



## Células nucleadas de la serie roja y reticulocitos: utilidad en el laboratorio clínico

Sysmex® es marca registrada de Sysmex Corporation.  
COBAS, LIFE NEEDS ANSWERS son marcas registradas de Roche.

 11 min.



En la siguiente nota ROCHE nos presenta los analizadores automatizados hematológicos Sysmex XE-2100 y XE-5000 para el análisis de las células nucleadas de la serie roja y los medidores cuali y cuantitativos de reticulocitos XT-2000, XT-4000, XE-2100 y XE-5000.



Sysmex® es marca registrada de Sysmex Corporation.  
COBAS, LIFE NEEDS ANSWERS son marcas registradas de Roche.

©2010 Roche  
Productos Roche S.A.Q.e.I.  
Rawson 3150- B1610BAL  
Ricardo Rojas, Tigre. Buenos Aires, Argentina  
www.roche.com



Células nucleadas de la serie roja  
NRBC

¿Qué son las células nucleadas de la serie roja?

Las células nucleadas de la serie roja (por sus siglas en inglés NRBC: nucleated red blood cells), también denominadas normoblastos o eritroblastos, se originan a partir de la unidad formadora de colonias de

células eritroides (CFU-e). Generalmente, el término “célula nucleada de la serie roja” incluye a cualquiera de las células precursoras nucleadas halladas en médula ósea, que maduran a glóbulo rojo o eritrocito. “El” glóbulo rojo nucleado no existe. En este proceso de diferenciación celular, la célula atraviesa por un total de siete diferentes pasos de maduración. Se describen a continuación los tipos de células de la serie roja o eritroide correspondientes a las cuatro etapas previas en la formación del reticulocito.

### Pronormoblasto o proeritroblasto

Estas células son las más inmaduras dentro de la eritropoyesis. Con un diámetro de 20  $\mu\text{m}$  y una estructura compacta de su núcleo, es difícil distinguirlas histológicamente de otros blastos.

### Normoblasto basófilo o eritroblasto basófilo

Estas células presentan un núcleo más pequeño, comparado con los proeritroblastos, y constituyen el siguiente paso en la fase madurativa. El citoplasma es más basofílico y el núcleo contiene acúmulos de cromatina y desaparece el nucléolo.

### Normoblasto policromatófilo o eritroblasto policromatófilo

Los eritroblastos policromatófilos son eritroblastos con citoplasma azul-grisáceo que todavía mantienen el potencial proliferativo.

### Normoblasto ortocromático o eritroblasto ortocromático

Los eritroblastos ortocromáticos representan el estadio final antes de la eliminación del núcleo y la transformación en reticulocito.

### Relevancia clínica

Bajo condiciones normales las NRBC se encuentran sólo en sangre fetal y de neonatos. Es posible hallar eritroblastos policromatófilos y ortocromáticos en la circulación sanguínea en casos de recuperación de anemias y deficiencias vitamínicas severas. Los proeritroblastos y eritroblastos basófilos se encuentran en circulación sanguínea sólo bajo condiciones patológicas, tales como la formación de sangre extramedular, trastornos de la médula ósea – barrera hematológica por metástasis tumorales, mielodisplasia, enfermedades neoplásicas o eritroleucemia (tipo M6 según la clasificación de FAB). Bajo estas circunstancias también se observan eritroblastos basófilos. En muy raras ocasiones pueden ser liberados de la médula ósea en una rápida regeneración de la anemia, como por ejemplo en la recuperación de un déficit importante de vitaminas o luego de hemorragias severas.

### Métodos para recuento de NRBC

Hasta hace poco tiempo atrás, el único método para cuantificar NRBC era la evaluación microscópica del extendido de sangre periférica. El recuento era un método manual y el número de células

eritroides nucleadas se expresaba como la cantidad de NRBC por 100 leucocitos. Los instrumentos no podían diferenciar células nucleadas de la serie roja (NRBC) de linfocitos. Como el tamaño de las diferentes células eritroides nucleadas es muy diverso, en ocasiones las NRBC eran incluidas dentro de los resultados de leucocitos y linfocitos. Por esta razón, ante la posible presencia de NRBC en sangre, los resultados del recuento de leucocitos podían no ser completamente correctos y era necesaria la corrección manual. Obviamente, el método manual presenta un CV significativo debido a la limitada cantidad de células que se cuentan y a la subjetividad de la interpretación de las mismas. Por otra parte, es difícil determinar a partir de la imagen microscópica de la célula si fue incluida dentro del recuento de WBC del instrumento. Por lo tanto, es una ventaja muy importante poder realizar un recuento automatizado y exacto 1-3.

Análisis automatizado de NRBC

Los instrumentos Sysmex XE-2100 y

XE-5000 detectan automáticamente las NRBC, las cuantifican y aplican la corrección requerida de WBC. Este método automatizado tiene varias ventajas. El recuento es, desde el punto de vista estadístico, más confiable no sólo por la gran cantidad de células analizadas, sino además por la confiabilidad del resultado. La tecnología empleada – citometría de flujo por fluorescencia – es la piedra angular del recuento con una muy alta precisión de NRBC. Como el recuento se realiza con colorante fluorescente, que refleja el contenido real de ADN y ARN de la célula, es posible realizar una diferenciación clara entre NRBC y leucocitos normales. En consecuencia, el recuento de NRBC no sólo resulta más preciso, sino que también se aplica la corrección apropiada para WBC.



Figura 1: Muestra de sangre negativa para NRBC

Figura 2: Muestra de sangre positiva con alta concentración de NRBC

1 NRBC, 2 Fantasma, 3 Leucocitos



Fig. 1



Fig. 2

Análisis cualitativo y cuantitativo de la eritropoyesis

Respuestas sobre eritropoyesis utilizando IRF y Ret-He

¿Qué son los reticulocitos?

Los reticulocitos son eritrocitos inmaduros. Luego de la eliminación del

**OPTI® CCA-TS**  
**OPTI® CCA**

**Analizadores de gases en sangre portátiles**



**OPTI® CCA-TS**

Autocalibración.  
Mínimo mantenimiento.  
Aspiración automática de la muestra.  
Pantalla sensible al tacto.  
Cassette de un solo uso.  
Mayor perfil de medición.  
tHb y Sat O<sub>2</sub> medidas.



**OPTI**Medical



**OPTI® CCA**

Autocalibración.  
Mínimo mantenimiento.  
Aspiración automática de la muestra.  
Cassette de un solo uso.  
Amplio perfil de medición.  
tHb y Sat O<sub>2</sub> medidas.

**OPTI® R**

**Analizador de gases en sangre de mesada**



**OPTI® R**

Autocalibración.  
Mínimo mantenimiento.  
Aspiración automática de la muestra.  
Cassette reutilizable.  
Amplio perfil de medición.  
tHb y Sat O<sub>2</sub> medidas.  
Auto QC.

**Ideal para laboratorios, quirófanos, UTI, perfusionistas.**



Aráoz 86 | C1414DPB | C.A.B.A. | Argentina | Tel: 54-11 4856-2024/5734/2876 | Fax: 54-11 4856-5652  
bga@bganalizadores.com.ar | www.bganalizadores.com.ar



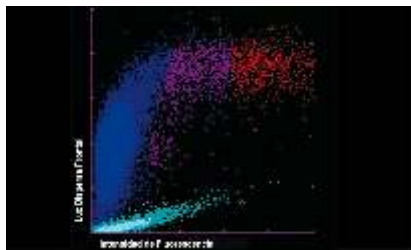
**BG ANALIZADORES S.A.**

**BG Analizadores**

núcleo a partir de las células de la progenie roja nucleadas, quedan restos de ARN. Esto puede detectarse y medirse



Figura 3: Ret-He normal aproximadamente 35 pg  
Eje Y: Dispersión frontal (forward scatter)  
Eje X: Intensidad de la fluorescencia



De acuerdo con la definición de Gimer y Koepke (1976) el reticulocito es una célula roja no nucleada, que contiene al menos dos o más partículas de material polirribosomal basofílico en el citoplasma que se tiñen de azul luego de la coloración con nuevo azul de metileno. Los puntos deben estar a una clara distancia de la pared celular para evitar que se confundan con los cuerpos de Heinz. Las células con claros gránulos citoplasmáticos azules, los cuales pueden ser vistos sin enfoque fino, son consideradas como reticulocitos en estadio IV de maduración.

Existen cuatro estadios de maduración:

- Estadio I: retículo con coágulos densos
- Estadio II: retículo laxo
- Estadio III: retículo difuso
- Estadio IV: algunos gránulos dispersos

Existen cuatro indicaciones principales para realizar el recuento de reticu-

locitos:

- Diagnóstico básico en cualquier tipo de anemia
- Monitoreo terapéutico durante la terapia con hierro, vitamina B12 o ácido fólico
- Monitoreo terapéutico bajo el tratamiento con eritropoyetina
- Monitoreo durante el trasplante de células madre

#### Medición cualitativa y cuantitativa

Para poder medir los reticulocitos es necesaria la coloración previa. Los analizadores hematológicos Sysmex que pueden medir reticulocitos (XT-2000, XT-4000, XE-2100 y XE-5000) utilizan un colorante fluorescente. Esta tecnología permite una medición cualitativa y cuantitativa de los reticulocitos. La medición incluye el recuento absoluto de reticulocitos y su porcentaje. Adicionalmente, el instrumento brinda información sobre la fracción de reticulocitos inmaduros. Estos parámetros de valor absoluto (#), porcentaje (%) y la Fracción de Reticulocitos Inmaduros (IRF), brindan al profesional de la salud un panorama completo respecto a la cantidad de reticulocitos. Por otra parte, el instrumento puede brindar una respuesta adicional referente a la calidad de la eritropoyesis utilizando el Ret-He.

#### Relevancia clínica

Ret-He: Equivalente de hemoglobina en reticulocitos

Usando el canal de reticulocitos de los instrumentos Sysmex, se puede medir el parámetro Ret-He, calculado a partir de los valores de RET-Y. Este parámetro se determina mediante la medición del valor promedio de los histogramas de dispersión frontal de reticulocitos y es comparable al contenido de hemoglobina de las células

rojas. Su relevancia clínica se ha demostrado en diversos estudios. C. Thomas et al 4 muestran su uso para determinar y discriminar diferentes anemias: anemias por enfermedad crónica, deficiencia latente de hierro, deficiencia funcional de hierro y anemia clásica por déficit de hierro. S. Jayarane et al 5 confirmaron estos hallazgos, resaltando que "Ret-Y permite identificar la deficiencia funcional de hierro". Por otra parte, Brugnara et al 6 estudiaron la utilidad del parámetro Ret He en el diagnóstico de deficiencias de hierro y analizaron su precisión y estabilidad.

#### Fracción de reticulocitos inmaduros – IRF

La IRF es un marcador temprano para evaluar la regeneración de la eritropoyesis. La IRF refleja y aumenta mucho más rápidamente – en términos de horas – en comparación con el incremento del recuento de reticulocitos, que puede requerir hasta 3 días. Se ha descrito que la IRF puede utilizarse como parámetro de monitoreo en el trasplante de células madre y médula ósea. En caso de un trasplante exitoso, la IRF alcanza un valor del 5% tres días antes que el umbral de granulocitos de  $0,5 \times 10^9/L$ . Esto se observa en aproximadamente el 80% de todos los casos.<sup>7</sup>

D'Onofrio et al. publicaron que la combinación de los valores del recuento de reticulocitos y los valores de IRF ofrece un análisis más amplio, además de la utilidad clínica. La combinación de ambos valores permite distinguir, por ejemplo, entre aplasia (bajo recuento reticulocitos y baja IRF), leucemia aguda (bajo recuento reticulocitos y alta IRF) y hemólisis (alto recuento de reticulocitos y alta IRF).



Figura 4: Reticulocitos en trastornos

# MEG@NALIZAR

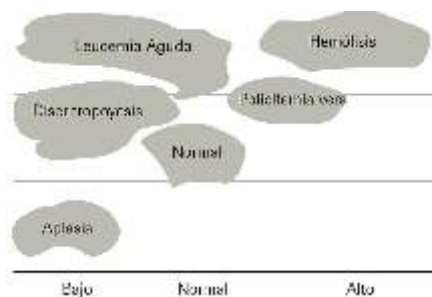
Tecnología y Calidad al servicio de la Salud

- El Megalaboratorio Institucional más completo de Cuyo
- Alta tecnología y bajos costos
- Participación constante en programas de control de calidad Externo

- Endocrinología
- Marcadores Tumorales
- Hematología
- Química Clínica
- Inmunoserología
- Virología
- Inmunología



hematológicos<sup>8,9</sup>



Sysmex® es marca registrada de Sysmex Corporation.  
COBAS, LIFE NEEDS ANSWERS son marcas registradas de Roche.

©2010 Roche  
Productos Roche S.A. Q.e.I.  
Rawson 3150- B1610BAL  
Ricardo Rojas, Tigre. Buenos Aires,  
Argentina  
www.roche.com



**cobas**<sup>®</sup>  
*Life needs answers*

Referencias:

1. M. Schaefer, R.M. Rowan. The clinical relevance of nucleated red blood cell counts. Sys. J. International 2000; Vol. 10 No. 2:59-63.
2. H. Thöml et al. Taschenatlas der Hämatologie Mikroskopie und klinische Diagnostik für die Praxis. Thieme-Verlag 5. Auflage.
3. Rümke C. "The statistically expected variability in Differential Leukocyte Counting," Differential Leukocyte Counting,» edited by Koepke JA, College of American Pathologists: 39-45, 1977.
4. Thomas C. et al. Anemia of Chronic disease: pathophysiology and Laboratory diagnosis. Int. J. Lab. Hem. 2005 1 14-23.
5. Jayarane S et al. Ret-Y and RBC-Y in the diagnosis of iron deficiency associated with anaemia of inflammation. Int. J. Lab. Hem 2010, 32, 512-518.
6. Brugnara C., et al. Reticulocyte hemoglobin Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret-He) and assessment of iron-deficiency states. Clin.Lab. Haem. 28, 303-308.
7. d'Onofrio et al. Indicators of haematopoietic recovery after bone marrow transplantation: the role of reticulocyte measurement. Clin. Lab. Haem 1996; 18: 45-53.
8. d'Onofrio G et al. Reticulocytes in haematological disorders. Clin. Lab. Haem. 1996 Dec; 18 Suppl. 1:29-34.
9. Sysmex Xtra Online. Reticulocytes and their significance Edition August 2010.

**cisma**  
LABORATORIOS S.A.

CENTRO DE INVESTIGACION, SALUD Y MEDIO AMBIENTE

Pringles 217 · Tel.: 54 - 2983 - 431408  
San Lorenzo 164 · Tel./Fax: 54 - 2983 - 420867 (central rotativo)  
Urgencias: 15645782 · (B7500IGD) Tres Arroyos · Buenos Aires  
Calle 66 N° 2654 CP.(7630) Necochea · Buenos Aires

cismalab@cismalab.com.ar  
www.cismalab.com.ar