGraw-Hill Medical.
2. Wintrobe MM: Hematology, the blossoming of a science, Philadelphia, 1985, Lea & Febiger.
3. Bizzozero J: Über einem neuen formbestandtheil des blutes und dessen rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. Virchows Arch Pathol Anal Physiol Klin Med 90:261-332, 1882.
4. Woronzoff-Dashkoff KK: The Wright-Giemsa slain. Secrets revealed. Clin Lab Med 22:15-23, 2002.
5. Blades AN, Flavell HC: Observations on the use of the Coulter model D electronic cell counter in clinical haematology. J Clin Pathol 16:158-163, 1963.
6. Gulati GL, Hyun BH: Quality control in hematology. Clin Lab Med 6:675-688, 1986.