

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO  
NARRO**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



**Determinación de parámetros hemáticos en perros de la Comarca Lagunera:  
Análisis estadísticos de los datos obtenidos**

**POR**

**C. JESSICA ALEJANDRA MORALES DÁVILA**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**TORREÓN, COAHUILA; MÉXICO**

**MAYO 2016**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Determinación de parámetros hemáticos en perros de la Comarca Lagunera:  
Análisis estadísticos de los datos obtenidos

POR

C. JESSICA ALEJANDRA MORALES DÁVILA

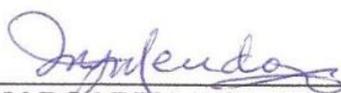
TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

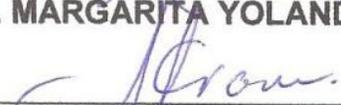
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR:

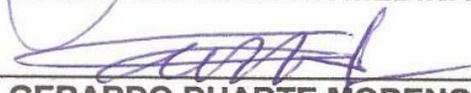
PRESIDENTE:

  
MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS

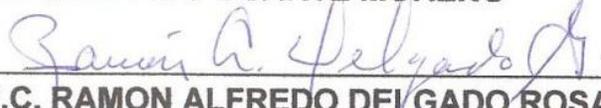
VOCAL:

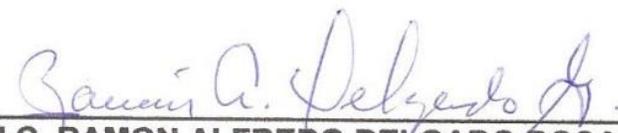
  
MC. JOSE LUIS CORONA MEDINA

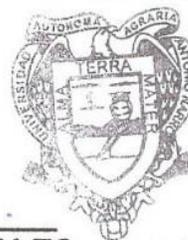
VOCAL:

  
DR. GERARDO DUARTE MORENO

VOCAL SUPLENTE:

  
M.C. RAMON ALFREDO DELGADO ROSALES

  
M.C. RAMON ALFREDO DELGADO ROSALES  
COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TORREÓN, COAHUILA; MÉXICO

MAYO 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
UNIDAD LAGUNA

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Determinación de parámetros hemáticos en perros de la Comarca Lagunera:  
Análisis estadísticos de los datos obtenidos

POR

C. JESSICA ALEJANDRA MORALES DÁVILA

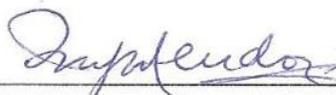
TESIS

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

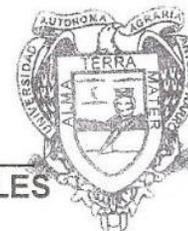
ASESOR PRINCIPAL:



MC. MARGARITA YOLANDA MENDOZA RAMOS



M.C. RAMON ALFREDO DELGADO ROSALES



CORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL División  
Regional de Ciencia Animal

TORREÓN, COAHUILA; MÉXICO

MAYO 2016

## DEDICATORIA

**A la niña** que siempre supo que quería ser en la vida. No traicioné tus ideales.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mis profesores**, especialmente a los que me inspiraron y apoyaron cuando más lo necesitaba. A todos aquellos que vieron algo en mí y me empujaron a aprovecharlo.

**A mis pacientitos** y a todos los animales que me ayudaron ya sea en prácticas o en clases.

**A Agustín**, por su paciencia infinita, su compañía, cariño y apoyo constantes.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

1	RESUMEN.....	vi
2	INTRODUCCIÓN.....	1
3	OBJETIVO.....	1
4	JUSTIFICACIÓN.....	2
5	HIPÓTESIS.....	3
6	MARCO TEÓRICO.....	4
6.1	Composición de la sangre.....	4
6.2	Hematopoyesis.....	4
6.2.1	Eritropoyesis.....	5
6.2.2	Leucopoyesis.....	6
6.2.3	Trombopoyesis.....	7
6.2.4	Linfopoyesis.....	8
6.3	Componentes de la formula blanca.....	10
6.4	Funciones de la formula blanca.....	10
6.4.1	Neutrófilos.....	10
6.4.2	Monocitos.....	11
6.4.3	Eosinófilos.....	12
6.4.4	Basófilos.....	13
6.4.5	Linfocitos.....	13
6.4.6	Plaquetas.....	17
6.5	Morfología del neutrófilo en la especie canina.....	18
6.6	Morfología del eosinófilo en la especie canina.....	18
6.7	Morfología del basófilo en la especie canina.....	19
6.8	Morfología del linfocito en la especie canina.....	19
6.9	Morfología del monocito en la especie canina.....	20
6.10	Morfología de las plaquetas.....	20
6.11	Factores que influyen en los valores circulantes (formula blanca).....	21
6.11.1	Factores fisiológicos.....	21
6.11.2	Factores patológicos.....	23
6.11.3	Respuestas individuales de los leucocitos:.....	24
6.12	Componente celular de la formula roja.....	31
6.13	Funciones del componente celular de la formula roja.....	31
6.14	Morfología del eritrocito en la especie canina.....	32
6.15	Factores que influyen en los valores circulantes (formula roja).....	33

6.15.1	Eritrocitosis .....	33
6.15.2	Anemia .....	34
6.16	Biometría hemática .....	40
7	VALORES DE REFERENCIA.....	42
8	MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
9	RESULTADOS .....	50
10	DISCUSIÓN.....	52
11	CONCLUSIÓN.....	54
12	LITERATURA CITADA .....	55

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

<b>Cuadro 1:</b>	Valores de referencia del hemograma canino.....	42
<b>Cuadro 2:</b>	Comparación entre valores hemáticos obtenidos en el estudio y valores hemáticos de referencia .....	50
<b>Cuadro 3:</b>	Valores promedio de parámetros hemáticos en machos y hembras, desviación estándar y valor de P.....	51
<b>Figura 1:</b>	La eritropoyesis.....	6
<b>Figura 2:</b>	Formación de leucocitos a partir de las unidades formadores de colonias granulo monocíticas (CFU-GM) .....	7
<b>Figura 3:</b>	Megacariocitopoyesis y producción de las plaquetas.....	8
<b>Figura 4:</b>	Clasificación de la anemia.....	35
<b>Figura 5:</b>	Causas de anemia hemolítica inmunomediada secundaria en perros .....	37
<b>Figura 6:</b>	Áreas de conteo en la cámara de Neubauer.....	46
<b>Figura 7:</b>	Elaboración de extensión sanguínea por el método de atraer y arrastrar .....	48

# 1 RESUMEN

La biometría hemática, también llamada hemograma, es uno de los estudios de laboratorio que con más frecuencia se solicitan, representa una de las piedras angulares de las evaluaciones de laboratorio clínico. La valoración hematológica de pacientes caninos es una herramienta de vital importancia para el médico veterinario de pequeños animales.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en un grupo de 105 caninos aparentemente sanos en la ciudad de Torreón Coahuila México, realizado con el objetivo de determinar los valores hematológicos. Los valores hematológicos abarcados fueron hematocrito, cuenta eritrocitaria, hemoglobina, VGM, HGM, CMHG, cuenta leucocitaria, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Los valores obtenidos (sin distinción de sexo) fueron comparados con los parámetros de referencia ya descritos por la bibliografía. Posteriormente se realizó una comparación estadística entre los valores obtenidos de machos y hembras para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas de los valores hematológicos entre sexos.

Se concluye que aunque existen cambios entre los valores hematológicos obtenidos en la región y los valores hematológicos de referencia ya establecidos, no son cambios significativos, guardan una estrecha relación entre si y se pudieran seguir usando los valores de referencia ya establecidos. Así, como que no es necesaria la diferenciación entre sexos al momento de establecer una determinación de valores hematológicos, pues estos no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sexos.

**Palabras clave:** biometría hemática, hemograma canino, eritrocitos, leucocitos, anemia, policitemia, leucopenia, leucocitosis.

## **2 INTRODUCCIÓN**

El hemograma es el examen de laboratorio de mayor uso diagnóstico en el canino, por lo que se hace necesario disponer de valores referenciales adecuados para poder interpretar correctamente los resultados y así obtener una conclusión válida (Pedrozo *et al.*, 2010).

El presente trabajo se realizó en la ciudad de Torreón Coahuila, México, ciudad ubicada a 1140 metros sobre el nivel del mar, Torreón se encuentra formado por una extensa planicie semidesértica con escasas, pero importantes prominencias rocosas. La región es semidesértica de clima extremo con escasas lluvias.

La población canina estudiada en la región está compuesta principalmente de perros de raza pura, pues son los que con mayor frecuencia llevan seguimiento veterinario y algunos perros mestizos, (la mayoría de las muestras fueron referidas de clínicas veterinarias).

## **3 OBJETIVO**

El objetivo general del presente trabajo de investigación fue determinar los valores hematológicos en caninos adultos aparentemente sanos en la región y compararlos con los parámetros de referencia ya descritos por la bibliografía (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007), con la finalidad de determinar si existen diferencias cuantitativas entre ellos, todo para concluir si se necesitan establecer cuadros de referencia exclusivos de la región o se pueden utilizar los ya existentes.

El objetivo específico fue determinar si difieren los valores hematológicos entre sexos y si estas diferencias, tienen significancia estadística.

## 4 JUSTIFICACIÓN

Las observaciones hematológicas de un grupo de animales son tradicionalmente comparados con intervalos de referencia desarrollados de una población correspondiente de animales, usando técnicas de laboratorio similares (Pedrozo *et al.*, 2010).

Dejando de lado la tradición, se destaca la importancia de las investigaciones comparativas, ya que si entre animales de distinta edad, raza, o estado fisiológico hay diferencias entre los valores hematológicos circulantes, es normal pensar que estas diferencias individuales se van a ver reflejadas en diferencias poblacionales.

Los intervalos de referencia se derivan de un grupo de individuos de prueba determinado, para el que rige una condición concreta. Es decir no pretende ser válida para todos los individuos de una raza o especie. El grupo de individuos de prueba debe presentar una distribución lo más similar posible a la población universal. Pero en cada región pueden variar los individuos que constituyen la población. Así, se constituyen poblaciones únicas de individuos, expuestos a condiciones diferentes, y en las que influyen la preferencia humana por ciertas razas de caninos, el sexo de estos y el cuidado que se les brinda (Pedrozo *et al.*, 2010).

Si bien existe suficiente literatura extranjera con respecto a los valores de referencia, hay poca que hable de valores de referencia sanguíneos de los caninos que habitan nuestro país, los cuales se encuentran sometidos a condiciones climáticas, geográficas y nutricionales características y totalmente diferentes de las condiciones que puedan presentar los países europeos o americanos, de donde proviene la mayoría de las publicaciones.

## **5 HIPÓTESIS**

Los valores hematológicos de los caninos de la región se diferenciarán de los valores de referencia ya establecidos en la literatura.

## 6 MARCO TEÓRICO

### 6.1 Composición de la sangre

La sangre es un tejido conjuntivo líquido que circula a través del aparato cardiovascular. Al igual que los demás tejidos conjuntivos está formada por células y por un componente extracelular cuyo volumen supera al celular (Pawlina y Ross, 2007).

La sangre está compuesta por dos fracciones bien diferenciadas: el plasma sanguíneo y los elementos formes de la sangre.

**Plasma sanguíneo.** Según Paulina y Ross (2007) es el material extracelular líquido que le imparte a la sangre su fluidez, puede asimilarse a la matriz extracelular en otros tipos de tejido conectivo. Supone el 55% del volumen sanguíneo. Más del 90% del plasma corresponde a agua que sirve como solvente a una gran variedad de solutos, entre ellos proteínas (albumina, globulinas y fibrinógeno principalmente), gases disueltos, electrolitos, sustancias nutritivas, moléculas reguladoras y material de desecho.

**Elementos formes de la sangre** (células sanguíneas y sus derivados) que en conjunto suponen el 45% del volumen sanguíneo.

- Eritrocitos
- Neutrófilos
- Eosinófilos
- Basófilos
- Linfocitos
- Monocitos
- Trombocitos (plaquetas)

### 6.2 Hematopoyesis

Las células de la sangre se dividen en dos grandes grupos: mieloides y linfoideas. Las primeras comprenden a los granulocitos (neutrófilos, basófilos y eosinófilos), monocitos, eritrocitos y megacariocitos, mientras que las segundas

comprenden a los linfocitos B, linfocitos T y células NK. Las células mieloides son producidas a través de un proceso conocido como mielopoyesis, mientras que las linfoides son resultado de la linfopoyesis (Mayani *et al.*, 2007).

Las células sanguíneas comienzan su vida en la medula ósea a partir de un tipo de célula llamada célula precursora hematopoyética pluripotencial (PHSC), de la cual derivan todas las células de la sangre. A medida de que se reproducen estas células una pequeña porción permanece exactamente igual a las originales para mantener el aporte, aunque van disminuyendo con la edad. El resto son células que se diferencian hasta formar todos los tipos celulares sanguíneos (Guyton y Hall, 2006; Mayani *et al.*, 2007; Reagan, 1999).

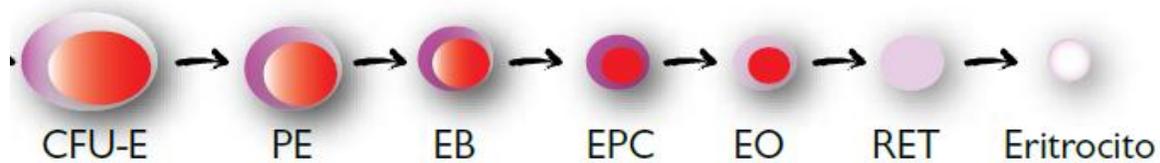
Las células intermedias son muy parecidas a las PHSC pero ya están comprometidas en una línea celular particular y reciben el nombre de células precursoras comprometidas. La que produce eritrocitos se llama unidad formadora de colonias de eritrocitos (CFU-E). Las unidades formadoras de colonias que forman granulocitos y monocitos se llaman (CFU-GM) y así sucesivamente (Guyton y Hall, 2006; Mayani *et al.*, 2007).

El crecimiento y reproducción de las diferentes células precursoras están controlados por múltiples proteínas llamadas inductores de crecimiento, y la diferenciación de las llamadas inductores de diferenciación. Estas a su vez están controladas por factores externos a la medula ósea, por ejemplo la hipoxia en el caso de los eritrocitos (Guyton y Hall, 2006).

### 6.2.1 Eritropoyesis

La primera célula que se identifica como perteneciente a la **línea eritrocítica** (fig.1) es el proeritroblasto, da paso a la célula de primera generación que es el eritroblasto basófilo que hasta este momento ha acumulado muy poca hemoglobina, las generaciones siguientes (eritroblasto policromatófilo, eritroblasto ortocromático) se llenan de esta, el núcleo se condensa, lo que resta se expulsa o se absorbe, se reabsorbe el retículo endoplásmico. La célula de este estadio se llama reticulocito pues todavía tiene una pequeña cantidad de material basófilo. En

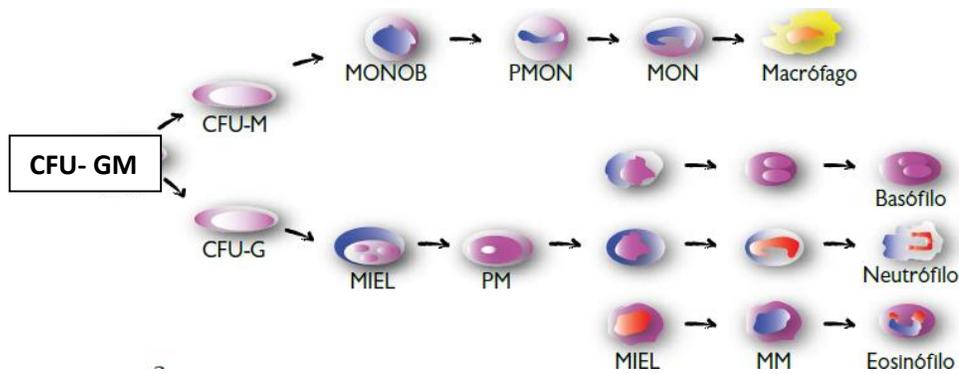
este estadio pasa de medula ósea a capilares sanguíneos, el material basófilo desaparece en 1-2 días y después es un eritrocito maduro (Guyton y Hall, 2006; Mayani *et al.*, 2007; Reagan, 1999)



**Fig. 1.** La eritropoyesis. Unidad formadora de colonia eritrocitaria (CFU-E), proeritroblasto (PE), eritroblasto basófilo (EB), eritroblasto policromatófilo (EPC), eritroblasto ortocromático (EO), reticulocito (RET), eritrocito (Mayani *et al.*, 2007).

### 6.2.2 Leucopoyesis

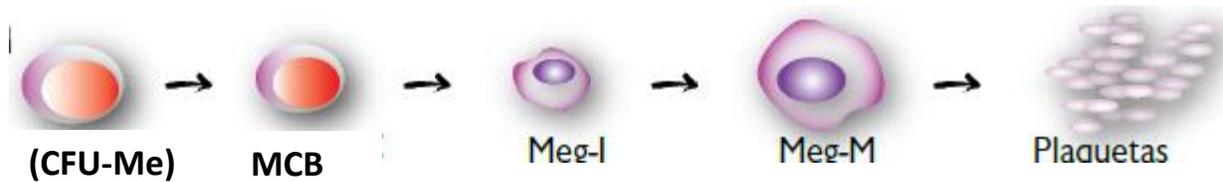
Por su parte las unidades formadoras de colonias gránulo-monocíticas (CFU-GM), dan lugar a unidades formadoras de colonias granulocíticas (CFU-G) y unidades formadoras de colonias mielocíticas (CFU-M). Una vez encaminadas en la vía de diferenciación las CFU-G dan lugar a mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos y células maduras (basófilos, neutrófilos y eosinófilos). Mientras que las CFU-M dan lugar a monoblastos, promonocitos, monocitos, y finalmente macrófagos (Fig. 2) (Mayani *et al.*, 2007).



**Fig.2.** Formación de leucocitos a partir de las unidades formadoras de colonias granulo monocíticas (CFU-GM). Unidades formadoras de colonias granulocíticas (CFU-G), unidades formadoras de colonias mielocíticas (CFU-M). mieloblastos (MIEL), promielocitos (PM), mielocitos (MIEL), metamielocitos (MM). Monoblastos (MONOB), promonocitos (PMON), monocitos (MON) (Mayani *et al.*, 2007).

### 6.2.3 Trombopoyesis

Las plaquetas o trombocitos se originan a partir de la célula denominada unidad formadora de colonias megacariocíticas (CFU-Me) (fig.3), esta célula crece, multiplica su materia nuclear y se transforma en el megacarioblasto en el cual se genera una gran cantidad de citoplasma. La célula resultante del crecimiento del megacarioblasto es el megacariocito las plaquetas se forman en el citoplasma del megacariocito mediante la formación de una estructura que se conoce como pro plaqueta la cual se fragmenta en múltiples plaquetas (Mayani *et al.*, 2007; Reagan, 1999).



**Fig.3.** Megacariocitopoyesis y producción de las plaquetas. Unidad formadora de colonias megacariocíticas (CFU-Me), megacarioblasto (MCB), megacariocito inmaduro (Meg-I), megacariocito maduro (Meg-M) y plaquetas (Mayani *et al.*, 2007).

#### 6.2.4 Linfopoyesis

La linfopoyesis inicia con una célula unidad formadora de colonias linfocitarias (UFC-L) ésta, mediante mitosis genera dos células: las unidades formadoras de colonias linfocíticas tipo B (UFC-L y B) y las del tipo T (UFC-L y T). Estas abandonan la médula para incorporarse a la circulación sanguínea. Para adquirirla capacidad de generar respuesta inmunológica deben trasladarse a ciertos órganos donde proliferan e iniciar procesos de expresión de marcadores membranales específicos (Guyton y Hall, 2006)

Las células linfoblásticas tipo B migran, en las aves, a la bursa de Fabricio, donde después de proliferar y diferenciarse se vuelven inmunocompetentes para constituir la población de los linfocitos B. En los mamíferos los linfoblastos B retornan a la médula ósea, ámbito donde se vuelven inmunocompetentes (Tizard, 2009)

Las células linfoblásticas tipo T proliferan y migran hacia la corteza del timo. En ese lugar continúan proliferando, maduran y se vuelven inmunocompetentes.

Los linfocitos B y T después de su diferenciación se trasladan a los diversos tejidos y órganos linfáticos allí proliferan para constituir familias o clonas de linfocitos específicos en ciertos lugares determinados. Los linfocitos “B” al ser

retados antigénicamente se transforman en plasmocitos o células plasmáticas (Pawlina y Ross, 2007)

Las células asesinas naturales (NK por sus siglas en inglés) se originan en las mismas células precursoras que los linfocitos B y T y constituyen una tercera población de linfocitos (Pawlina y Ross, 2007).

### **6.3 Componentes de la formula blanca**

Los leucocitos son las unidades móviles del sistema protector del organismo. Tras su formación son transportados en la sangre a diferentes partes del organismo donde son necesarios (Guyton y Hall, 2006).

Existen 6 tipos de leucocitos en la sangre: Neutrófilos polimorfonucleares, Eosinófilos polimorfonucleares, Basófilos polimorfonucleares, Monocitos, los Linfocitos y en ocasiones las células plasmáticas. Además hay un gran número de plaquetas, que son fragmentos de otro tipo de célula similar a los leucocitos que se encuentran en la medula ósea, el megacariocito (Guyton y Hall, 2006).

### **6.4 Funciones de la formula blanca**

#### **6.4.1 Neutrófilos**

Los neutrófilos son glóbulos blancos móviles y de acción quimiotáctica. La función básica de los neutrófilos es la fagocitosis de pequeñas partículas, de la que se encarga sobre todo el neutrófilo segmentado maduro, aunque el metamielocito y las formas de banda participan en la misma actividad (Coles, 1968).

Son sobre todo los neutrófilos y los macrófagos tisulares los que atacan y destruyen a las bacterias virus y otros factores lesivos. Los neutrófilos son células maduras que pueden atacar y destruir bacterias incluso en la sangre circulante, por el contrario los macrófagos tisulares comienzan la vida como monocitos sanguíneos que son células inmaduras mientras están en la sangre y tienen poca capacidad para luchar contra microorganismos infecciosos en ese momento (Guyton y Hall, 2006).

Además los neutrófilos elaboran enzimas proteolíticas de gran poder las cuales pueden ejercer su acción dentro de la célula para destruir partículas fagocitadas (Coles, 1968), además contienen sustancias bactericidas que matan a

la mayoría de las bacterias incluso cuando las enzimas lisosomales no las digieren, entre estas sustancias oxidantes están grandes cantidades de superóxido, peróxido de hidrogeno e iones hidroxilo, todas ellas mortales para la mayoría de las bacterias, incluso en pequeñas cantidades (Guyton y Hall, 2006).

Un neutrófilo puede fagocitar habitualmente de 3 a 20 bacterias antes de que el propio neutrófilo se inactive y muera (Guyton y Hall, 2006).

Ejercen una actividad citotóxica antiparasitaria y antitumoral, pueden causar daño tisular (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007). Estos elementos, relacionados con estados inflamatorios, abundan en los tejidos invadidos por microbios piógenos (Coles, 1968).

#### **6.4.2 Monocitos**

Los macrófagos son el producto final de los monocitos que entran en los tejidos desde la sangre. Una vez que entran en los tejidos comienzan a aumentar de tamaño (a veces hasta 5 veces), se vuelven macrófagos y son capaces de combatir los microorganismos que están en el tejido (Guyton y Hall, 2006).

Cuando los activa el sistema inmunitario son fagocitos mucho más poderosos que los neutrófilos, capaces a menudo de fagocitar hasta 100 bacterias. También pueden engullir partículas mucho más grandes incluso eritrocitos mientras que los neutrófilos no son capaces de fagocitar partículas mucho mayores que las bacterias (Guyton y Hall, 2006).

Los monocitos (macrófagos tisulares fijos y macrófagos móviles) forman parte del sistema retículo endotelial junto a unas pocas células endoteliales especializadas en medula ósea, bazo y los ganglios linfáticos. Los monocitos participan además en la exposición de antígenos a los linfocitos T en la respuesta inmune (Guyton y Hall, 2006; Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

### 6.4.3 Eosinófilos

Los eosinófilos participan en la regulación de reacciones alérgicas, inflamatorias, de control y de eliminación de infestaciones por parásitos, principalmente aquellos que tienen fases migratorias (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

Se cree que los eosinófilos detoxifican algunas de las sustancias inductoras de la inflamación liberadas por los mastocitos y basófilos, probablemente también fagociten y destruyan complejos antígeno anticuerpo evitando así una diseminación excesiva del proceso inflamatorio local (Guyton y Hall, 2006).

Se originan en la médula ósea y permanecen alrededor de 30 minutos circulando por el torrente sanguíneo antes de migrar a los tejidos donde tienen una vida media aproximada de 12 días (Tizard, 2009).

En condiciones normales se encuentran con más frecuencia en la cubierta epitelial del tubo digestivo y de las vías respiratorias, donde parecen cumplir las mencionadas funciones desintoxicantes (Coles, 1968), también tienen tendencia a acumularse en los tejidos donde se producen reacciones alérgicas, como la piel después de una reacción alérgica cutánea (Guyton y Hall, 2006).

Estas células son atraídas a los sitios de desgranulación de los mastocitos donde también se desgranulan y liberan sus propias moléculas biológicamente activas. Se pueden considerar a los eosinófilos como las células efectoras últimas de la reacción alérgica (Tizard, 2009).

Pueden fagocitar partículas pequeñas pero son más apropiados para la destrucción extracelular de parásitos grandes, ya que pueden liberar el contenido de sus gránulos al fluido circundante. Las proteínas liberadas en la desgranulación son la proteína básica principal (MBP), proteína catiónica y peroxidasa, todas ellas tóxicas para los helmintos y las bacterias, y mediadores importantes en la patología tisular. Los eosinófilos también sintetizan y secretan muchas citoquinas distintas (Tizard, 2009).

#### **6.4.4 Basófilos**

Son los granulocitos menos numerosos, normalmente no se encuentran fuera de la circulación sanguínea, pero pueden entrar a los tejidos bajo influencia de ciertas quimioquinas producidas por linfocitos T (Tizard, 2009).

Los basófilos son similares a los mastocitos tisulares pues ambos contienen una mezcla compleja de moléculas vasoactivas, desempeñan una reacción destacada en algunos tipos de reacciones alérgicas, pues la inmunoglobulina E (IgE) tiene una tendencia especial a unirse a los mastocitos y basófilos, después, cuando el antígeno específico del anticuerpo IgE específico reacciona con el anticuerpo, la unión resultante hace que el basófilo se rompa y libere cantidades excesivas de bradicinina, serotonina, heparina, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia y varias enzimas lisosómicas. Estas desencadenan reacciones vasculares locales y tienen manifestaciones alérgicas (Guyton y Hall, 2006; Tizard, 2009).

La relación exacta entre basófilos y mastocitos ha sido un tema de controversia durante mucho tiempo, así aunque las funciones de ambos tipos de células son evidentemente similares, sus características y su distribución en los tejidos son muy diferentes (Tizard, 2009).

#### **6.4.5 Linfocitos**

Los linfocitos desempeñan un papel muy importante en la defensa del organismo. Existen 3 tipos principales de linfocitos, las células NK que desempeñan un papel importante en la inmunidad innata; los linfocitos T, que regulan la inmunidad adquirida y que son responsables de la inmunidad de base celular; y los linfocitos B, que son responsables de la producción de anticuerpos. Dentro de estos 3 tipos celulares hay un gran número de subpoblaciones celulares con diferentes características y funciones (Tizard, 2009)

Los linfocitos B y T son los principales protagonistas de la respuesta inmune adaptativa, poseen en su membrana receptores antigénicos capaces de reconocer en forma específica pequeñas porciones del patógeno (para el caso de los linfocitos B) o células infectadas con los mismos (en el caso de los linfocitos T). Luego de este reconocimiento, pueden activarse, multiplicarse y diferenciarse en células efectoras capaces de defender al organismo contra ese microorganismo en particular (Gamberale, 2004).

Los linfocitos B reconocen al antígeno específico a través de los receptores de antígeno (BCR) de los que está recubierto (Tizard, 2009), pueden activarse y proliferar originando un clon de células hijas, para diferenciarse posteriormente a células plasmáticas que tienen la capacidad de secretar anticuerpos (Ig) los cuales poseen la misma especificidad de la Ig que formaba parte inicialmente del BCR. Por lo tanto, los anticuerpos secretados podrán reconocer al microorganismo y reclutar una variedad de mecanismos efectores a fin de destruirlo (Gamberale, 2004).

Una vez que la respuesta inmune primaria finaliza, los linfocitos B y las células plasmáticas son eliminadas por apoptosis, sin embargo algunos linfocitos B sobreviven como células de memoria, que formaran una reserva de células sensibles al antígeno que se requerirán en posteriores exposiciones (Tizard, 2009).

Existen 2 subpoblaciones distintas de linfocitos B, los B1 y los B2. Los linfocitos B1 se originan a partir de células madres en el epiplón e hígado fetal pero no en la médula ósea. Tienen capacidad de auto renovación y son los responsables de la producción de IgM naturales del suero, que participan en la inmunidad innata. Reconocen moléculas bacterianas comunes, producen anticuerpos de manera T independiente. Se han identificado en humanos, bovinos, ovinos, ratones, conejos, cerdos, cobayas mas no en perros (Tizard, 2009).

Los B2 son los linfocitos B convencionales, el eje central de la respuesta inmune del tipo humoral. Aparecen tarde en la vida neonatal, son la población

predominante en la medula ósea de los animales adultos y en la mayoría de los organismos producen IgG (Tizard, 2009).

En el tejido linfático se almacenan millones de diferentes tipos de linfocitos T preformados que pueden formar solo un tipo de linfocito T, con un solo tipo de especificidad; solo el tipo específico de antígeno con el que puede reaccionar puede activarlo (Guyton y Hall, 2006; Tizard, 2009).

La mayoría de los antígenos son presentados a los linfocitos T por macrófagos y estos a su vez secretan interleucina 1, sustancia activadora especial que favorece un mayor crecimiento y reproducción de los linfocitos específicos (Guyton y Hall, 2006).

Una vez que se activa el linfocito T específico por su antígeno se reproduce formando un gran número de linfocitos duplicados: linfocitos T sensibilizados específicos que circulan por todo el cuerpo (activados de forma paralela a la liberación de linfocitos activados) que van a la linfa, después a la sangre y de nuevo a la linfa, circulando durante meses y años. Así también se forman linfocitos T de memoria al igual que los linfocitos B (Guyton y Hall, 2006).

Los linfocitos T se clasifican en 3 grupos principales:

Linfocitos T colaboradores, linfocitos T citotóxicos, y linfocitos T supresores. Cada uno tiene funciones diferentes (Guyton y Hall, 2006).

Los linfocitos T colaboradores sirven de principal regulador de casi todas las funciones inmunitarias formando una serie de medidores proteicos llamados linfocinas (por ejemplo interleucina 2, 3, 4, 5, 6, interferón y, factor estimulador de colonias de granulocitos).

Algunas de sus funciones reguladoras específicas son las siguientes:

- Estimulación del crecimiento y la proliferación de los linfocitos T citotóxicos y T supresores.

- Estimulación del crecimiento y diferenciación de linfocitos B

- Activación del sistema macrofágico

-Efecto estimulador de retroalimentación sobre los propios linfocitos T colaboradores (Guyton y Hall, 2006).

El linfocito T citotóxico es una célula de ataque directo capaz de matar microorganismos y a veces las propias células del cuerpo. Se unen a aquellos microorganismos o células que contienen el antígeno específico adecuado entonces lisan a la célula atacada a través de sustancias proteicas perforadoras (perforinas) y sustancias citotóxicas. También desempeñan una función importante en la destrucción de células tumorales y tejidos trasplantados (Guyton y Hall, 2006; Iáñez-Pareja, 1999).

Los linfocitos T supresores son capaces de suprimir las funciones de los citotóxicos y colaboradores, para evitar que se provoquen reacciones inmunitarias excesivas que podrían dañar a los tejidos del propio cuerpo. Por ello los linfocitos T supresores y los colaboradores se clasifican dentro de los linfocitos T reguladores (Guyton y Hall, 2006).

Hay una tercera población de linfocitos, los linfocitos NK los cuales constituyen el 15% de los linfocitos de mamíferos. A diferencia de los linfocitos T y B que circulan como células en reposo y requieren varios días para ser activados las células NK pueden ser activadas casi inmediatamente por interferones secretados por células infectadas por virus y por la interleucina-1 (IL-1) producida por los macrófagos. Poseen dos tipos de funciones: acción citotóxica y acción reguladora del sistema inmune a través de las citoquinas que producen.

A diferencia de otros linfocitos, carecen de especificidad y de memoria, por lo que forman parte del sistema de inmunidad inespecífica. Pueden discriminar entre células normales y alteradas. Existen buenos indicios de que eliminan por inducción de apoptosis a células propias infectadas con virus o células tumorales. También pueden desarrollar citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (Iáñez-Pareja, 1999; Tizard, 2009).

#### **6.4.6 Plaquetas**

Su función no inmune consiste en colaborar en la coagulación de la sangre, su función inmune se centra en los fenómenos de inflamación: cuando existe daño a las células endoteliales, las plaquetas se adhieren al tejido lesionado y se agregan, liberando sustancias que incrementan la permeabilidad, y factores que activan el complemento, con lo que logran atraer a leucocitos (Iáñez-Pareja, 1999).

Actualmente se sabe que las plaquetas, además de almacenar diversos mediadores químicos, también tienen la capacidad de realizar síntesis de varios tipos de proteínas a partir de ARN preformados y de interactuar con diversos tipos de partículas, con componentes de la matriz extracelular y con varios tipos celulares. Estas características posibilitan que las plaquetas intervengan activamente, no sólo en la hemostasis y trombosis, sino también en la inflamación, remodelación tisular y posiblemente en la defensa innata (Guzmán Grenfell *et al.*, 2005).

### **6.5 Morfología del neutrófilo en la especie canina**

Los neutrófilos circulantes presentan las siguientes características:

Tienen un tamaño de 12-15  $\mu$  de diámetro, que es de 2 a 2.5 veces el tamaño del eritrocito. Su núcleo es lobulado o parcialmente segmentado con cromatina densa, de coloración purpura oscuro. Presentan de 2-4 lobulaciones (Rebar, 2002). Su citoplasma es rosa pálido o azul claro según el tipo y la calidad de la tinción utilizada finamente granular, liso (Reagan, 1999). La mayoría de los neutrófilos circulantes tienen formas segmentadas, muy pocos tienen forma de bandas (Rebar, 2002).

Los neutrófilos en banda tienen un núcleo ligeramente retorcido con forma de U o J y con menos condensación de cromatina que los neutrófilos maduros, la lobulación nuclear está ausente o pobremente definida. Las constricciones en el núcleo de los neutrófilos en banda suponen menos de la mitad del ancho del resto del núcleo (Cowell *et al.*, 2009).

Dentro de la morfología normal del neutrófilo canino podemos encontrar cuerpos de Barr. Es un pequeño apéndice del núcleo, correspondiente a una lobulación sexual, indicando que el animal es una hembra (Rebar, 2002).

### **6.6 Morfología del eosinófilo en la especie canina**

Los eosinófilos caninos tienen un tamaño de 12-20  $\mu$  de diámetro, parecido o ligeramente mayor que un neutrófilo. Tienen un núcleo lobulado o parcialmente segmentado con la cromatina densa, purpura oscuro muy similar al de los neutrófilos, pero los segmentos a menudo no están tan definidos (Reagan, 1999; Rebar, 2002).

Presentan gránulos citoplasmáticos naranja-rojizos redondos variables en tamaño y número. Asimismo aparecen en el citoplasma múltiples vacuolas de tamaños variados (Harvey, 2001; Rebar, 2002).

En ocasiones el eosinófilo canino puede contener un único granulo grande y redondo que recuerda en tamaño y forma a un eritrocito (Rebar, 2002).

### **6.7 Morfología del basófilo en la especie canina**

Los basófilos caninos tienen un tamaño de 12-20  $\mu$  en diámetro, similar o ligeramente mayor que un neutrófilo (Rebar, 2002).

El citoplasma de los basófilos es generalmente azul pálido-purpura, el núcleo usualmente es menos segmentado que el del neutrófilo. Los gránulos en los basófilos caninos generalmente aparecen morados y no son lo suficientemente numerosos como para llenar el citoplasma (Harvey, 2001) incluso pueden estar ausentes (Rebar, 2002).

Los basófilos desgranulados tienen un citoplasma azul en ausencia de los gránulos. En otras especies es difícil identificar con certeza basófilos en banda pues los gránulos ocultan / oscurecen el núcleo, esto es menos frecuente en los perros (Harvey, 2001).

### **6.8 Morfología del linfocito en la especie canina**

La morfología del linfocito en los caninos y felinos es similar. Tienen un tamaño de 9-12  $\mu$  (el mismo tamaño del neutrófilo o un poco más pequeños), un núcleo redondo, excéntrico de cromatina uniformemente densa, un citoplasma escaso y en forma de anillo delgado de color azul pálido (Rebar, 2002)

La estimulación antigénica produce cambios morfológicos en los linfocitos. Los linfocitos maduros suelen ser mayores que los neutrófilos (15-20  $\mu$ ), tienen un núcleo grande con patrón de cromatina reticular, pueden presentar restos visibles de nucléolo. El citoplasma es abundante, de azul claro a oscuro. Pueden presentar zonas pálidas perinucleares (Rebar, 2002).

## **6.9 Morfología del monocito en la especie canina**

Los monocitos tienen un tamaño de 15-20  $\mu$ , son ligeramente mayores a los linfocitos. Su núcleo es de forma irregular, con cromatina ligeramente reticulada (Rebar, 2002).

Los núcleos de los monocitos caninos frecuentemente tienen forma de banda por lo que pueden ser confundidos con neutrófilos en banda y por su color, con neutrófilos con cambio tóxico. Un criterio que ayuda a diferenciarlos es que los extremos del núcleo de los monocitos están agrandados y con forma de perilla (Harvey, 2001). El citoplasma de los monocitos caninos es abundante, de gris a azul-grisáceo (Rebar, 2002).

Debido al manejo de la muestra pueden producirse variaciones en la morfología normal: Los monocitos de frotis realizados a partir de sangre fresca sin anticoagulante suelen ser redondos y no contienen vacuolas citoplasmáticas.

Los monocitos de extensiones realizadas a partir de sangre en EDTA suelen presentar los márgenes irregulares con pseudópodos y contienen vacuolas citoplasmáticas (Rebar, 2002).

## **6.10 Morfología de las plaquetas**

En el perro las plaquetas tienen una forma discoide, oval, ligeramente elongada, ligeramente bicóncava o plana con un contorno uniforme. Tienen un tamaño de 2.2 a 3.7  $\mu$  de diámetro y .5  $\mu$  de espesor, que es aproximadamente 1/10 del tamaño de un eritrocito (Rebar, 2002).

En tinciones de Romanowsky (Wright o Wright modificada) se ven como un agregado de gránulos azurófilos pequeños envueltos por una matriz azul pálida dentro de una delicada membrana. Algunas plaquetas presentan solo unos pocos gránulos o carecen de ellos (Rebar, 2002).

Las plaquetas jóvenes suelen ser grandes macroplaquetas (megatrombocitos). Lo habitual es ver plaquetas aisladas aunque también pueden verse en pequeños grupos (Reagan, 1999; Rebar, 2002).

## **6.11 Factores que influyen en los valores circulantes (formula blanca)**

Se clasifican en factores fisiológicos y patológicos.

### **6.11.1 Factores fisiológicos**

Son los que influyen en la cuenta leucocitaria sin estar asociados a algún proceso patológico, se mencionan los siguientes:

- Edad joven. En los perros la cuenta leucocitaria total está influenciada por la edad (Coles, 1968). Al nacer tienen una cuenta relativamente elevada (16,500 por microlitro) que disminuye luego con la edad, llegando a una media de 10mil por microlitro a los cuatro años de edad (Benjamin, 2001).

- Especie y raza. Las variaciones del recuento leucocitario relacionadas con especie son muy acentuadas, por ejemplo, en los caninos hay preponderancia de neutrófilos mientras que en los bovinos de linfocitos. Las variaciones del recuento leucocitario relacionadas con la raza, se observan más en equinos aunque en caninos también están presentes (Coles, 1968). Por ejemplo algunos perros de la raza Tervuren Belga presentan concentraciones menores de leucocitos que los valores de referencia para la mayoría de los perros (Greenfield *et al.*, 2000; Stockham y Scott, 2008) aunque otro autor indica que esta leucopenia es infrecuente, no tiene importancia estadística y se presenta principalmente en Norteamérica posiblemente por diferencias genéticas o ambientales (Gommeren *et al.*, 2006).

- Excitación y actividad muscular al momento de la toma de muestra. El ejercicio y el miedo influyen en los recuentos leucocitarios, por

lo que una muestra tomada después del ejercicio o en condiciones de estrés no representan el estado verdadero del animal (Coles, 1968). Son estados que producen liberación de epinefrina, con movilización de neutrófilos de pequeños vasos a vasos de mayor calibre con el aumento del flujo sanguíneo. La actividad muscular energética aumenta el predominio de neutrófilos mientras que la actividad muscular prolongada de linfocitos (Benjamin, 2001).

La leucocitosis (cuenta leucocítica total por arriba de las cifras normales) por temor, aprehensión o dolor es más evidente en el gato y el caballo que en el perro, donde sucede con menor frecuencia (Benjamin, 2001; Coles, 1968).

- Crisis convulsivas. Sucede lo mismo que con el ejercicio violento (Benjamin, 2001).

- Fase de gestación. En ciertas especies como la canina y bovina la gestación puede aumentar, en un 75% de las veces el recuento leucocitario en las últimas fases de la preñez (Coles, 1968). En el perro puede aumentar la cuenta total leucocitaria de 12 mil a 19 mil por microlitro (Benjamin, 2001).

- Fase del estro. Se han informado de ligeros cambios hemáticos en los bovinos al presentar estro (Coles, 1968), mientras que en los caninos los estrógenos administrados exógenamente o de procedencia endógena pueden provocar un efecto tóxico sobre la médula ósea, especialmente en la especie canina (Balcells, 1994).

- Momento de la digestión. El momento de digestión influye en el recuento leucocitario total y el de los neutrófilos en todas las razas caninas (Coles, 1968). En el perro se observa una leucocitosis que comienza una hora postprandial, alcanza su máximo a las 3-4 horas y posteriormente declina (Benjamin, 2001).

### 6.11.2 Factores patológicos

Los factores patológicos pueden influenciar la cuenta leucocitaria, ya sea disminuyéndola (leucopenia) o aumentándola (leucocitosis).

La **leucopenia** se define como la reducción por debajo de las cifras normales del recuento total de leucocitos, es equilibrada cuando la disminución afecta proporcionalmente a todos los elementos celulares blancos (Benjamin, 2001).

Sus causas generales son degeneración, depresión, agotamiento y destrucción, alteraciones propias de la medula ósea (Coles, 1968).

Las afecciones que tienen por resultado la aparición de leucopenia son las siguientes:

-Infecciones virales, especialmente durante el comienzo de la infección. La disminución de la producción y el aumento de la destrucción celular producirán una leucopenia 3-8 días post infección, dependiendo de la vida media de la línea celular. No todos los virus causan leucopenia, pero el distemper canino, parvovirus canino y la hepatitis infecciosa canina se caracterizan por ello (Benjamin, 2001).

-Infecciones bacterianas. Estados iniciales de una enfermedad infecciosa o de una infección localizada muy aguda. También se presenta leucopenia en los estados terminales de una infección bacteriana masiva (Benjamin, 2001).

-Estados caquéticos y de debilitación. Por alteración de factores nutritivos que dan origen a maduración defectuosa (Benjamin, 2001) o agotamiento de la medula ósea (Coles, 1968).

-Radiación, por destrucción de elementos celulares de la medula ósea (Coles, 1968).

-Choque anafiláctico, séptico o endotóxico. En las primeras fases de la reacción puede ser observada una leucopenia, por secuestro de leucocitos en capilares de pulmones, hígado y bazo (Benjamin, 2001).

-Perturbaciones hematopoyéticas como la anemia hipoplásica, anemia mielocítica y otras de tipo degenerativo (Coles, 1968).

-Agentes químicos, por ejemplo: antibióticos (cloranfenicol, tetraciclina, estreptomina, penicilina), analgésicos (fenacetina, antipirina y aminopirina), derivados de la cortisona, antihistamínicos y compuestos inorgánicos como el plomo, benceno, mercurio, bismuto, entre otros (Coles, 1968), que pueden causar leucopenia por tener un efecto directamente citotóxico o por hipersensibilidad (Benjamin, 2001).

La **leucocitosis** es una cuenta leucocítica total por arriba de las cifras normales. El grado de leucocitosis depende de varios factores: causa, gravedad de la infección, localización de la respuesta inflamatoria y resistencia del animal (Benjamin, 2001).

Benjamín (1991) menciona que las afecciones que tienen como resultado leucocitosis son las siguientes:

- Infección localizada o generalizada
- Intoxicaciones: química, metabólica (uremia, acidosis, eclampsia), veneno de insectos, reacción a proteínas extrañas.
- Necrosis tisular de cualquier causa: infarto, quemaduras, gangrena, neoplasias
- Hemorragia aguda
- Hemolisis aguda
- Neoplasias (incluyendo la leucemia)
- Corticosteroides suprarrenales: por administración exógena o por exceso en producción.

### **6.11.3 Respuestas individuales de los leucocitos:**

**Neutrofilia.** Término que se refiere al aumento de neutrófilos por encima de las cifras normales. Las causas de neutrofilia incluyen:

-Inflamación. Infecciones (bacterianas, fúngicas, por protozoarios y virales), necrosis (hemolisis, hemorragia, infartos, quemaduras, neoplasias, inflamación estéril y presencia de cuerpo extraño) y anemia hemolítica inmunomediada (Stockham y Scott, 2008).

-Esteroides. Adrenocorticismo o administración exógena de hormona adrenocorticotropa, terapia de glucocorticoides (Benjamin, 2001; Stockham y Scott, 2008).

- Toxicosis. Por estrógenos en sus etapas tempranas (Balcells, 1994).

- Leucemia neutrofílica crónica (Stockham y Scott, 2008).

**Neutropenia.** El término se refiere al descenso de neutrófilos por debajo de las cifras normales. Resulta de los siguientes desordenes según Stockham y Scott (2008):

- Infecciones bacterianas descontroladas, infecciones virales; por ejemplo el parvovirus canino.

-Destrucción periférica de neutrófilos: Neutropenia inmunomediada y síndromes hemofagocíticos.

-Hipoplasia granulocítica (producción reducida), como la causada por el parvovirus canino y ehrlichiosis, neoplasias, panleucopenia felina, toxicosis (estrógenos, quimioterapéuticos entre otros), por necrosis de medula, mielofibrosis.

-Producción inefectiva. Por neutropenia inmunomediada, neutropenia crónica idiopática.

-Hematopoyesis cíclica canina. Es un desorden hereditario de la raza Grey Collie y sus cruza, donde el ciclo de producción de neutrófilos está fuera de sincronía con los otros ciclos, lo que causa una neutropenia recurrente.

**Eosinofilia.** Resulta de las siguientes afecciones (Rebar, 2003):

- Reacciones anafilácticas.
- Insuficiencia adrenocortical.
- Leucemia eosinófila. Es una neoplasia mieloproliferativa en gatos extraordinariamente infrecuente.
- Síndrome hipereosinofílico, es difícil diferenciar del anterior, se considera cuando se han descartado otras causas.
- Miositis eosinófila.
- Esplenotomía en el canino, 30 días posteriores a la cirugía.
- Inflamación granulomatosa causadas por hongos o cuerpos extraños.

Sin embargo Coles (1968) menciona también las siguientes causas:

- Neoplasias de ovarios, serosas y huesos, además de mastocitomas y menos frecuente los linfomas.
- Respuesta hipersensitiva a determinados parásitos y alérgenos que tienen una destacada migración tisular o fase de contacto tisular.

**Eosinopenia:** es una entidad clínica difícil de valorar ya que en condiciones normales el número de eosinófilos es bajo (Coles, 1968; Rebar, 2003).

**Basofilia:** el aumento del número absoluto es raro en animales domésticos, en el caso de ocurrir frecuentemente se asocia con eosinofilia (Coles, 1968; Rebar, 2003). Las causas de basofilia, según los últimos autores, incluyen:

- Reacciones alérgicas o de hipersensibilidad.
- Parasitosis por nematodos, trematodos o ectoparásitos que tienen fase importante de migración tisular. En caninos las causas frecuentes son dirofilariasis, infestación por garrapatas o alergia a las pulgas.
- Hiperlipemia por alteraciones metabólicas o endocrinas.
- Leucemia basófila, es una neoplasia mieloproliferativa extremadamente infrecuente.

**Basopenia:** es difícil valorarla ya que rara vez se observan basófilos en sangre periférica, glucocorticoides endógenos o exógenos ocasionan reducción de basófilos circulantes (Rebar, 2003).

**Monocitosis.** Menciona Rebar (2002) que las causas de monocitosis incluyen:

- Patologías crónicas que tienen por consecuencia la eliminación de grandes cantidades de tejido (necrosis tisular).

- Las monocitosis ligeras se pueden asociar con respuestas de estrés por altos niveles de glucocorticoides circulantes.

- Leucemias monocíticas reportadas en la especie canina (Coles, 1968).

**Monopenia:** por las mismas razones que en basopenia no es una entidad clínica reconocida (Rebar, 2003).

**Linfocitosis.** Mencionan Coles (1968) y Rebar (2002) que puede ser producida por:

- Vacunación. Se produce linfocitosis por estimulación antigénica.

- Infecciones crónicas y estrés. Toda afección con neutropenia puede tener linfocitosis relativa aunque el aumento absoluto suele ser excepcional.

- Leucemia linfocítica (linfosarcoma).

- Convalecencia de ciertas infecciones.

- Insuficiencia adrenocortical.

- Hipertiroidismo.

**Linfopenia.** Puede ser motivada por:

- Infecciones virales. Distemper canino y hepatitis infecciosa canina (Coles, 1968).

-Acción de hormonas adrenocorticales. Ya sea por su administración o por situaciones de esfuerzo donde se secreten (Coles, 1968)

### **Trombocitosis**

Fisiológica. Es debida a un aumento de movilización de las plaquetas a partir del compartimiento esplénico y del no esplénico (quizás pulmonar). Suele ser transitoria a raíz de actividad física o administración externa de epinefrina (Rebar y Metzger, 2001)

Patológica. Hay 2 categorías de trombocitosis patológica, la esencial (por un desorden primario de la medula ósea) y la secundaria a alguna enfermedad.

La trombocitosis esencial es una enfermedad mieloproliferativa poco frecuente, caracterizada por una trombosis primaria persistente. Se ha asociado a sangrado persistente, es descrita en perros de edad media-avanzada. Las plaquetas no son funcionales en estudios de agregación y adhesión y el volumen plaquetar medio (VPM) suele estar dentro de los niveles de normalidad (Rebar, 2002).

La trombocitosis secundaria está caracterizada por incremento transitorio de los recuentos plaquetares en pacientes que padecen otras enfermedades que no son mieloproliferativas (Cowell *et al.*, 2009), por ejemplo:

- Neoplasias. Linfoma, neoplasia hematológica, melanoma, mastocitoma, adenocarcinoma, mesotelioma, neoplasia de sistema nervioso central.

- Afecciones gastrointestinales. Pancreatitis, hepatitis, enfermedad inflamatoria intestinal, colitis.

- Enfermedades inmunomediadas.

- Hemorragias

- Fracturas y trauma

- Terapia farmacológica. Glucocorticoides y fármacos antineoplásicos

-Esplenectomía en perros.

**Trombocitopenia:** Existen 4 mecanismos principales que llevan a ella (Rebar, 2002):

- 1) producción anormal de plaquetas
- 2) retirada acelerada de plaquetas
- 3) distribución anormal de plaquetas
- 4) combinación de las anteriores

La producción anormal de plaquetas. La trombocitopenia hipoproliferativa es el resultado directo de la megacariocitopoyesis reducida, es infrecuente y se acompaña siempre por otra citopenia como anemia y/o neutropenia. Entre sus causas encontramos según menciona Rebar en sus trabajos de (2002, 2003):

-Infecciones. En la especie canina la ehrliquiosis.

-Vacunación. La vacunación contra determinadas enfermedades puede llegar a afectar la producción de plaquetas, en perros por ejemplo, la inoculación contra sarampión, distemper y parvovirus

-Fármacos. Los más comúnmente implicados son estrógenos, sulfadiazina y antiinflamatorios no esteroideos. Usualmente afectan también otras líneas celulares, aunque no suele observarse anemia por la larga vida media de los eritrocitos. Tras la exposición al fármaco la trombocitopenia suele darse hacia los 8-10 días.

-También puede ser causada por mielofibrosis, enfermedad medular inmunomediada y cáncer.

La retirada acelerada de la circulación es la causa más común de trombocitopenia, es provocada por las siguientes afecciones:

-Trombocitopenia inmunomediada (primarias y secundarias), trombocitopenia alioimmune y la trombocitopenia secundaria no inmune (Rebar, 2002).

-El aumento en la utilización periférica también se produce cuando existe un aumento en la demanda sistémica de plaquetas. Esto sucede en dos estados: coagulopatía intravascular diseminada (CID) y pérdida de sangre (Rebar, 2003).

La distribución anormal de las plaquetas se suele asociar con: hiperesplenismo, endotoxemia, hepatomegalia e hipotermia (Rebar, 2003; Rebar, 2002).

-El hiperesplenismo es una condición patológica donde una gran proporción de plaquetas circulantes quedan secuestradas en el bazo, usualmente se acompaña de otras citopenias

-La endotoxemia puede causar el mismo secuestro plaquetar en el bazo y el pulmón

-Hepatomegalia e Hipotermia

El uso de determinados fármacos puede causar trombocitopenia por combinación de mecanismos, los fármacos implicados incluyen algunos antibióticos, antiepilépticos, antiinflamatorios, quimioterapéuticos, antivirales y diuréticos. Su efecto puede deberse a afectación medular o afectación periférica (Rebar, 2002).

### **6.12 Componente celular de la formula roja**

El componente celular de la formula roja de la sangre lo constituye el eritrocito o glóbulo rojo. Esta célula en los vertebrados mamíferos y en la especie humana carece de núcleo (Cowell *et al.*, 2009).

### **6.13 Funciones del componente celular de la formula roja**

La principal función de los eritrocitos es la de transportar hemoglobina, que a su vez transporta oxígeno desde los pulmones a los tejidos (Guyton y Hall, 2006).

La hemoglobina es una proteína especializada en el transporte de oxígeno y dióxido de carbono. La forman cuatro cadenas polipeptídicas cada una de las cuales forma un complejo con un grupo hemo, cuyo átomo de hierro es capaz de unir de forma reversible una molécula de oxígeno (Pawlina y Ross, 2007).

Otra función importante del eritrocito es que posibilita el deshecho de CO<sub>2</sub> ya que contiene anhidrasa carbónica, una enzima que cataliza la reacción reversible entre CO<sub>2</sub> y el agua para formar ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). La rapidez de esta reacción posibilita que el agua de la sangre transporte enormes cantidades de CO<sub>2</sub> en forma de ion bicarbonato desde los tejidos a los pulmones donde se convierte de nuevo a CO<sub>2</sub> y se expulsa a la atmosfera como producto de desecho del organismo (Guyton y Hall, 2006).

Otra función es que la hemoglobina es un excelente amortiguador ácido básico (igual que la mayoría de las proteínas) de manera que son responsables de la mayor parte del poder amortiguador ácido básico de la sangre completa (Guyton y Hall, 2006).

Los eritrocitos también son los mayores responsables de la viscosidad de la sangre (Pawlina y Ross, 2007).

### **6.14 Morfología del eritrocito en la especie canina**

Los eritrocitos son células anucleadas con forma de disco bicóncavo con una marcada zona central pálida, siendo los del perro los de palidez central más destacada. La coloración normal es rojiza o rojizo anaranjada, tienen un tamaño de 6 -7  $\mu$  los perros tienen los eritrocitos más grandes de las especies domesticas (Harvey, 2001; Reagan, 1999; Rebar, 2002).

Dentro de la morfología normal del eritrocito podemos encontrar:

-La formación de eritrocitos en pilas de moneda (Roleaux) en extensiones sanguíneas es moderada en perros.

-Los eritrocitos policromatofilos (eritrocitos maduros de rojo azulado) constituyen aproximadamente el 1% del total de la población normal de eritrocitos.

-Los cuerpos de Howell-Jolly son restos de material nuclear fuertemente tenidos que aparecen en los eritrocitos y son raras en perros sanos (Rebar, 2002).

## 6.15 Factores que influyen en los valores circulantes (formula roja)

### 6.15.1 Eritrocitosis

Se define como el aumento del valor del hematocrito, la hemoglobina y los eritrocitos por arriba de los límites estándar para la especie. Cuando hay un incremento en la cantidad de eritrocitos en la sangre periférica debido a la disminución del volumen plasmático pueden estar aumentados los volúmenes de leucocitos y plaquetas, en ese caso se debe utilizar el término policitemia (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

Clasificación de la Eritrocitosis. La eritrocitosis se puede dividir en relativa y verdadera.

En la **eritrocitosis relativa** hay una hemoconcentración por disminución en el volumen plasmático lo cual provoca un incremento en el hematocrito y las proteínas plasmáticas. Puede ser a causa de deshidratación, choque, y estrés (causando un incremento en la cantidad de eritrocitos hasta un 15%, transitoria, principalmente las razas Pastor alemán, Beagle, Bóxer y Chihuahueño) (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

La **eritrocitosis verdadera** puede presentarse con aumento en la producción de eritropoyetina y con producción de eritropoyetina normal o disminuida. La primera puede ser a causa de:

-Respuesta fisiológica: grandes alturas sobre el nivel del mar. La producción de eritropoyetina es desencadenada por hipoxia tisular o por disminución de saturación de oxígeno arterial (Guyton y Hall, 2006; Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

-Hipoxia: como resultado de enfermedades pulmonares y cardíacas crónicas en las que no hay una oxigenación completa en la sangre en los pulmones o una desviación arterio-venosa de la sangre (Guyton y Hall, 2006; Núñez-Ochoa y Bouda, 2007). Las hemoglobinopatías, sulfahemoglobinemia y

metahemoglobinemia crónicas puede producir eritrocitosis por el mismo mecanismo (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

-Medicamentos: el cobalto y andrógenos estimulan la producción compensatoria de eritropoyetina (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

-Secreción inapropiada: Por tumores renales, trastorno vascular renal, quistes renales o hidronefrosis (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

En la eritrocitosis verdadera con producción de eritropoyetina normal o disminuida puede ser a causa de:

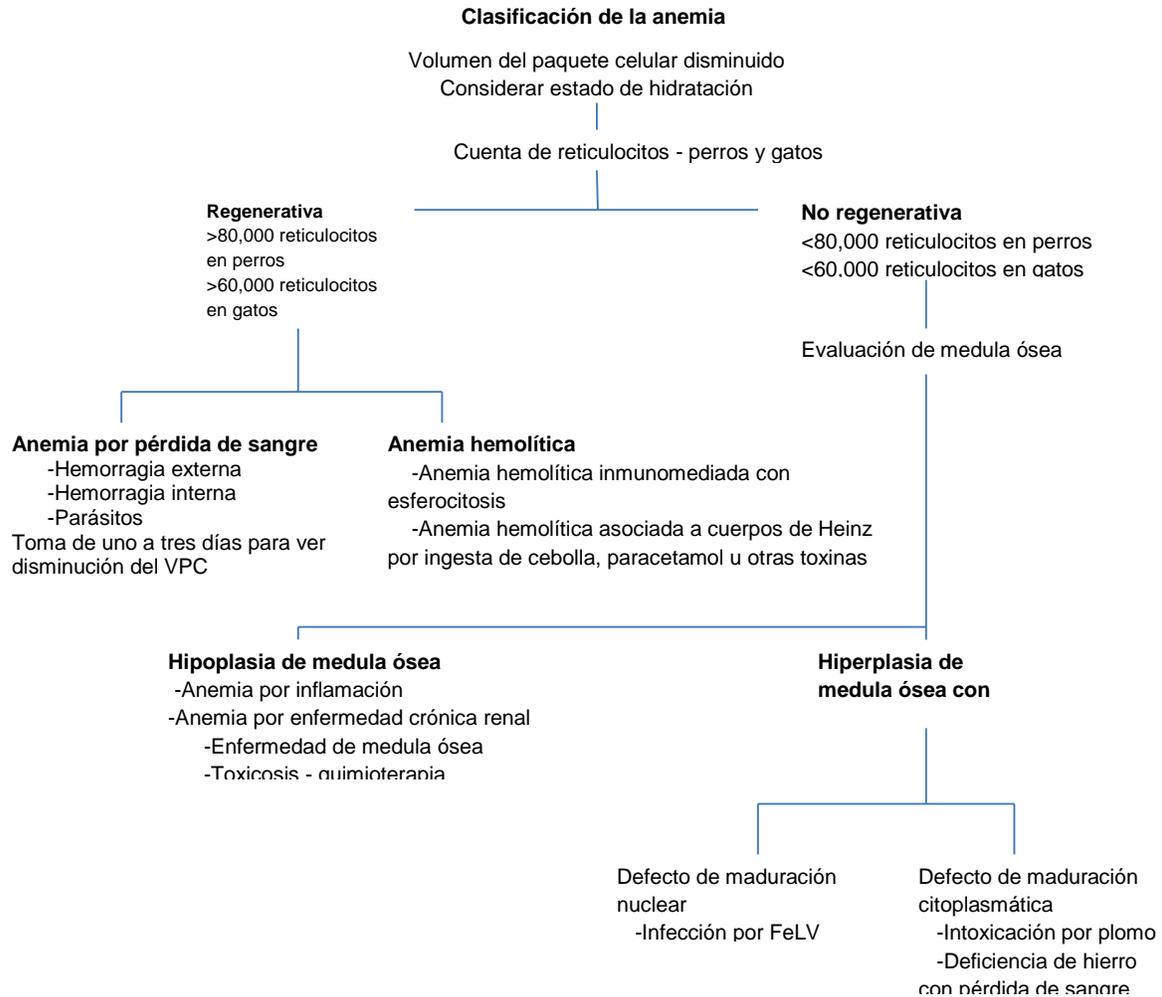
-Eritrocitosis absoluta o policitemia vera. En perros y gatos adultos se ha observado la proliferación de eritrocitos independientemente de la eritropoyetina (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007). Es un desorden mieloproliferativo crónico caracterizado por un incremento del número de eritrocitos, de la concentración de hemoglobina y del hematocrito, en presencia de una presión de oxígeno ( $pO_2$ ) en sangre arterial normal y de una eritropoyetinemia normal, baja o incluso indetectable, debido a una proliferación exagerada de clones hematopoyéticos de la serie roja. Es una entidad inusual en el perro y el gato. El hallazgo laboratorial más destacable de esta enfermedad es el alto hematocrito obtenido que oscila entre el 65 y el 80% (Cervantes *et al.*, 2001).

### **6.15.2 Anemia**

Significa deficiencia de hemoglobina en la sangre, lo que puede deberse a muy pocos eritrocitos o muy poca hemoglobina en ellos (Guyton y Hall, 2006).

En perros se considera anemia leve cuando presentan un hematocrito de 0.30 -0.37L/L, moderada con un hematocrito de 0.20 -0.29, severa de 0.13 - 0.19 y muy severa <0.13 (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

La anemia es un síndrome, lo que significa que tiene múltiples causas, como se muestra en la figura 4, de hecho existen aproximadamente 500 causas del proceso (Almaguer, 2003) algunos tipos de anemia y sus causas fisiológicas son las siguientes:



**Fig.4.** Clasificación de la anemia tomado de (Rebar y Metzger, 2001).

Anemias regenerativas: son producidas por hemorragia y hemólisis.

**Anemia por hemorragias:** Tras una hemorragia rápida el organismo sustituye la porción líquida del plasma de 1-3 días, pero esto deja una concentración baja de eritrocitos que tardaría en normalizarse de 3 a 6 semanas. En las hemorragias continuas no se puede absorber hierro en intestinos tan rápidamente como se pierde por lo que los eritrocitos que se producen son más pequeños que lo normal y tienen poca hemoglobina dentro (Guyton y Hall, 2006).

**Anemias hemolíticas:** diferentes anomalías de los eritrocitos hacen frágiles a las células de manera que se rompen fácilmente cuando atraviesan los capilares, especialmente los del bazo o las hacen blanco del propio sistema inmune propiciando su destrucción (Guyton y Hall, 2006). Algunos de estos tipos de anemia son los siguientes:

- Inmunomediadas (figura 5)

-Anemia hemolítica inmunomediada idiopática (primaria). Es un desorden autoinmune con ninguna causa subyacente identificable, en ella anticuerpos son producidos contra los antígenos de membrana de eritrocitos propios del animal, lo que causa una destrucción inmunomediada de ellos y resulta en un acelerado decremento de masa eritrocitaria total (Balch y Mackin, 2007).

-Anemia hemolítica inmunomediada por vacunación. Se ha sugerido una relación entre la vacunación y el desarrollo de este tipo de anemia en caninos, aunque es inespecífico si la vacunación la detona o acelera un proceso preexistente (Duval y Giger, 1996).

-Anemias hemolíticas de origen infeccioso como las producidas por *Haemobartonella canis*, *Haemobartonella felis*, *Babesia canis* y *Babesia gibsoni* (Rebar y Metzger, 2001).

-Anemia hemolítica secundaria a ingestión de miembros de la familia Allium, acetaminofen, y otras toxinas. Este tipo de anemia ha sido asociada con la exposición a algunas toxinas, incluyendo zinc, acetaminofen, cebolla, ajo, y otros agentes oxidantes que pueden inducir anemias hemolíticas asociadas a cuerpos de Heinz (Balch y Mackin, 2007; Kovalkovičová *et al.*, 2009; Schlesinger, 1995).

<b>Causas de anemia hemolítica inmunomediada en perros</b>	
<b>Infección</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erhlichiosis</li> <li>• Babesiosis</li> <li>• Infección por Anaplasma Phagocytophilum</li> <li>• Infección por Haemobartonella canis</li> <li>• Leptospirosis</li> <li>• Dirofilariasis</li> <li>• Histoplasmosis</li> </ul>
<b>Neoplasia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Linfomas</li> <li>• Hemangiosarcoma</li> <li>• Leucemia linfocítica</li> <li>• Carcinoma gástrico y pulmonar</li> <li>• Sarcoma difuso</li> </ul>
<b>Drogas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Trimetoprim-sulfonamidas</li> <li>• Penicilina</li> <li>• Cefalosporinas</li> <li>• Levamisol</li> <li>• Fenilbutasona</li> <li>• Dipirona</li> <li>• Clorpromazina</li> </ul>
<b>Defectos intrínsecos de los eritrocitos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deficiencia de fosfofructocinasa</li> <li>• Deficiencia de piruvato cinasa</li> <li>• Fragilidad osmótica hereditaria</li> </ul>
<b>Misceláneas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cebolla</li> <li>• Ajo</li> <li>• Zinc</li> <li>• Picadura de abejas</li> <li>• Vacunación</li> </ul>

**Fig.5.** Causas de anemia hemolítica inmunomediada secundaria en perros, tomado de (Balch y Mackin, 2007).

- **No inmunomediadas**

-Esferocitosis hereditaria. La esferocitosis hereditaria es una enfermedad caracterizada por anemia hemolítica de severidad variable, con presencia de esferocitos en sangre periférica y una respuesta clínica favorable a la esplenectomía. Estas células no pueden soportar las fuerzas de compresión por no tener la estructura de membrana normal flexible de disco bicóncavo, rompiéndose con mayor facilidad (Guyton y Hall, 2006).

-Anemia hemolítica congénita del Basenji. Se caracteriza por un incremento de fragilidad osmótica del eritrocito con consecuente auto hemolisis, se cree que

es por un defecto en la glicolisis de la célula; reducido ATP eritrocítico y una deficiencia en la enzima eritrocitaria piruvato quinasa (PK por sus siglas en inglés) (Searcy *et al.*, 1971).

-Causas misceláneas. Causas relativamente comunes de anemia hemolítica no inmune en pequeñas especies incluyen defectos hereditarios, exposición a toxinas, hipofosfatemia y anemia hemolítica microangiopática (Balch y Mackin, 2007).

#### Anemias no regenerativas:

-Con hipoplasia medular: este tipo de anemias son las más comunes en perros y gatos. Incluidas en esta categoría están las anemias por enfermedad inflamatoria o neoplásica, anemia por hipotiroidismo, anemia mieloptísica y las anemias resultantes a la exposición de sustancias tóxicas a la medula ósea. La Anemia aplásica pura esta también dentro de esta categoría (Rebar y Metzger, 2001). La última se debe a una respuesta insuficiente de la medula ósea que causa pancitopenia con índices eritrocitarios secundarios normales y escasos de reticulocitos (Almaguer, 2003). Puede ser provocada por radiación, fármacos y sustancias químicas industriales (Guyton y Hall, 2006).

-Con hiperplasia medular y eritropoyesis inefectiva. Resultan por defecto de la maduración nuclear y por defecto de maduración citoplasmática. El nombre implica que aunque la medula está activa, números incrementados de eritrocitos normales no están siendo liberados a la circulación (Rebar y Metzger, 2001).

Un ejemplo de la primera es la anemia megaloblástica. La pérdida de vitamina B12, ácido fólico y factor intrínseco de la mucosa gástrica produce reducción de la producción de eritroblastos en la medula ósea, como resultado crecen demasiado grandes, con formas extrañas y membranas frágiles que se denominan megaloblastos (Rebar y Metzger, 2001). En ellos el núcleo es más inmaduro que el citoplasma (Guyton y Hall, 2006).

La principal anemia por defecto de maduración citoplasmática es la causada por deficiencia de hierro, ya sea como consecuencia de una pérdida de sangre crónica o severa. Incluida en este grupo también está la anemia causada por envenenamiento por plomo que suele ser moderada. Causa producción de eritrocitos nucleados, con cantidades normales de hemoglobina y tamaño normal (Rebar y Metzger, 2001).

## 6.16 Biometría hemática

La biometría hemática, también llamada hemograma, es uno de los estudios de laboratorio que con más frecuencia se solicitan inicialmente tanto para los pacientes ambulatorios como hospitalizados (Almaguer, 2003).

La biometría hemática junto con la química sanguínea y el examen general de orina representan las piedras angulares de las evaluaciones de laboratorio clínico (Rebar y Metzger, 2001), siendo el primero el examen de laboratorio de mayor uso para la evaluación patológica en el canino (Pedrozo *et al.*, 2010).

La valoración hematológica de pacientes caninos es una herramienta de vital importancia para el médico veterinario de pequeños animales, es el primer examen al que se enfrenta el clínico en la valoración de un paciente (Almaguer, 2003) y nos provee de una visión general de la salud del mismo lo que permite orientar los diagnósticos de una manera eficaz, sencilla y económica (Pedrozo *et al.*, 2010).

La sangre periférica sirve como medio de transporte entre la medula ósea y los tejidos, consecuentemente una biometría hemática ofrece una imagen rápida del sistema hematopoyético en un tiempo dado (Rebar y Metzger, 2001).

El hemograma debe de ser realizado en todo paciente enfermo, ya sea que se encuentre gravemente afectado o presente vagos signos de enfermedad así como en los pacientes que esté pasando por un periodo de bienestar a modo de revisión y pacientes geriatras. También está indicado para dar seguimiento a pacientes con previas anormalidades eritrocitarias, leucocitarias o plaquetarias y en conjunción con tratamientos que involucren medicamentos que puedan afectar estas células, como la quimioterapia (Rebar y Metzger, 2001).

En la actualidad la biometría hemática integra la determinación de 15 parámetros y se compone de la serie roja y la serie blanca así como la evaluación de las plaquetas (Almaguer, 2003).

La serie roja la componen los índices eritrocitarios primarios y secundarios. Los índices eritrocitarios primarios son la cuenta eritrocitaria (número de eritrocitos/litro), la determinación de hemoglobina y de hematocrito. Los índices eritrocitarios secundarios son el volumen globular medio (VGM), la hemoglobina globular media (HGM) y la concentración media de hemoglobina globular (CMHG). Se calculan a partir de los índices primarios y nos indican el tamaño y contenido de la hemoglobina en la población de eritrocitos (Almaguer, 2003).

La serie blanca consta de la cuenta leucocitaria total, el cálculo diferencial de leucocitos, por otra parte la evaluación plaquetar (Almaguer, 2003). La biometría hemática se puede realizar por métodos automatizados o por el método tradicional (manual) (Maya, 2007) el cual se utilizó en este trabajo de investigación y se describe en materiales y métodos.

En la mayoría de los autoanalizadores de hematología, desde el punto de vista tecnológico, los recuentos electrónicos de eritrocitos, así como el recuento total de leucocitos y de plaquetas se hace utilizando la impedancia eléctrica. Los recuentos se realizan simultáneamente utilizando el tamaño de las células, para ello aprovechan las variaciones que se presentan en un campo electromagnético en el cual se suspenden las células objeto del estudio (Maya, 2007).

## 7 VALORES DE REFERENCIA

Los valores de referencia mostrados en el cuadro 1, corresponden a (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007). Fueron elegidos por ser valores de referencia provenientes de una fuente reconocida, creíble y reciente, además de ser consistentes con otros valores de referencia ya establecidos en fuentes extranjeras (Cowell *et al.*, 2009).

**Cuadro 1.** Valores de referencia del hemograma canino (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

<b>Variable</b>	<b>Unidades</b>	<b>Valores</b>
<b>Hematocrito</b>	L/L	0.37 - 0.55
<b>Eritrocitos</b>	$\times 10^{12}/L$	5.5 - 8.5
<b>Hemoglobina</b>	g/L	120 - 180
<b>VGM</b>	f/L	60 - 77
<b>HGM</b>	Pg	19.5 - 24.5
<b>CMHG</b>	g/L	320 - 360
<b>Glóbulos blancos:</b>	$\times 10^9 /L$	6 - 17
<b>Neutrófilos %:</b>	%	60 - 70
<b>Neutrófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	3 - 11.5
<b>Linfocitos %:</b>	%	12 - 30
<b>Linfocitos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	1 - 4.8
<b>Monocitos %:</b>	%	3 - 10
<b>Monocitos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	0.1 - 1.4
<b>Eosinófilos %:</b>	%	3 - 10
<b>Eosinófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	0 - 0.9
<b>Basófilos %:</b>	%	0 - 1
<b>Basófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	Raros

## 8 MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras se obtuvieron de un total de 105 caninos, 46 hembras y 59 machos de raza pura y mestizos, los cuales se eligieron por la oportunidad de obtención de cantidad de muestra requerida y por resultar sanos al examen físico. A los propietarios les fueron requeridos los siguientes datos: nombre de la mascota, edad, sexo, raza así como vacunas y desparasitaciones, datos que no se especifican en el presente estudio pues solo se tomaron con motivos de identificación.

La extracción de sangre se realizó por método tradicional, con agujas de extracción de sangre (21G y 22G) nuevas, camisa (holder vacutainer) y tubos de ensayo para venopunción con anticoagulante Etilendiaminotetraacético (EDTA). Se procuró que las muestras obtenidas fueran de 3 a 5 ml por mascota, que en el tubo no se formasen coágulos ni se introdujeran contaminantes. También se procuró reducir al mínimo el estrés de la mascota (pues este puede influir en los valores circulantes), por lo que si después de un par de intentos no se lograba conseguir la muestra, la mascota se descartaba.

Los hemogramas se realizaron con la técnica tradicional, que es descrita más adelante.

Una vez obtenidos los resultados de los hemogramas se descartaron los resultados que no tenían homogeneidad con los demás (valores estrafalarios) probablemente por error de la técnica o por posible enfermedad. También se descartaron resultados obtenidos de animales a los que les faltaban datos por trasapelación o por omisión en el cuestionario.

Los resultados de hemogramas (n=105) fueron ordenados y agrupados. Se realizó el cálculo del promedio, la desviación estándar y error estándar del promedio. Los rangos de los valores hematológicos se calcularon en base al valor del promedio, más menos la desviación estándar ( $x \pm s$ ).

Los valores hematológicos obtenidos en este trabajo (sin distinción de sexo) fueron comparados con los valores de referencia de Nuñez Ochoa y Bouda (2007).

Posteriormente se ordenaron los resultados de los hemogramas por sexo y ambos grupos fueron analizados mediante la prueba t de Student para determinar si hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores hemáticos de los 2 grupos (machos y hembras). El nivel de probabilidad que se está dispuesto a aceptar es de **P <0.05**.

-Procedimiento para determinar microhematocrito.

1. Llenar un tubo capilar liso (75 mm x 1.0 mm), hasta 3/4 partes de su capacidad con sangre, sosteniendo el tubo en una posición casi horizontal para facilitar el llenado.

2. Limpiar el exceso de sangre del exterior del capilar.

3. El extremo capilar que tiene el anillo coloreado debe sellarse con plastilina manteniendo el capilar en posición horizontal e introduciendo este extremo seco en la placa con el compuesto sellador en un ángulo de 90°, girar el capilar ligeramente y retirar la placa. El tapón formado debe tener menos de 4 mm de longitud.

4. Colocar el capilar en la microcentrífuga con la parte sellada hacia la periferia. Identificar bien los tubos.

5. Fijar el cabezal de la centrífuga y cerrar la tapa.

6. Centrifugar durante 5 minutos entre 12.500 y 15.000 rpm. no usar el freno para detener la centrífuga.

7. Se retiran los tubos de la centrífuga y se lee el porcentaje de hematocrito o también conocido como packed cell volumen (PVC), utilizando la tabla lectora de microhematocrito.

8. Se debe leer el nivel de eritrocitos centrifugados; no incluir la capa rica en leucocitos y plaquetas (buffy coat o capa leucocitaria). El valor del hematocrito se

calcula dividiendo la longitud de la capa de eritrocitos entre la longitud total constituida por los eritrocitos, capa leucocitaria y plasma.

- Conteo de eritrocitos

1. Se ensambla el equipo, uniendo la boquilla al tubo de hule y este a la pipeta de Thoma para eritrocitos (roja).

2. Mezclar la sangre.

3. Aspirar la sangre con la pipeta hasta la marca de 0.5 (para dilución 1:200) usando una suave succión.

4. Se debe limpiar la sangre del exterior de la pipeta con un trozo de papel filtro. Si se rebasa la marca se debe ajustar eliminando el exceso de sangre con un papel filtro o un algodón, aun así pueden quedar adheridas células a la pipeta y la cuenta podría resultar más alta.

5. Después se aspira la solución salina, con una succión uniforme hasta la línea de 101 por encima del bulbo y se debe girar suavemente mientras se llena.

6. La pipeta se retira del diluyente de forma horizontal y se tapan los orificios con los dedos, toda la sangre debe estar en el bulbo.

7. La pipeta debe agitarse por 2 o 3 ocasiones en un agitador mecánico.

8. La cámara de Neubauer y el cubreobjetos deberán limpiarse cuidadosamente quitando la pelusa y grasa.

9. Se coloca el cubreobjetos especial con los extremos más largos paralelos y sobre los bordes de apoyo de la cámara, manejándolo solo de los extremos más largos paralelos y sobre los bordes de apoyo de la cámara, manejándola solo de los extremos largos.

10. Inmediatamente después de agitada la pipeta se desechan 3 gotas y se limpia la punta de la pipeta con un algodón.

11. Con la punta de la pipeta se toca el espacio entre el cubreobjetos y la cámara dejando fluir el líquido por capilaridad, sin que se derrame por los bordes, y se retira la pipeta.

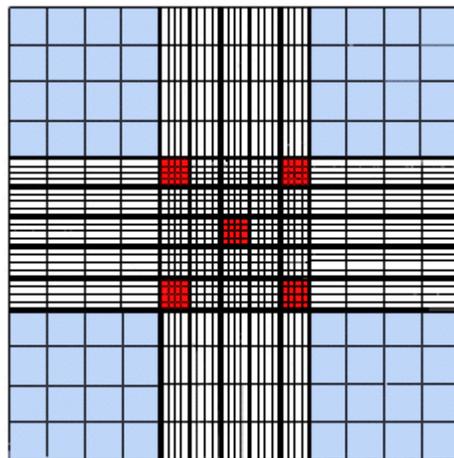
12. Si se derrama hay que repetir este paso, previamente limpiando la cámara.

13. Se esperan 3 minutos para que sedimenten las células, pasado ese tiempo inicia la evaporación.

14. Con el objetivo de 10x del microscopio se localiza el cuadro central de los 9 cuadros grandes y una distribución homogénea de las células (fig.6).

15. Con el objetivo de 40x se deben contar los eritrocitos en 5 de los 25 cuadros pequeños del área central.

16. Cada uno de los 5 cuadros está limitado por líneas dobles y triples y se dividen en 16 más pequeños. Se cuenta iniciando a la izquierda de la fila superior de los cuatro cuadros pequeños, luego de derecha a izquierda en la siguiente fila y así sucesivamente. En la línea triple: no se cuentan las células que toquen las líneas internas superior e izquierda. En la línea doble: no se cuentan las que toquen las líneas interna inferior y derecha y si se cuentan las que toquen las líneas externas superior e izquierda.



- Áreas donde se cuentan leucocitos
- Áreas donde se cuentan eritrocitos

**Fig. 6.** Áreas de conteo en la cámara de Neubauer (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

#### Cálculo

•Eritrocitos/Litro=Células contadas /100 (0.1mm de profundidad) X 5 (1/5 de mm cuadrado) X 200 (dilución de 1:200)

-Obtención de los índices eritrocitarios secundarios:

Concentración media de hemoglobina globular (**CMHG**)= (Hemoglobina x 100)/ hematocrito

Volumen globular medio (**VGM**) = (Hematocrito x 10)/ número de eritrocitos

Hemoglobina globular media (**HGM**) = (Hemoglobina x 10)/ número de eritrocitos

-Conteo de glóbulos blancos

1. Se sigue la misma técnica que con los eritrocitos solo que la pipeta Thoma para glóbulos blancos (azul) tiene una marca de 11 por encima del bulbo.

2. La sangre se aspira hasta la marca del 0.5 y diluida hasta la marca de 11 con la solución de Turk.

3. Se desechan 2 o 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara.

4. Se deja 1 minuto para que los eritrocitos se lisen y que los leucocitos sedimenten.

5. Con el objetivo de 10x se cuentan las células de cada uno de los 4 cuadros grandes de las esquinas. Se debe reducir la iluminación para detectar a los leucocitos como objetos uniformes y oscuros (fig. 6). La regla de incluir y excluir las células es la misma que la de los eritrocitos.

Cálculo

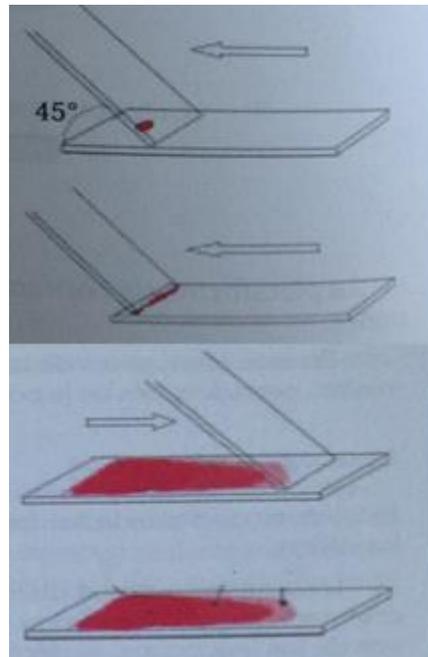
•Leucocitos totales /x10<sup>9</sup> /L = Células contadas x 0.05.

•Lo que es igual a 50 por la suma de las células contadas en los 4 cuadrados= Leucocitos totales / microlitro.

- Recuento diferencial

1. Hacer una extensión de sangre bien mezclada con sangre con anticoagulante EDTA o capilar con el método de atraer y arrastrar (figura 2). Seque rápidamente al aire o en una corriente de aire tibio.

3. Teñir el frotis con la técnica indicada por hemocolorante rápido. Está formada por tres reactivos, el primero tinción de eosina, el segundo solución fijadora/amortiguadora y el tercero tinción azul de metileno. Sumergir la laminilla 30 segundos en cada reactivo en el orden descrito, sacudiendo el exceso entre cada uno, después de la tinción de azul de metileno enjuagar en agua corriente y dejar secar.



**Fig. 7.** Elaboración de extensión sanguínea por el método de atraer y arrastrar. Una vez colocada la pequeña gota de sangre esta se arrastra para atrás con otra laminilla inclinada a un ángulo de 45 grados. Por capilaridad la sangre se extenderá a toda la orilla de la laminilla con la que se realiza el arrastrado, una vez que esto suceda arrastrar de un solo movimiento hacia adelante (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

### Examen microscópico

- En 10x examinar calidad global del frotis, color y distribución de células, la formación de rodillos por los eritrocitos o la aglutinación de los mismos, debe revisarse con rapidez en busca de cualquier célula anormal grande o incluso parásitos inesperados.

- En 40x se selecciona la zona correcta del extendido donde se debe iniciar el recuento y evaluar la morfología celular. Para ello se selecciona el área en la que los eritrocitos estén superpuestos de 2 a 3 pero que la mayoría estén separados entre sí.

En 100x se coloca una gota de aceite de inmersión y se enfoca con este objetivo, se cuentan y clasifican 100 leucocitos y se informan como porcentajes de leucocitos (valores relativos). La morfología de eritrocitos y plaquetas así como la estimación de estas últimas se hacen también con este.

La observación del frotis debe hacerse en forma de almendra para lograr que la observación sea representativa.

- Es importante incluir los bordes laterales para incluir las células más grandes como monocitos, linfocitos reactivos y células inmaduras.

Con los resultados obtenidos en la cuenta diferencial de leucocitos (%) se calcularon los valores absolutos de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, y basófilos por regla de tres simple.

## 9 RESULTADOS

En el cuadro 2 se presentan los resultados de los valores hematológicos obtenidos en el presente trabajo:

**Cuadro 2.** Comparación entre valores hemáticos obtenidos en el estudio y valores hemáticos de referencia (Núñez-Ochoa y Bouda, 2007).

Variable	Unidades	Promedio obtenidos	Rangos obtenidos	Promedio referencia	Rango referencia
<b>Hematocrito</b>	L/L	0.47	0.37-0.57	0.46	0.37-0.55
<b>Eritrocitos</b>	$\times 10^{12}/L$	6.9	5.4-8.4	7	5.5-8.5
<b>Hemoglobina</b>	g/L	158	138.3-178.3	150	120-180
<b>VGM</b>	f/L	71.0	58.9-83.1	68.5	60-77
<b>HGM</b>	Pg	23.7	19.6-27.7	22	19.5-24.5
<b>CMHG</b>	g/L	333	333.0	340	320-360
<b>Glóbulos blancos:</b>	$\times 10^9 /L$	9.8	5.8-13.7	11.5	6-17
<b>Neutrófilos</b>	%	61.8	48.8-74.7	65	60-70
<b>Neutrófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	6.1	3.2-9	7.25	3-11.5
<b>Linfocitos</b>	%	31.7	18.8-44.7	21	12-30
<b>Linfocitos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	3.0	1.6-4.5	2.9	1-4.8
<b>Monocitos:</b>	%	3.4	0.5-6.4	6.5	3-10
<b>Monocitos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	0.3	0-0.6	0.75	0.1-1.4
<b>Eosinófilos:</b>	%	2.3	0-6.7	6.5	3-10
<b>Eosinófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	0.2	0-0.7	0.45	0-0.9
<b>Basófilos:</b>	%	0.6	0-2.1	0.5	0-1
<b>Basófilos abs:</b>	$\times 10^9 /L$	0.1	0-0.2	Raros	Raros

Abs= absolutos.

En el cuadro 3 se presenta una comparación estadística de los resultados obtenidos en el hemograma de machos y hembras:

**Cuadro 3.** Valores promedio de parámetros hemáticos en machos y hembras y desviación estándar.

<b>Variable</b>	<b>Machos</b>	<b>DE ±</b>	<b>Hembras</b>	<b>DE ±</b>
<b>Hematocrito</b>	46.9 <sup>a</sup>	6.5	48.3 <sup>a</sup>	5.3
<b>Eritrocitos</b>	6.8 <sup>a</sup>	1.7	7.0 <sup>a</sup>	1.2
<b>Hemoglobina</b>	15.6 <sup>a</sup>	2.2	16.1 <sup>a</sup>	1.8
<b>VGM</b>	71.5 <sup>a</sup>	13.1	70.3 <sup>a</sup>	10.8
<b>HGM</b>	23.8 <sup>a</sup>	4.4	23.4 <sup>a</sup>	3.6
<b>CMHG</b>	33.3 <sup>a</sup>	0.0	33.3 <sup>a</sup>	0.0
<b>Glóbulos blancos:</b>	9.8 <sup>a</sup>	3.8	9.7 <sup>a</sup>	4.1
<b>Neutrófilos %:</b>	62.5 <sup>a</sup>	13.0	60.8 <sup>a</sup>	13.0
<b>Neutrófilos abs:</b>	6.1 <sup>a</sup>	2.8	6.0 <sup>a</sup>	3.0
<b>Linfocitos %:</b>	30.5 <sup>a</sup>	12.2	33.4 <sup>a</sup>	13.7
<b>Linfocitos abs:</b>	3.0 <sup>a</sup>	1.4	3.2 <sup>a</sup>	1.5
<b>Monocitos %:</b>	3.7 <sup>a</sup>	3.1	3.0 <sup>a</sup>	2.6
<b>Monocitos abs:</b>	0.3 <sup>a</sup>	0.3	0.3 <sup>a</sup>	0.2
<b>Eosinófilos %:</b>	2.7 <sup>a</sup>	5.3	1.9 <sup>a</sup>	2.8
<b>Eosinófilos abs:</b>	0.2 <sup>a</sup>	0.5	0.2 <sup>a</sup>	0.5
<b>Basófilos %:</b>	0.7 <sup>a</sup>	1.3	0.6 <sup>a</sup>	1.6
<b>Basófilos abs:</b>	0.1 <sup>a</sup>	0.1	0.1 <sup>a</sup>	0.2

Literales iguales indican  $P > 0.05$ .

## 10 DISCUSIÓN

El promedio de la mayoría de los valores hematológicos obtenidos están dentro del rango de normalidad de los valores de referencia de Nuñez Ochoa y Bouda (2007), excepto el de leucocitos relativos que fue 1.7% mayor al límite superior de los valores de referencia que son de 12-30%.

Los valores hematológicos de la serie roja siguientes presentan una variación mínima con valores de referencia: hematocrito y eritrocitos.

Los valores de hemoglobina obtenidos tienen un promedio 5.3% mayor al promedio de los valores de referencia.

Los valores de VGM obtenidos tienen un promedio 3.6% mayor al promedio de los valores de referencia.

Los valores de HGM obtenidos tienen un promedio 7.7% mayor al promedio de los valores de referencia.

El promedio de los valores de CMHG obtenidos es un 2.1% inferior al promedio de los valores de referencia.

En la formula blanca los valores de leucocitos obtenidos tienen un promedio 14.7% inferior al promedio de los valores de referencia.

Los valores de neutrófilos relativos obtenidos tienen un promedio 3.2% inferior promedio de los valores de referencia.

Los valores de neutrófilos absolutos obtenidos tienen un promedio 15.8% inferior al promedio de los valores de referencia.

El promedio de los valores de linfocitos relativos obtenidos resulto un 10.7% mayor al promedio de los valores de referencia.

Los valores de linfocitos absolutos obtenidos tienen un promedio 3.4% mayor al promedio de los valores de referencia.

Los valores de monocitos relativos obtenidos tienen un promedio 3.1% inferior al promedio de los valores de referencia.

Los valores de monocitos absolutos obtenidos tienen un promedio 60% inferior al promedio de los valores de referencia.

Los valores de eosinófilos relativos obtenidos tienen un promedio 4.2% inferior al promedio de los valores de referencia.

Los valores de eosinófilos absolutos obtenidos tienen un promedio 55.5% inferior al promedio de los valores de referencia

Los valores de basófilos relativos obtenidos tienen un promedio .1% mayor al promedio de los valores de referencia.

Aunque en algunos parámetros los valores hematológicos obtenidos resulten aparentemente diferentes a los valores de referencia, guardan una estrecha relación, además el promedio de valores hematológicos obtenidos se encuentra dentro de los rangos de normalidad de los valores de referencia. Las diferencias observadas no deberían ser fisiológicamente significativas en la respuesta del animal ante un desafío. Algunos de los valores hemáticos están dados en unidades exponenciales (eritrocitos, leucocitos), por lo que una décima de diferencia puede equivaler de miles a millones de células por lo que debe de considerarse la importancia que algunos decimales tendrán de impacto a nivel fisiológico y esto a su vez en los conceptos de normalidad y anormalidad fisiológica.

Por otro lado, los valores obtenidos en el hemograma de hembras y los valores obtenidos de los machos caninos de la comarca lagunera, aunque a la apreciación visual aparentan algunas diferencias, no presentan una diferencia estadísticamente significativa entre sí.

## **11 CONCLUSIÓN**

Los valores hematológicos obtenidos en este estudio guardan una estrecha relación con los ya establecidos por otras fuentes, por lo que no se considera necesario el establecimiento de valores de referencia propios de la región, se podrían seguir utilizando los valores hematológicos de referencia ya establecidos.

Cuando se comparan los valores hemáticos de hembras y machos en la especie canina se concluye que no existe diferencia estadísticamente significativa entre sexos por lo tanto pueden considerarse iguales y no es necesario establecer valores de referencia por sexo.

## 12 LITERATURA CITADA

- Almaguer, C. 2003. Interpretación clínica de la biometría hemática Medicina Universitaria 5(18): 35.
- Balcells, F. V. 1994. Toxicidad sobre médula ósea provocada por estrogénos en la especie canina. 14(4): 199-214.
- Balch, A. y A. Mackin. 2007. Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. Compendium.
- Benjamin, M. M. 2001. Manual de patología clínica en veterinaria. 3ra ed. ed. Noriega Limusa Mexico, DF. 421 pp.
- Cervantes, S., E. Anguiano y R. Sorribas. 2001. Policitemia vera en un perro. Su diagnóstico y su tratamiento. Clínica Veterinaria Pequeños Animales, revista oficial de AVEPA Vol. 2(nº 2 ): 113-121.
- Coles, E. H. 1968. Patología y diagnóstico veterinarios. Interamericana. pp.
- Cowell, R. L., R. D. Tyler, J. H. Meinkoth y D. B. DeNicola. 2009. Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato. 3ra ed. ed. Elsevier Mosby. pp.
- Duval, D. y U. Giger. 1996. Vaccine-Associated Immune-Mediated Hemolytic Anemia in the Dog. Journal of Veterinary Internal Medicine 10(5): 290-295.
- Gamberale, R. 2004. Ontogenia B: el delicado equilibrio entre la diversidad y la autoinmunidad. Revista QuímicaViva 3(3).
- Gommeren, K., L. Duchateau, D. Paepe, L. Vanholen, A. Vandenberghe y S. Daminet. 2006. Investigation of physiologic leukopenia in Belgian Tervuren dogs. Journal of veterinary internal medicine 20(6): 1340-1343.
- Greenfield, C. L., J. B. Messick, P. F. Solter y D. J. Schaeffer. 2000. Results of hematologic analyses and prevalence of physiologic leukopenia in Belgian Tervuren. Journal of the American Veterinary Medical Association 216(6): 866-871.
- Guyton, A. C. y J. E. Hall. 2006. Tratado de Fisiología médica. 11 ed. ed. Elsevier Saunders, Barcelona, España. 1116 pp.
- Guzmán Grenfell, A. M., L. Maldonado Noriega, R. Mendoza Atencio y J. J. Hicks Gómez. 2005. La función plaquetaria más allá de la hemostasis: participación en las enfermedades respiratorias. Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias 18(3): 240-246.

- Harvey, J. W. 2001. Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. 1a ed. ed. WB Saunders Philadelphia. pp.
- láñez-Pareja, E. 1999. Curso de Inmunología general. [http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_02.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_02.htm) Accessed 14/01/15 2015.
- Kovalkovičová, N., I. Šutiaková, J. Pisl y V. Šutiak. 2009. Some food toxic for pets. *Interdisciplinary toxicology* 2(3): 169-176.
- Maya, G. C. 2007. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Med. lab* 13(11/12): 511-550.
- Mayani, H., E. Flores-Figueroa, R. Pelayo, J. Montesinos, P. Flores-Guzmán y A. Chávez-González. 2007. Hematopoyesis. *Cancerología* 295-107.
- Núñez-Ochoa, L. y J. Bouda. 2007. Patología clínica veterinaria. UNAM, México DF. 348 pp.
- Pawlina, W. y M. Ross. 2007. Histología: Texto y Atlas color con Biología Celular y molecular. 5ta ed. ed. Ed. Médica Panamericana. , Buenos Aires. pp.
- Pedrozo, R., G. Quintana y A. Bazán. 2010. Valores hematológicos de referencia en caninos adultos aparentemente sanos, que concurren a una clínica privada de Asunción. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud* 8(2): 05-13.
- Reagan, W. J. 1999. Hematología veterinaria. Atlas de especies domésticas comunes. In: Sanders, T. G. y D. D. B (eds.). p 72. Harcourt Brace, Barcelona, España.
- Rebar, A. y F. Metzger. 2001. Interpreting hemograms in cats and dogs. *Veterinary medicine* 1-9.
- Rebar, A. H. 2002. Manual de hematología de perros y gatos. 1ra ed. ed. Multimedica Ed. Vet., Barcelona, Espana pp.
- Rebar, A. H. 2003. Interpretación del hemograma canino y felino. *Clinical Handbook Series*. 2nd Edition. St Louis, Missouri: Nestlé Purina PetCare Company 1-90.
- Schlesinger, D. P. 1995. Methemoglobinemia and anemia in a dog with acetaminophen toxicity. *The Canadian Veterinary Journal* 36(8): 515.
- Searcy, G. P., J. Tasker y D. Miller. 1971. Congenital hemolytic anemia in the Basenji dog due to erythrocyte pyruvate kinase deficiency. *Canadian Journal of Comparative Medicine* 35(1): 67.

Stockham, S. L. y M. A. Scott. 2008. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2da ed. ed. Blackwell Publishing, USA. pp.

Tizard, I. R. 2009. Introduccion a la inmunología veterinaria. 8 ed. ed. Elsevier Saunders, Espana 574 pp.