



## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

DESCRIPTORES GEOMÉTRICOS EN LINFOCITOS REACTIVOS USANDO  
UN SISTEMA DIGITAL DE HEMATOLOGÍA EN UN HOSPITAL GENERAL DE  
LIMA – 2019

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica  
con especialidad en Laboratorio y Anatomía Patológica

**Autor (a):**

Crispin Tineo, Brian Robert

**Asesor (a):**

Avelino Callupe, Paul Fortunato  
(ORCID: 0000-0003-3133-1390)

**Jurado:**

Soto Brito, Ernesto  
Calderon Cumpa, Luis Yuri  
Lezama Cotrina, Irene Doraliza

**Lima - Perú**

**2021**

#### Referencia:

Crispin Tineo, B. (2021). Descriptores geométricos en linfocitos reactivos usando un sistema digital de hematología en un hospital general de Lima – 2019. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5443>



#### Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional  
**Federico Villarreal**

**VRIN** | VICERRECTORADO  
DE INVESTIGACIÓN

## **FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**DESCRIPTORES GEOMÉTRICOS EN LINFOCITOS REACTIVOS USANDO  
UN SISTEMA DIGITAL DE HEMATOLOGÍA EN UN HOSPITAL GENERAL DE  
LIMA – 2019**

**Líneas de investigación: Salud Pública**

**Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica con  
Especialidad en Laboratorio y Anatomía Patológica**

**Autor**

**Crispin Tineo, Brian Robert**

**Asesor**

**Avelino Callupe, Paul Fortunato**

**(ORCID: 0000-0003-3133-1390)**

**Jurado**

**Soto Brito, Ernesto**

**Calderon Cumpa, Luis Yuri**

**Lezama Cotrina, Irene Doraliza**

**Lima – Perú**

**2021**

### **Dedicatoria**

Este trabajo está dedicado a mis padres, a mi hermana, a la familia Crispin Villanueva, a la familia Tineo Espinoza.

En especial para mi tío Edmundo “Guito” y a mi abuelo Cirilo.

Para Werwita, Travi y los mapaches.

Para todos los poetas, escritores, científicos, y los que sueñan despiertos.

### **Agradecimientos**

Agradezco a mis padres y a mi hermana por su apoyo incondicional en el camino de la vida.

A mi asesor el Dr. Paul Avelino Callupe, por su paciencia y su amplio conocimiento en citomorfología hematológica normal y patológica.

Al doctor Juan Urbina, por su apoyo en el servicio de Hematología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

A todas las personas que de alguna manera dieron su granito de arena reflejado en su apoyo para poder realizar esta investigación.

**“DESCRIPTORES GEOMÉTRICOS EN LINFOCITOS REACTIVOS USANDO UN  
SISTEMA DIGITAL DE HEMATOLOGÍA  
EN UN HOSPITAL GENERAL DE LIMA - 2019”**

**Autor**

Crispin Tineo Brian Robert

**Asesor**

Dr. Avelino Callupe Paul Fortunato

## ÍNDICE

<b>Resumen.....</b>	<b>xi</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>xii</b>
<b>I.INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Descripción y formulación del problema .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Antecedentes .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Objetivos .....</b>	<b>7</b>
<b>1.3.1 Objetivo general.....</b>	<b>7</b>
<b>1.3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>7</b>
<b>1.4 Justificación .....</b>	<b>8</b>
<b>1.5 Hipótesis .....</b>	<b>8</b>
<b>II.MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación .....</b>	<b>9</b>
<b>III.MÉTODO.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1 Tipo de investigación.....</b>	<b>41</b>
<b>3.2 Ámbito temporal y espacial.....</b>	<b>41</b>
<b>3.3 Variables .....</b>	<b>42</b>
<b>3.4 Población y muestra .....</b>	<b>44</b>
<b>3.5 Instrumentos .....</b>	<b>45</b>
<b>3.6 Procedimientos .....</b>	<b>45</b>
<b>3.7 Análisis de datos .....</b>	<b>46</b>
<b>3.8 Consideraciones éticas .....</b>	<b>46</b>
<b>IV.RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
<b>V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>100</b>
<b>VI. CONCLUSIONES .....</b>	<b>105</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>106</b>
<b>VIII. REFERENCIAS .....</b>	<b>107</b>
<b>IX. ANEXOS .....</b>	<b>111</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Operacionalización de variables .....	43
<b>Tabla 2</b> Descriptores geométricos asociados al área.....	47
<b>Tabla 3</b> Estadística descriptiva del Área del núcleo .....	48
<b>Tabla 4</b> Estadística descriptiva del Área del citoplasma.....	51
<b>Tabla 5</b> Estadística descriptiva del Área celular .....	53
<b>Tabla 6</b> Datos analizados asociados a Relaciones .....	57
<b>Tabla 7</b> Estadística descriptiva de la Relación área del núcleo / área celular .....	57
<b>Tabla 8</b> Estadística descriptiva de la Relación Núcleo / Citoplasma.....	60
<b>Tabla 9</b> Datos analizados asociados a la Excentricidad .....	63
<b>Tabla 10</b> Estadística descriptiva de la Excentricidad del núcleo .....	63
<b>Tabla 11</b> Estadística descriptiva de la Excentricidad de la célula.....	66
<b>Tabla 12</b> Datos analizados asociados al Diámetro promedio .....	69
<b>Tabla 13</b> Estadística descriptiva del Diámetro promedio del núcleo.....	69
<b>Tabla 14</b> Estadística descriptiva del Diámetro promedio de la célula .....	72
<b>Tabla 15</b> Datos analizados asociados al Factor Forma .....	75
<b>Tabla 16</b> Estadística descriptiva del Factor Forma del núcleo.....	75
<b>Tabla 17</b> Estadística descriptiva del Factor Forma de la célula .....	78
<b>Tabla 18</b> Datos analizados asociados al Perímetro .....	81
<b>Tabla 19</b> Datos encontrados del Perímetro celular .....	81
<b>Tabla 20</b> Datos analizados asociados al Brillo.....	84
<b>Tabla 21</b> Estadística descriptiva del Brillo del núcleo .....	84
<b>Tabla 22</b> Estadística descriptiva del Brillo del citoplasma .....	88
<b>Tabla 23</b> Datos analizados asociados a la Densidad Óptica .....	92
<b>Tabla 24</b> Estadística descriptiva de la Densidad óptica del núcleo.....	92



<b>Tabla 25</b> Estadística descriptiva de la Densidad óptica del citoplasma.....	96
<b>Tabla 26</b> Comparación de datos obtenidos teniendo como base 100 linfocitos normales y 100 linfocitos reactivos. ....	101

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Diagrama del área celular.....	13
<b>Figura 2</b> Diagrama del diámetro promedio.....	13
<b>Figura 3</b> Diagrama de la excentricidad.....	14
<b>Figura 4</b> Diagrama del Área del núcleo.....	15
<b>Figura 5</b> Diagrama del diámetro promedio del núcleo.....	15
<b>Figura 6</b> Diagrama de la excentricidad del núcleo.....	19
<b>Figura 7</b> Diagrama del Área del citoplasma.....	20
<b>Figura 8</b> Diagrama del brillo del núcleo.....	24
<b>Figura 9</b> Diagrama del brillo del citoplasma.....	25
<b>Figura 10</b> Diagrama de la Densidad óptica del núcleo.....	26
<b>Figura 11</b> Diagrama de la Densidad óptica del citoplasma.....	27
<b>Figura 12</b> Imágenes de Linfocito reactivo y Linfocito normal.....	31
<b>Figura 13</b> Software Vision Hema.....	33
<b>Figura 14</b> Linfocito normal pequeño.....	35
<b>Figura 15</b> Linfocito mediano.....	36
<b>Figura 16</b> Linfocito grande.....	37
<b>Figura 17</b> Linfocito reactivo.....	39
<b>Figura 18</b> Gráfica del Área del núcleo.....	49
<b>Figura 19</b> Linfocitos normales y reactivos Área del núcleo.....	50
<b>Figura 20</b> Gráfica del Área del citoplasma.....	52
<b>Figura 21</b> Linfocitos normales y reactivos Área del citoplasma.....	53
<b>Figura 22</b> Gráfica del Área celular.....	54
<b>Figura 23</b> Linfocitos normales y reactivos Área celular.....	56
<b>Figura 24</b> Gráfica Relación área del núcleo / área celular.....	58

<b>Figura 25</b> Linfocitos normales y reactivos Relación área del núcleo / área celular .....	59
<b>Figura 26</b> Gráfica de la Relación núcleo/citoplasma .....	61
<b>Figura 27</b> Linfocitos normales y reactivos Relación núcleo / citoplasma .....	62
<b>Figura 28</b> Gráfica de la Excentricidad del núcleo.....	64
<b>Figura 29</b> Linfocitos normales y reactivos. Excentricidad del núcleo.....	65
<b>Figura 30</b> Gráfica de la Excentricidad de la célula.....	67
<b>Figura 31</b> Linfocitos normales y reactivos. Excentricidad de la célula .....	68
<b>Figura 32</b> Gráfica del Diámetro promedio del núcleo .....	70
<b>Figura 33</b> Linfocitos normales y reactivos. Diámetro promedio del núcleo .....	71
<b>Figura 34</b> Gráfica Diámetro promedio de la célula .....	73
<b>Figura 35</b> Linfocitos normales y reactivos. Diámetro promedio de la célula.....	74
<b>Figura 36</b> Gráfica del Factor forma del núcleo.....	76
<b>Figura 37</b> Linfocitos normales y reactivos. Factor forma del núcleo .....	77
<b>Figura 38</b> Gráfica del Factor forma de la célula .....	79
<b>Figura 39</b> Linfocitos normales y reactivos. Factor forma de la célula .....	80
<b>Figura 40</b> Gráfica del Perímetro celular .....	82
<b>Figura 41</b> Linfocitos normales y reactivos. Perímetro celular.....	83
<b>Figura 42</b> Gráfica del Brillo del núcleo .....	85
<b>Figura 43</b> Linfocitos normales y reactivos. Brillo del núcleo.....	86
<b>Figura 44</b> Linfocitos normales y reactivos diferenciación en el brillo del núcleo.....	87
<b>Figura 45</b> Gráfica del Brillo del citoplasma.....	89
<b>Figura 46</b> Linfocitos normales y reactivos. Brillo del citoplasma.....	90
<b>Figura 47</b> Linfocitos normales y reactivos, diferenciación del Brillo del citoplasma .....	91
<b>Figura 48</b> Gráfica de la Densidad óptica del núcleo .....	93
<b>Figura 49</b> Linfocitos normales y reactivos. Densidad óptica del núcleo .....	94

<b>Figura 50</b> Linfocitos normales y reactivos. Diferenciación de la densidad óptica del núcleo	95
<b>Figura 51</b> Gráfica de la Densidad óptica del citoplasma .....	97
<b>Figura 52</b> Linfocitos normales y reactivos. Densidad óptica del citoplasma .....	98
<b>Figura 53</b> Linfocitos normales y reactivos. Diferenciación densidad óptica del citoplasma .	99

## RESUMEN

La presente investigación se refiere a los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos y su respectiva variación que se expresó numéricamente con relación a los valores numéricos de los descriptores geométricos de un linfocito normal. Se entiende como descriptor geométrico a aquello que mide y expresa las características morfológicas tanto en tamaño y forma de las células. El linfocito reactivo se puede definir como aquel linfocito que presenta una variación en su morfología celular, tamaño del núcleo, color del citoplasma, brillo, etc. Para poder llegar a los valores numéricos de cada descriptor geométrico fue necesario realizar un hemograma automatizado de casos con linfocitos reactivos, para este trabajo se realizó 100, y se seleccionaron linfocitos reactivos, entre 12 a 40 linfocitos reactivos por lámina, posteriormente éstos fueron validados por un profesional con años de experiencia en morfología celular hematológica, luego el linfocito fue escaneado en el software Vision Hema, bajo los algoritmos mostrados en el desarrollo de este trabajo, se halló el valor expresado en números de cada descriptor geométrico. Consecuentemente se formó una base de datos para comparar numéricamente la variación de cada descriptor geométrico entre un linfocito reactivo y uno normal, formando así un cuadro estadístico de interés científico que demostró toda variación de niveles numéricos. Dentro de los resultados se obtuvo una demostración de la variación a nivel citomorfológico de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales expresados numéricamente.

***Palabras clave:*** linfocito, linfocito reactivo, variación, descriptores celulares

## ABSTRACT

The present investigation refers to the geometric descriptors of the reactive lymphocytes and their respective variation that was expressed numerically in relation to the numerical values of the geometric descriptors of a normal lymphocyte. A geometric descriptor is understood as that which measures and expresses the morphological characteristics both in size and shape of the cells. The reactive lymphocyte can be defined as that lymphocyte that presents a variation in its cell morphology, nucleus size, cytoplasm color, brightness, etc. In order to arrive at the numerical values of each geometric descriptor, it was necessary to carry out an automated hemogram of cases with reactive lymphocytes. For this work, 100 were performed, and reactive lymphocytes were selected, between 12 to 40 reactive lymphocytes per sheet, and these were subsequently validated by an expert in hematological cell morphology, then the lymphocyte was scanned in the Vision Hema software, under the algorithms shown in the development of this work, the value expressed. Within the results, a demonstration of the variation at the cytomorphological level of reactive lymphocytes with respect to normal lymphocytes expressed numerically was obtained. Consequently, a database was formed to numerically compare the variation of each geometric descriptor between a reactive lymphocyte and a normal one, thus forming a statistical table of scientific interest that demonstrated any variation in numerical levels. Among the results, a demonstration of variation was obtained in the cytomorphological level of reactive lymphocytes with respect to normal lymphocytes expressed numerically.

**Key words:** lymphocyte, reactive lymphocyte, variation, cell descriptors

## I.INTRODUCCIÓN

Esta investigación está enfocada en la observación, caracterización y demostración numérica que tiene un linfocito reactivo con respecto a uno normal a nivel celular. En el hemograma, en el recuento de células sanguíneas encontramos diversas células, entre ellas al linfocito, que presenta ciertas características citomorfológicas propias de la célula, así mismo hay casos donde encontramos linfocitos reactivos que gráficamente presentan variaciones a nivel celular, a nivel nuclear, a nivel citoplasmático, y más descriptores agrupados en este trabajo como descriptores geométricos. Con la ayuda de un sistema digital de hematología (Vision Hema) se puede obtener los valores numéricos de dichos descriptores, cabe mencionar que el software ya tiene el algoritmo instalado y patentado en su sistema para la obtención del valor numérico en cada descriptor geométrico, en este caso se han analizado 17 descriptores geométricos y dentro de ellos 2 colorimétricos, tanto para linfocitos normales y linfocitos reactivos que fueron tomados del recuento leucocitario de pacientes analizados en el área de hematología de un hospital general de Lima, el Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

Se generó una base de datos numéricos y luego se pasó a analizar uno por uno los descriptores geométricos teniendo como patrón a los linfocitos normales, además el software generó imágenes tanto de linfocitos normales como linfocitos reactivos, éstos últimos fueron validados por un profesional con experiencia en citomorfología en hematología para así comprobar que realmente sean reactivos (por su morfología y sus valores numéricos de cada descriptor) y posteriormente se pasó a responder nuestra pregunta general, si es que existe una variación numérica a nivel de las características de los descriptores geométricos entre linfocitos normales y reactivos.

Con el presente trabajo se busca incitar a la investigación de nuevos estudios abarcando más los cambios cito morfológicos de las demás células que encontramos en el recuento leucocitario de un hemograma, así como con células netamente encontradas en patologías.

## 1.1 Descripción y formulación del problema

El término de “linfocito reactivo” está siendo utilizado para denominar así a un linfocito con ciertas alteraciones a nivel de forma y color. Aún no hay una estandarización de los cambios citomorfológicos geométricos entre un linfocito reactivo y uno normal. Este denominado “linfocito reactivo” es un linfocito no neoplásico que se observa en la sangre periférica y parece ser una respuesta no específica al estrés de una variedad de estímulos, esto sugiere que los linfocitos reactivos juegan un papel importante en la respuesta inmune. La morfología de los linfocitos es compleja, y para clasificarlos aún no hay un término universal, se utiliza palabras como atípico, variante, reactivo, así mismo es importante tener la información clínica del paciente para conducir a una buena interpretación morfológica y en lo posible a un rápido diagnóstico de diversas condiciones. Un linfocito normal puede ser B o T, esto no se puede diferenciar morfológicamente, es una célula pequeña redonda ovalada de 7 a 15 micras, con alta relación núcleo – citoplasma, su cromatina es densa y gruesa, si presentan nucléolos, éstos son pequeños e inconspicuos, en algunos casos los linfocitos normales son de tamaño mediano debido a una mayor cantidad de citoplasma. Un linfocito reactivo presenta una variación en la relación núcleo – citoplasma, forma nuclear variable, los nucléolos pueden estar visibles, se encuentran con una profunda basofilia. A menudo se encuentran estas variaciones junto a alguna infección viral como mononucleosis infecciosa. (Van der Meer, et al , 2007)

Actualmente existen softwares que fotografían imágenes de células hematológicas de manera digital y se usan junto a sistemas de reconocimiento celular para la detección morfológica, sistemas como CellaVisión, Medical EasyCell, HemaCam, AMS (Advanced Measurement System) ubican y preclasifican las células nucleadas (predominantemente glóbulos blancos) en una base de datos de características de células conocidas utilizando medidas de tamaño, área, forma, densidad y color.



### ***1.1.1 Pregunta general***

- ¿Cuáles son las características de los descriptores geométricos y cómo varían en los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología?

### ***1.1.2 Preguntas específicas***

- ¿Cuáles son las características de los linfocitos reactivos y cómo varían con respecto a las características de los linfocitos normales?
- ¿Cuáles son las características de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos y cómo varían con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología?
- ¿Cuáles son las características de los descriptores geométricos colorimétricos de los linfocitos reactivos y cómo varían con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología?

## **1.2 Antecedentes**

Piugví (2019) en su tesis titulada “Caracterización morfológica de células linfoides, normales, reactivas, anormales y blásticas de sangre periférica mediante procesamiento digital de imágenes” tiene como objetivo principal obtener nuevas características cuantitativas mediante procesamiento digital de imágenes para la diferenciación de células, normales, reactivas y linfoides de sangre periférica, se incluyó la investigación de más de 200 pacientes y 16 grupos de células diferentes, se utilizó el software CellaVision DM96 junto al microscopio Olympus BX43, se adquirieron alrededor de 20000 imágenes digitales y un promedio de 2700 descriptores que incluyen descriptores geométricos, colorimétricos y de textura. Para el caso de los descriptores geométricos presentados, deriva todas las características a partir de tres regiones de interés: núcleo, citoplasma y célula. Piugví nos muestra otros tipos de descriptores como colorimétricos, granulorimétricos y de textura para que posteriormente utilizando éstos

mismos junto a los descriptores geométricos realice una comparativa entre células de diferentes patologías tales como linfocitos anormales de la leucemia linfática crónica, células de Sézary, los linfocitos vellosos y los linfocitos grandes granulares. Como conclusión nos muestra que sólo 20 descriptores de los 2700 presentados son viables para una diferenciación citomorfológica entre linfocitos normales y otros presentes en diferentes patologías.

Rarís (2017) en su trabajo de grado titulado “Análisis de imágenes digitales de células linfoides de sangre periférica a partir de microscopía óptica” menciona que la utilización de sistemas automatizados de morfología digital permite facilitar y agilizar el análisis de las muestras sanguíneas. Rarís toma como base el estudio realizado por Alferéz (2015) y usa el software Matlab para implementar un método de análisis de imagen de células de sangre periférica obtenidas a partir de un microscopio óptico manual, se buscó diferenciar linfocitos normales y células asociadas a diversos tipos de patologías hematológicas malignas para lo cual se realizó una serie de pasos de procesamiento de imagen digital y reconocimiento de patrones, el proceso comienza con la segmentación de las principales regiones celulares, a partir de éstas, se extraen una serie de descriptores que son utilizados para construir un clasificador que sea capaz de agruparlas por patologías. Entre los objetivos de esta investigación el principal se encuentra en el análisis de las imágenes de las células leucémicas de sangre periférica adquiridas por microscopía óptica dentro de un sistema automatizado que utiliza dicha segmentación para obtener características de las células y realizar una posterior clasificación en una variedad de grupos celulares que se corresponden con enfermedades hematológicas, como resultado de su investigación logró el reconocimiento automático y la clasificación de 11 tipos de células linfoides.

Alferéz (2015) en su tesis “Methodology for Automatic Classification of Atypical Lymphoid Cells from Peripheral Blood Cell Images” presenta un estudio cuyo objetivo fue desarrollar una metodología completa para reconocer automáticamente imágenes de linfocitos

normales y linfocitos reactivos, así como también varios tipos de células linfoides neoplásicas que circulan en la sangre periférica en algunas neoplasias de células B maduras utilizando el método de procesamiento digital de imágenes. Su primer análisis nos muestra algoritmos para explorar la clasificación automática de células linfoides anormales, analizó 340 imágenes digitales de células linfoides individuales de frotis de sangre periférica que previamente fueron procesados en el equipo Advia 2120 y teñidos automáticamente con la tinción May-Grünwald Giemsa, posteriormente fueron analizadas en el software CellaVision DM96, 150 células de leucemia linfocítica crónica (CLL), 100 células de leucemia de células pilosas (HCL) y 90 linfocitos normales (N), para segmentar el núcleo, el citoplasma y la región de las células periféricas, en total de estas regiones se extrajeron 44 características que fueron 10 de geometría, 30 de textura, 3 de intensidad de basofilia y 1 de perfil externo del citoplasma. Este primer enfoque fue capaz de demostrar la clasificación automática con alta precisión de tres tipos de células linfoides debido a que fueron agrupadas bajo ciertos parámetros como forma, color y textura.

En otro estudio presentado por Alférez (2015) en “Methodology for Automatic Classification of Atypical Lymphoid Cells from Peripheral Blood Cell Images, profundizó más en el desarrollo de un sistema capaz de la discriminación exitosa de un buen número de imágenes de células linfoides atípicas para propósitos prácticos de diagnóstico, este segundo estudio tiene dos etapas de desarrollo. En la primera etapa se utilizó un conjunto de 3617 imágenes de células linfoides de 70 pacientes, en la segunda se utilizaron 910 nuevas imágenes de 21 pacientes, éstas últimas fueron previamente evaluadas por un especialista, para la evaluación del sistema. De las 3617 imágenes de células linfoides, 320 fueron de linfocitos normales (N), 408 fueron de linfocitos reactivos (RL), 529 fueron de leucemia de células pilosas (HCL), 732 fueron de linfoma de células de manto (MCL), 551 fueron de linfoma folicular (FL) y 1077 de leucemia linfocítica aguda (CLL), este último grupo se dividió en 863

imágenes de linfocitos típicos con cromatina densa y 214 imágenes de B- prolinfocitos (BPL). Todas estas imágenes pasaron por una serie de procesos de segmentación y evaluación para su posterior clasificación bajo criterios tales como parámetros geométricos (área celular, tamaño y forma celular, perímetro celular, relación núcleo - citoplasma), textura y color. Así se formó una base de datos de sistema de clasificación para el futuro reconocimiento automático de los linfocitos que sirvió como patrón para la posterior validación.

Alfárez (2015) en la segunda etapa tuvo como objetivo la validación del sistema mediante pruebas en las que se clasificaron las imágenes celulares de pacientes individuales con fines de diagnóstico se utilizaron un total de 910 imágenes de 21 pacientes, estas imágenes fueron previamente evaluadas por un especialista, de las 910, 69 fueron de linfocitos normales (N), 175 de linfocitos reactivos (RL), 84 fueron de leucemia de células pilosas (HCL), 93 fueron de linfoma de células de manto (MCL), 236 fueron de leucemia linfocítica aguda (CLL), 136 fueron de linfoma folicular (FL) y 117 fueron de B – prolinfocitos (BPL). Estas imágenes se usaron para evaluar la efectividad del sistema de reconocimiento automático de linfocitos previamente preparado en la primera etapa. Como resultado de esta validación, el sistema pudo reconocer con éxito la mayoría de células correspondientes al diagnóstico real, la precisión de la clasificación celular de todo el proceso de validación fue de un 85.2%. Este mecanismo fue capaz de lograr una alta precisión en el reconocimiento automático de 7 tipos diferentes de células linfoides.

Hamid et al en el año 2007 presentaron un informe titulado “Quantitation of cytological parameters of malignant lymphocytes using computerized image analysis” para la revista “International Journal of Laboratory Hematology”, que tiene como objetivo demostrar la variación en morfología de los linfocitos, se seleccionaron las células encontradas en leucemia linfocítica crónica (CLL), linfoma de células de manto (MCL) y leucemia prolinfocítica de células B (B-PLL). Los frotis sanguíneos se realizaron de muestras de pacientes diagnosticados

con estas patologías luego de una rigurosa evaluación con marcadores tumorales. Posteriormente fueron coloreados con la tinción May Grunwald Giemsa. Las imágenes celulares se procesaron utilizando un microscopio Leica DM 4500 B (Leica N Plan 100 X 1.25, Leica, Wetzlar, Alemania), y fueron capturadas por una cámara Olympus DP 70 en el microscopio. Se seleccionaron al menos 100 células y se procesaron en un software de análisis de imagen (Visiopharm Integrator System, VIS, Copenhagen, Denmark), este sistema reconoció a los componentes celulares por su variación e intensidad en el color, las medidas cuantitativas de áreas y diámetro celular y citoplasmático, así como los parámetros de relación núcleo – citoplasma y núcleo - célula fueron calculados por este software. Esta investigación demostró los valores distintivos en valores numéricos de los tres tipos diferentes de células correspondientes a características morfológicas.

### **1.3 Objetivos**

#### ***1.3.1 Objetivo general.***

- Obtener las características de los descriptores geométricos en linfocitos reactivos y observar la variación con respecto a los linfocitos normales usando un sistema de hematología digital

#### ***1.3.2 Objetivos específicos.***

- Obtener las características de los linfocitos reactivos y observar su variación con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología
- Obtener las características de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos y observar su variación con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología.
- Obtener las características de los descriptores geométricos colorimétricos de los linfocitos reactivos y observar su variación con respecto a los linfocitos normales usando un sistema digital de hematología.

## **1.4 Justificación**

Actualmente los estudios que muestran las variaciones morfológicas de tipo matemático a nivel celular son escasos, así como los estudios que muestran y comparan a nivel numérico la morfología evidente entre una célula normal y una célula patológica. Basándonos en que hay una minoría de estudios presentados así en el campo de la hematología celular, la presente investigación pretende ser de gran utilidad y aporte en el estudio de células hematológicas, presentando a los descriptores geométricos como una herramienta en la clasificación de células normales y patológicas. Así mismo pretende ampliar los conocimientos que se tienen con respecto a los descriptores geométricos y otros descriptores utilizados en estudios similares.

La presente investigación pretende desarrollar un modelo de clasificación de linfocitos reactivos y linfocitos normales tomando como base a los descriptores geométricos y colorimétricos y sus características, el cual beneficiará a los profesionales dedicados al estudio de la hematología celular e incentivará al desarrollo de trabajos posteriores ampliando el campo de estudio.

El presente trabajo busca establecer parámetros adecuados para una correcta clasificación entre los linfocitos normales y reactivos utilizando el software VisionHema, así como otros softwares para su futura implementación como herramienta de trabajo en los laboratorios de hematología celular.

## **1.5 Hipótesis**

Las caracterizaciones de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos presentan diferencias con respecto a los linfocitos normales, la evidente diferenciación citomorfológica de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales puede ser demostrada de manera numérica.

## II.MARCO TEÓRICO

### 2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1 *Microscopía digital*

Es un diseño integrado que combina un microscopio óptico tradicional, equipo multimedia y tecnología de procesamiento digital. Un sistema de microscopía digital generalmente está conformado por tres componentes: un módulo de microscopía óptica, módulo de adquisición de datos, de procesamientos de imágenes digitales y un módulo de control de software. Entre estos módulos, el módulo óptico realiza la función de la imagen microscópica; el módulo de adquisición de datos registra las imágenes producidas por los dispositivos de video digital y luego transfiere estas imágenes digitales a los dispositivos de almacenamiento de la computadora a través de una interfaz gráfica; y el módulo de control de software, el núcleo de todo el sistema, controla la captura, el procesamiento y la medición de la imagen en tiempo real para mejorar de manera óptima la calidad de la imagen. Las imágenes digitales se pueden monitorear en tiempo real usando un televisor en color o monitores de computadora. Después de usar una variedad de métodos de procesamiento de imágenes digitales, los sistemas de imágenes microscópicas digitales con mayor sensibilidad pueden capturar y mostrar los detalles de la imagen. Por lo tanto, la tecnología de imágenes microscópicas digitales es una extensión de la microscopía convencional. Se integra a través de la microscopía, la adquisición de imágenes y la tecnología de procesamiento y control informático para administrar y controlar todo el proceso de imágenes, incluida la adquisición de imágenes, el muestreo, el procesamiento y el almacenamiento de datos. Entre estos, la adquisición de tecnología y la tecnología de procesamiento de imágenes es el núcleo de la tecnología de imagen digital microscópica. (Xiaodong, Bin, y Hong, 2011)

### ***2.1.2 Hematología digital.***

Es el uso de diapositivas virtuales de imágenes que reproducen lo que está el frotis de sangre periférica, esta diapositiva digital puede consistir en un pequeño número de campos de alta potencia seleccionados para mostrar características importantes en una sola imagen que se puede ver a través de una gama de sistemas de visualización de software no especializados. El software de hematología digital está conectada a una base de datos de internet. (Hutchinson et al., 2005)

### ***2.1.3 Citomorfología digital.***

El análisis morfológico de las células sanguíneas es invaluable para el manejo del paciente por parte del personal médico. El gold estándar del análisis morfológico de células sanguíneas ha sido hasta ahora usando un microscopio óptico. Sin embargo, la evaluación manual del frotis sanguíneo está sujeta a la interpretación individual de las imágenes, lo que resulta en una intervariabilidad entre el observador y lo observado. La correcta interpretación citomorfológica requiere capacitación continua del personal del laboratorio, por lo tanto, la evaluación morfológica automatizada digital de células sanguíneas se considera un desarrollo de gran valor. El uso del microscopio digital nos ofrece varias ventajas, entre ellas, asegura la presencia constante de un sistema experto morfológico en el laboratorio de rutina. En segundo lugar, el sistema almacena una imagen de cada célula analizada, lo que ofrece la posibilidad de volver a evaluar los tipos de células con colegas y otros profesionales en patología, ya sea directamente o mediante el uso de telehematología. Finalmente, el sistema nos permite archivar digitalmente un frotis de sangre. y muestras de fluidos corporales por tiempo indefinido. Se ha demostrado que un sistema de microscopía digital, que utiliza varios algoritmos matemáticos avanzados, es capaz de corregir la clasificación de los leucocitos en muestras de sangre periférica y líquido corporal en relación con la evaluación microscópica manual de las cinco categorías principales de células de sangre periférica. (Jurgen A et al., 2015)



#### **2.1.4 Imagen digital.**

Una imagen se define como una función bidimensional,  $f(x, y)$ , donde  $x$  e  $y$  son coordenadas espaciales del plano. Además, la amplitud de  $f$  para cualquier par de coordenadas ' $(x, y)$ ', se llama intensidad (color) o nivel de gris de una imagen en ese punto. Cuando los valores de intensidad de ' $f$ ' así como ' $x$ ' e ' $y$ ', son valores finitos y discretos se habla de imagen digital. Así, una imagen digital está compuesta por un número finito de elementos, donde cada uno de estos elementos se llama píxel. Dicho de otro modo, una imagen digital puede representarse como una matriz donde los índices de las filas y columnas (' $x$ ' e ' $y$ ') determinan un punto concreto de la imagen y, el valor de ese punto (' $f(x, y)$ ') representa su nivel de gris o su color. (Gonzalez y Woods, 2008)

Por otro lado, un píxel indica la ubicación ' $(x, y)$ ' contando desde el origen de la imagen. La palabra píxel es una abreviatura de elemento de imagen, representando este concepto el elemento más pequeño constituyente de una imagen digital. Además, contiene un valor numérico que es la unidad básica de información dentro de la imagen. (Solomon y Breckon, 2011)

#### **2.1.5 Procesamiento digital de imágenes.**

El procesamiento digital de imágenes consiste en procesar una imagen digital por medio de un ordenador, el interés en los métodos de procesamiento de imagen digital se deriva de dos áreas de aplicación principales:

- La mejora de la información gráfica para la interpretación humana.
- El procesamiento de datos de la imagen para almacenamiento, transmisión y representación por la máquina. En este caso la información es muy distinta a los rasgos empleados por las personas para interpretar una imagen.

Otro aspecto fundamental del procesamiento de imágenes y que demuestra el amplio y variado campo de aplicaciones que abarca, es la capacidad de las máquinas para trabajar con

imágenes generadas por fuentes que los seres humanos no asocian con imágenes tales como, ultrasonidos o microscopia electrónica. Este hecho es debido a que las máquinas de imágenes cubren casi todo el espectro electromagnético (desde ondas gamma a ondas de radio) a diferencia de los seres humanos que se limitan a la banda visual del espectro electromagnético. (Gonzalez y Woods, 2008)

### **2.1.6 Descriptores geométricos.**

Este tipo de descriptores miden características morfológicas básicas relacionadas con el tamaño y la forma de las células. Desde un punto de vista geométrico existen dos tipos de región de interés principales: la célula y el núcleo. Para cada una de estas regiones se extraen descriptores. Además, se extraen también dos descriptores que aportan información sobre la relación entre regiones de interés. En este caso usamos estos descriptores para ver la variación morfológica entre un linfocito reactivo y un linfocito normal. (Rarís, 2017)

**2.1.6.1 Área celular.** Para la extracción del área se cuenta el número de píxeles de la región del linfocito, se expresa en  $\mu\text{m}^2$ . Se define con la siguiente fórmula: (Rarís, 2017)

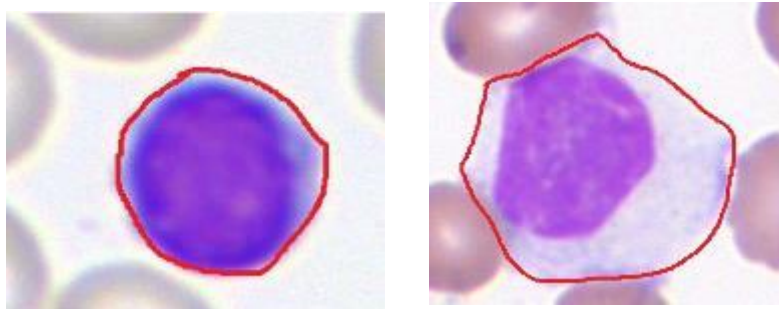
$$\sum_{i=1}^n \frac{n(n+1)}{2}$$

Donde  $n$  es el número de píxeles

Se pasó a realizar de manera didáctica el siguiente diagrama para una mejor demostración del área celular y de los otros descriptores geométricos respectivamente:

### Figura 1

*Diagrama del área celular*



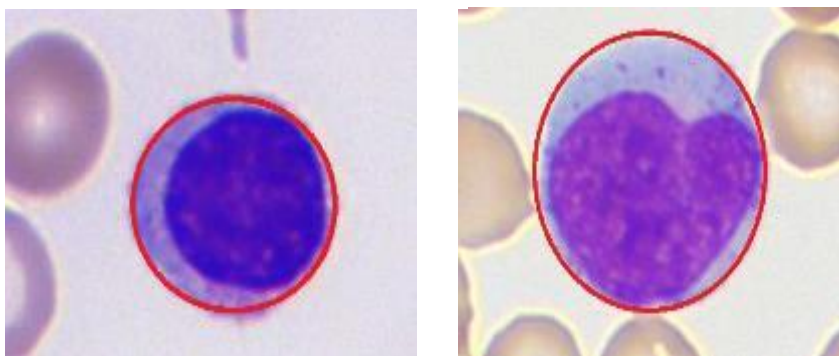
*Nota.* Se observa en la parte izquierda a un linfocito normal, y en la parte derecha a un linfocito reactivo. La línea de color rojo encierra a la célula, y el área celular está delimitada por todo lo que encierra la línea roja. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.2 Diámetro promedio.** Se calcula como el diámetro equivalente de un círculo con la misma área que el linfocito que queremos estudiar. Se calcula con la siguiente fórmula: (Rarís, 2017)

$$\text{Diámetro promedio} = \sqrt{\frac{4\text{Área}}{\pi}}$$

### Figura 2

*Diagrama del diámetro promedio*



*Nota.* Se observa en la parte izquierda a un linfocito normal, y en la parte derecha a un linfocito reactivo. El círculo de color rojo encierra a la célula, y el diámetro promedio está delimitado por todo lo que encierra el círculo. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.3 Factor forma.** El factor de forma es un parámetro adimensional y es calculado de la siguiente manera: (Saraswat y Arya, 2014 )

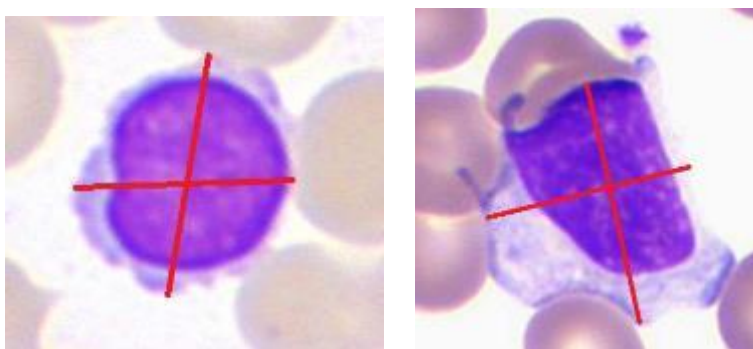
$$\text{Factor forma} = \frac{4\pi\text{Área}}{\text{perímetro}^2}$$

**2.1.6.4 Excentricidad.** La relación entre la longitud de los ejes mayor y menor es conocida como excentricidad y está dada por la siguiente ecuación: (Saraswat y Arya, 2014 )

$$\text{Excentricidad} = \frac{\text{Longitud del eje mayor}}{\text{longitud del eje menor}}$$

**Figura 3**

*Diagrama de la excentricidad*



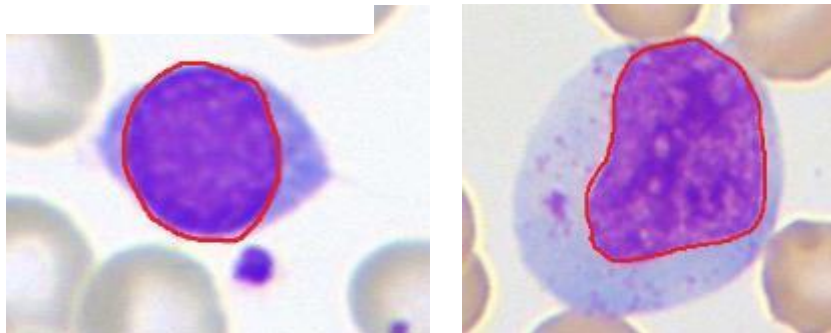
*Nota.* Se observa en la parte izquierda a un linfocito normal, y en la parte derecha a un linfocito reactivo. Las líneas rojas delimitan al eje mayor y el eje menor en cada célula.

**Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.5 Área del núcleo.** Medida como la cantidad de píxeles del área de la sección transversal del núcleo, se expresa en  $\mu\text{m}^2$  (Rarís, 2017)

**Figura 4**

*Diagrama del Área del núcleo*



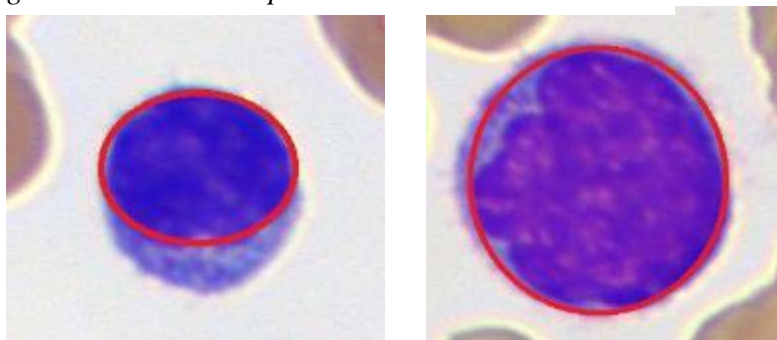
*Nota.* Se observa en la parte izquierda a un linfocito normal, y en la parte derecha a un linfocito reactivo. Las líneas rojas bordean el núcleo de cada uno que delimitan al área del núcleo.

**Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.6 Diámetro promedio del núcleo.** Se calcula como el diámetro equivalente de un círculo con la misma área que el núcleo del linfocito que queremos estudiar. (Rarís, 2017)

**Figura 5**

*Diagrama del diámetro promedio del núcleo*



*Nota.* Se observa en la parte izquierda a un linfocito normal, y en la parte derecha a un linfocito reactivo. El círculo rojo bordea al núcleo de cada uno, este círculo delimita el diámetro promedio del núcleo. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.7 Conteo de segmentos del núcleo.** Este parámetro se basa en la discriminación de la imagen que separa su estructura de las conexiones con otros elementos estructurales en el fondo, esto es denominado segmentación. En el caso del núcleo se segmentan áreas como la cromatina o heterocromatina, por ejemplo. El método que más ha ganado notoriedad es el método de segmentación conocido como “modelos de contorno activo” que son curvas que se deforman entre sí para deformar una imagen, estas curvas pueden ser alteradas por fuerzas internas o externas de la misma imagen que se desea segmentar. Hay dos tipos generales de modelos de contorno activo: el paramétrico y el geométrico, éste último ha sido propuesto ya que el paramétrico no puede resolver los cambios topológicos en la segmentación de imágenes. Para esta investigación la segmentación se realiza en sub-imágenes, no hay cambios topológicos ya que solo tenemos un objeto de interés en cada sub-imagen por lo tanto usaremos el modelo paramétrico de contornos activos o “serpiente”. En el modelo paramétrico una tradicional “serpiente” es una curva  $x(s)$  definida en la ecuación 1 que se mueve a través del dominio espacial de una imagen para minimizar la función de energía definida en la ecuación 2.

Ecuación 1:

$$x(s) = [x(s), y(s)], s \in [0,1]$$

Ecuación 2:

$$E = \int_0^1 \left[ \frac{1}{2} (\alpha |x'(s)|^2) + \beta |x''(s)|^2 + E_{ext}(x(s)) \right] ds$$

Donde  $\alpha$  y  $\beta$  son parámetros de ponderación que controlan la tensión y rigidez de la curva,  $x'(s)$  y  $x''(s)$  respectivamente denotan la primera y segunda derivada con respecto a  $s$ . La función de Energía externa ( $E_{ext}$ ) se deriva de la imagen para adquirir sus valores más pequeños de interés, por ejemplo, la frontera de la imagen a segmentar. Los gradientes de imagen se pueden usar como fuerzas externas e internas en los modelos de contorno activo paramétrico. El flujo de vector de gradiente (GVF) es un mejor modelo basado en gradientes

debido a su insensibilidad a las posiciones iniciales y la región de captura más grande. GVF apunta hacia el límite del objeto cuando se dirige cerrado al límite, pero varía suavemente sobre regiones de imagen homogéneas, extendiéndose hasta el borde de la imagen. El campo GVF se define como el vector  $v(x, y)$  en el campo vectorial mostrado en la ecuación 3 que minimiza la función de energía definida en la ecuación 4

Ecuación 3:

$$v(x, y) = (u(x, y), v(x, y))$$

Ecuación 4:

$$E = \iint [\mu(u_x^2 + u_y^2 + v_x^2 + v_y^2) + |\nabla f|^2 |v - \nabla f|^2] dx dy$$

Donde  $\mu$  es el parámetro de regularización y  $f(x, y)$  representa el mapa de borde procedente de la imagen  $I(x, y)$  definida en la ecuación 5. El campo  $\nabla f$  tiene vectores que apuntan hacia los bordes y tiene un rango de captura estrecho.

Ecuación 5:

$$f(x, y) = -E_{Ext}^i(x, y) \quad i = 1, 2, 3 \text{ o } 4$$

Donde  $E_{ext}$  es una energía externa diseñada para llevar un contorno activo hacia los bordes. Siguiendo con el algoritmo para la segmentación del núcleo utilizaremos la detección del borde Canny (Canny, 1986). Al usar este método los bordes que aparecen en la imagen no se perderán y no habrá respuestas a los no bordes. El procedimiento paso a paso del método se describe a continuación:

1. Alisar la imagen con el filtro Gaussiano para reducir los detalles no deseados con desviación estándar  $\sigma$

$$g(x, y) = G_\sigma(x, y) \times f(x, y)$$

Donde  $G_\sigma = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left[-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}\right]$

2. Cálculo de la gradiente  $g(x, y)$

$$M(x, y) = \sqrt{g_x^2(x, y) + g_y^2(x, y)}$$

Además  $\theta(x, y) = \tan^{-1} \left[ \frac{g_y(x, y)}{g_x(x, y)} \right]$

3. Límite M:

$$M_T(x, y) = \begin{cases} M(x, y) \\ 0 \end{cases} \text{ si } M(x, y) > T$$

Donde T es elegido de una forma que todo el elemento de la imagen se mantenga mientras la parte no deseada es suprimida. La última ecuación comprueba que el punto  $M(x, y)$  es mayor que las otras coordenadas a lo largo de la dirección  $\theta(x, y)$ , si es así  $M(x, y)$  se mantendrá igual, de lo contrario será cambiada a un punto cero. Este proceso se conoce como no supresión máxima, adicionalmente se agregan los siguientes procesos:

1. Los píxeles de la cresta de la curva son limitados usando dos umbrales  $T_1$  y  $T_2$  donde  $T_1 < T_2$ . Los píxeles de la cresta con valores entre  $T_1$  y  $T_2$  son considerados píxeles con borde débil. Los píxeles de la cresta con valores mayores que  $T_2$  son considerados píxeles con borde fuerte.
2. Los bordes de los segmentos en  $T_2$  están vinculados para formar bordes continuos, para hacerlo cada segmento en  $T_2$  es trazado para encontrar su propio fin, y los puntos contiguos en  $T_1$  son buscados para encontrar cualquier segmento del borde dentro de  $T_1$  el cuál puede recorrer el intervalo hasta llegar a otro borde del segmento dentro de  $T_2$ .

Mediante este método de detección de bordes, se obtienen claramente los límites de los objetos conectados centrales que representan el núcleo. El siguiente paso el GVF de las imágenes se calcula utilizando la ecuación 4 y se usó como fuerzas internas y externas para guiar las curvas a deformarse hasta el borde del límite del núcleo. Finalmente, para obtener el núcleo segmentado se debe seguir estos pasos:

1. Asumir  $f$  como el marcador y  $\sigma$  como la parte encubierta, el marcador debe ser un subconjunto de la parte encubierta.  $f \subseteq \sigma$



2. Elegimos la imagen del marcador  $f_m$  de la siguiente manera:

$$f_m(x, y) = \begin{cases} 1 - f(x, y) \\ 0 \end{cases} \text{ si } (x, y) \text{ está en el borde de } f$$

3. Luego definimos la parte encubierta  $\sigma$  de una manera que represente el relleno de las partes vacías en  $f$ .

$$\sigma = [R_{f^c}(f_m)]^c$$

Donde R es una reconstrucción de  $f^c$  desde  $f_m$

Con este algoritmo de segmentación Sadeghian et al. (2009) nos muestra uno de los métodos más conocidos para la segmentación del núcleo, el método de las curvas o de la “serpiente”.

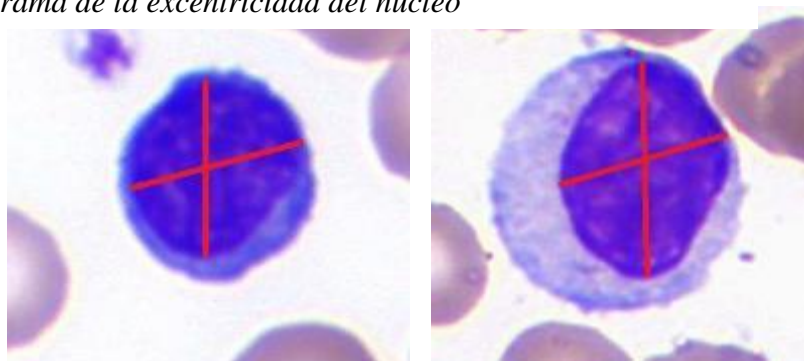
**2.1.6.8 Factor forma del núcleo.** Este parámetro define la textura del núcleo y está dada por la siguiente fórmula: (Saraswat y Arya, 2014 )

$$\text{Factor forma del núcleo} = \frac{4\pi(\text{Área del núcleo})}{(\text{perímetro del núcleo})^2}$$

**2.1.6.9 Excentricidad del núcleo.** La excentricidad del núcleo se calcula como la distancia entre el centro celular y el centro del núcleo. (Rarís, 2017)

### Figura 6

*Diagrama de la excentricidad del núcleo*

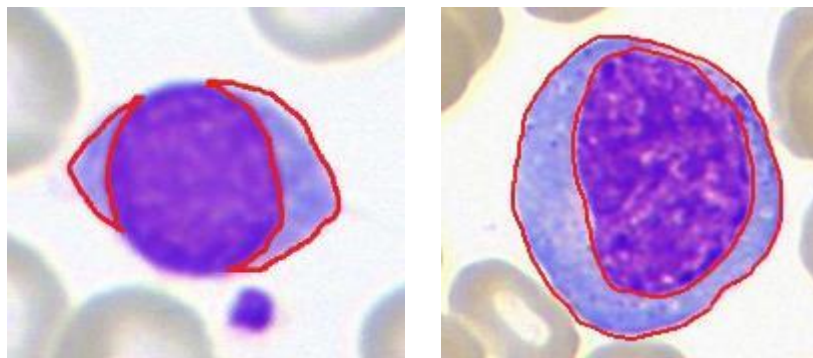


*Nota.* En la parte izquierda se muestra un linfocito normal, en la parte derecha a un linfocito reactivo. Las líneas rojas representan el eje mayor y menor del núcleo que delimitan la excentricidad. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.10 Área del citoplasma.** Medida como la cantidad de píxeles del área de la sección transversal del citoplasma, se expresa en  $\mu\text{m}^2$  (Rarís, 2017)

**Figura 7**

*Diagrama del Área del citoplasma*



*Nota.* En la parte izquierda se muestra un linfocito normal, en la parte derecha a un linfocito reactivo. Lo que está adentro de los bordes rojos delimitan al área del citoplasma para ambos casos. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.6.11 Relación área del núcleo – área celular.** Este parámetro es obtenido por la siguiente fórmula: (Rarís, 2017)

$$R_{AN-AC} = \text{Área de la célula} - \text{Área del citoplasma}$$

**2.1.6.12 Relación núcleo – citoplasma.** Este parámetro se obtiene de la relación entre las áreas de núcleo y el citoplasma utilizando la siguiente expresión: (Rarís, 2017)

$$R_{N-c} = \frac{\text{Área del núcleo}}{\text{Área de la célula} - \text{Área del núcleo}}$$

**2.1.6.13 Perímetro celular.** El perímetro de una región se define como la cantidad de píxeles de su contorno. (Prinyakupt, 2015). En este caso se trabajó el perímetro con la fórmula matemática y de manera manual con el radio de cada célula, que se halló mediante la fórmula del área.

$$\text{Perímetro} = 2\pi R$$

Donde R es el radio de la célula que se estudia.

### **2.1.7 Descriptores geométricos colorimétricos.**

El microscopio proporciona imágenes con color que son producto de tinciones especialmente creadas para resaltarla. El sistema visual humano es capaz de diferenciar entre muchos matices e intensidades de color, mientras que es poco hábil para reconocer cambios sutiles en escenas que contienen grises. Por otro lado, en el procesamiento digital de imágenes el análisis del color genera descriptores muy útiles para el reconocimiento de objetos. El espectro visible se divide en seis regiones de color: violeta, azul, verde, amarillo, naranja y rojo, correspondientes a longitudes de onda entre 400 y 700 nanómetros (nm). Los colores que percibe el humano en un objeto vienen determinados por la naturaleza de la luz reflejada por el objeto. Un cuerpo que se ve blanco refleja la luz de forma equilibrada en todas las zonas del espectro visible. Un objeto que se ve rojo refleja la luz principalmente con longitudes de onda por encima de los 700 nm y absorbe la mayor parte de la energía para a las otras. El espectro visible es continuo, por lo que no hay una transición clara entre colores. Por ejemplo, un objeto que refleja luz en un intervalo aproximado entre 600 y 650 nm se ve de un color amarillo, pero es difícil matizarlo. Hay tres colores que se denominan primarios: el azul, el verde y el rojo. Con efecto de estandarización, la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE) en 1931 fijó las siguientes longitudes de onda para los colores primarios: 435,8 nm (azul), 546,1 nm (verde) y 700 nm (rojo). A menudo se dice que una combinación apropiada de estos tres colores puede producir cualquier color del espectro visible y una mezcla de los tres produce color blanco.

Combinando dos colores primarios cualesquiera se obtienen los llamados colores secundarios: magenta (azul y rojo), cian (azul y verde) y amarillo (verde y rojo). Se denomina color complementario u opuesto a aquel color primario que no interviene en la definición de un color secundario. Así, el verde es complementario del magenta, el color rojo lo es del cian y el azul es complementario del amarillo. Un color secundario mezclado con su complementario produce también color blanco. En este sentido, los colores secundarios actúan como filtros de los primarios correspondientes. Así, un cuerpo de color magenta absorbe, y por tanto no transmite, el color verde. Un cuerpo de color cian filtra el rojo y un cuerpo amarillo filtra el azul. De este modo, una combinación de los colores secundarios en las proporciones adecuadas produce color negro como resultado de una absorción total de la luz blanca. De acuerdo con esta propiedad, se dice que los colores secundarios son sustractivos. Por el contrario, los colores primarios son aditivos. Los colores secundarios son particularmente importantes para los pigmentos y las tinciones. Se trata de materiales con la propiedad de absorber de forma selectiva una cierta longitud de onda (color) y transmitir las demás. es la base de la creación de pinturas, colorantes y tintas para impresión, añadiendo pigmentos hasta alcanzar la coloración deseada. Los colores secundarios son particularmente importantes, ya que son la base de las tinciones utilizadas en la microscopía óptica para mejorar el contraste en las imágenes y resaltar partes de las células. Lógicamente la tinción es relevante tanto para la observación visual de la morfología al microscopio como para el procesamiento y el reconocimiento automático. (Puigví, 2019)

Es importante tener conocimiento de las características que permiten diferenciar los colores:

**2.1.7.1 Brillo.** Es la intensidad de la luz transmitida por el objeto. En el caso de imágenes en escala de grises es la única característica utilizada. De forma análoga a este caso, en presencia de color, una mayor intensidad corresponde a color más claro (más cercano al blanco), mientras que menos intensidad indica color más oscuro (proximidad al negro). (Puigví, 2019)

**A. Brillo del núcleo.** Este parámetro es medido por la intensidad de los píxeles que conforman el núcleo, a lo largo de los estudios anteriores se han presentado varios límites para hallar la cantidad de píxeles para determinar el brillo de la célula y el núcleo en sí, este algoritmo se mejoró y complementó con la adición del valor de la fuerza o peso que se estableció a la distancia del centro del brillo (Lim et al., 2013).

El algoritmo a utilizar para obtener este parámetro es el siguiente:

1. Encontrar el centroide del brillo de la imagen usando las coordenadas dimensionales  $(x, y)$
2. Encontrar el factor fuerza entre el lado más brillante y el lado más oscuro de la imagen y multiplicar el valor de la fuerza para la compensación del brillo.

$$IMG_{normal}(x, y) = IMG_{original}(x, y) + Fuerza(x, y)$$

$$Fuerza(x, y) = \frac{Gap}{HD} \times Distancia(x, y)$$

$$Distancia(x, y) = \sqrt{(x - cx)^2 + (y - yc)^2}$$

Donde

$IMG_{normal}(x, y)$  es la imagen con el brillo compensado

$IMG_{original}(x, y)$  es la imagen original

$Gap$  es el valor absoluto entre el lado más oscuro y el más brillante

$HD$  es la mitad de la longitud diagonal

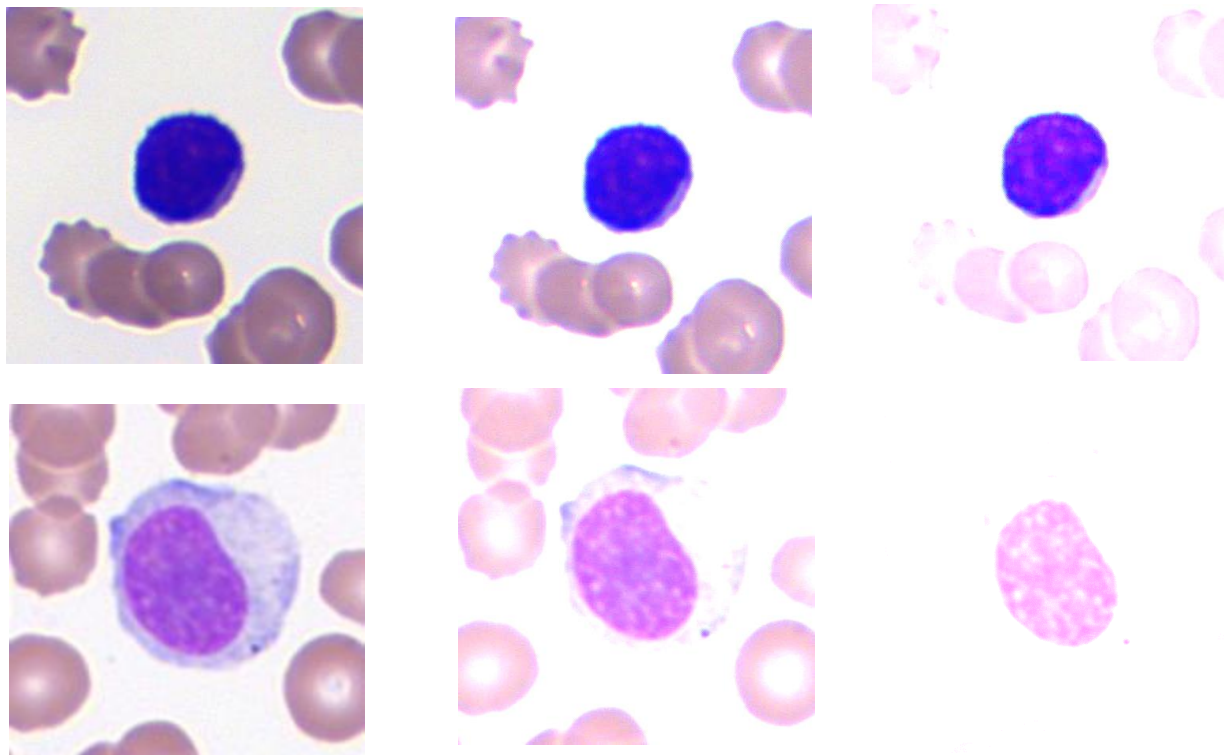
$Fuerza(x, y)$  es el factor fuerza entre el lado más oscuro y el más brillante

$(cx, cy)$  es el centroide del brillo total de la imagen

A continuación se muestran dos imágenes, tanto de un linfocito normal como un linfocito reactivo, con diferentes grados de brillo.

### Figura 8

#### *Diagrama del brillo del núcleo*



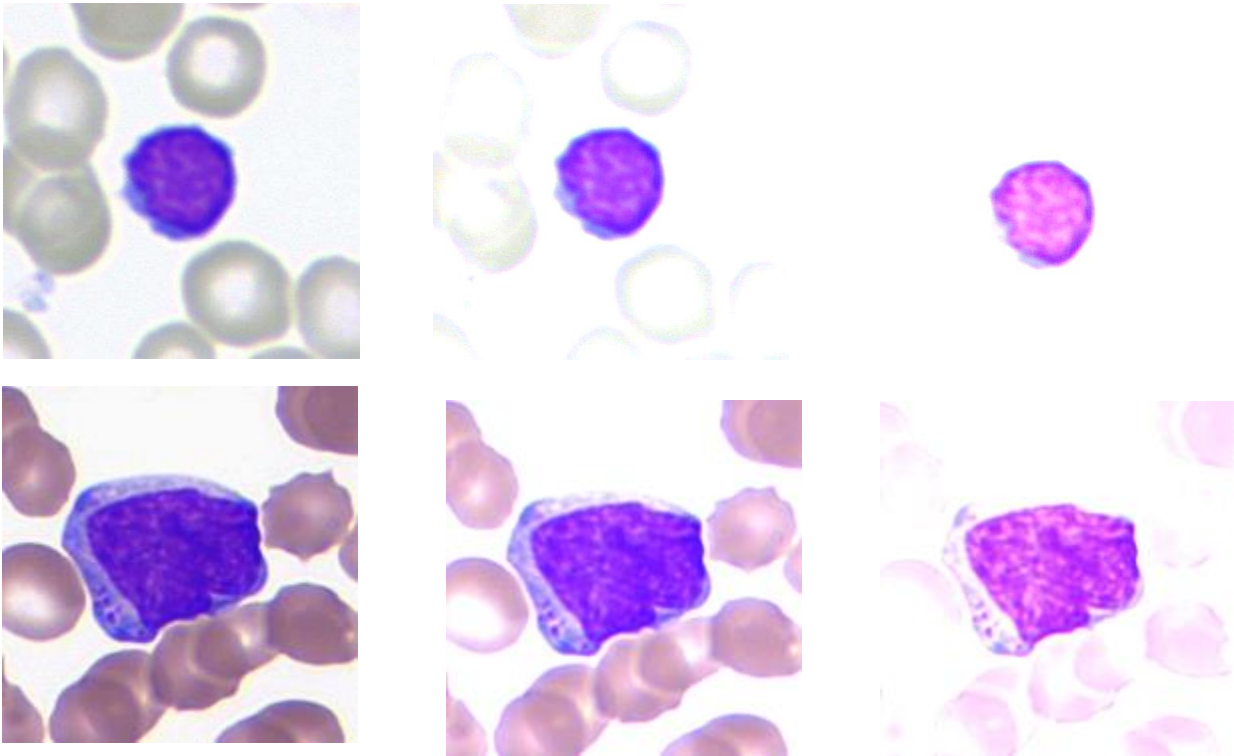
*Nota.* En la fila de arriba se muestran tres imágenes con diferentes tonos de brillo, estas tres imágenes corresponden a un linfocito normal, mientras que en la fila de abajo se observa a un linfocito reactivo, al igual tres imágenes con diferente tono de brillo. En conjunto se demuestra la diferencia del brillo del núcleo de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**A1. Brillo del citoplasma.** Parámetro obtenido por la intensidad de los píxeles que conforman el citoplasma, el algoritmo es el mismo para hallar el brillo del núcleo. (Lim et al., 2013)

A continuación se muestran dos imágenes, tanto de un linfocito normal como un linfocito reactivo, con diferentes grados de brillo en el citoplasma.

## Figura 9

### *Diagrama del brillo del citoplasma*



*Nota.* En la fila de arriba se muestran tres imágenes con diferentes grados de contraste y brillo, estas tres imágenes corresponden a un linfocito normal, mientras que en la fila de abajo se observa a un linfocito reactivo, al igual tres imágenes con diferentes grados de contraste y de brillo. En conjunto se demuestra la diferencia del brillo del citoplasma de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

#### **2.1.7.2 Densidad**

**B. Densidad óptica del núcleo.** También conocido como absorbanza, ésta es una propiedad espectral de la imagen. Este parámetro mide la integración de los valores de nivel de gris de la imagen del área de interés, en este caso es el núcleo. Se expresa con la siguiente fórmula: (Campos Vidal, 1997)

$$IOD = OD \times \text{Área}$$

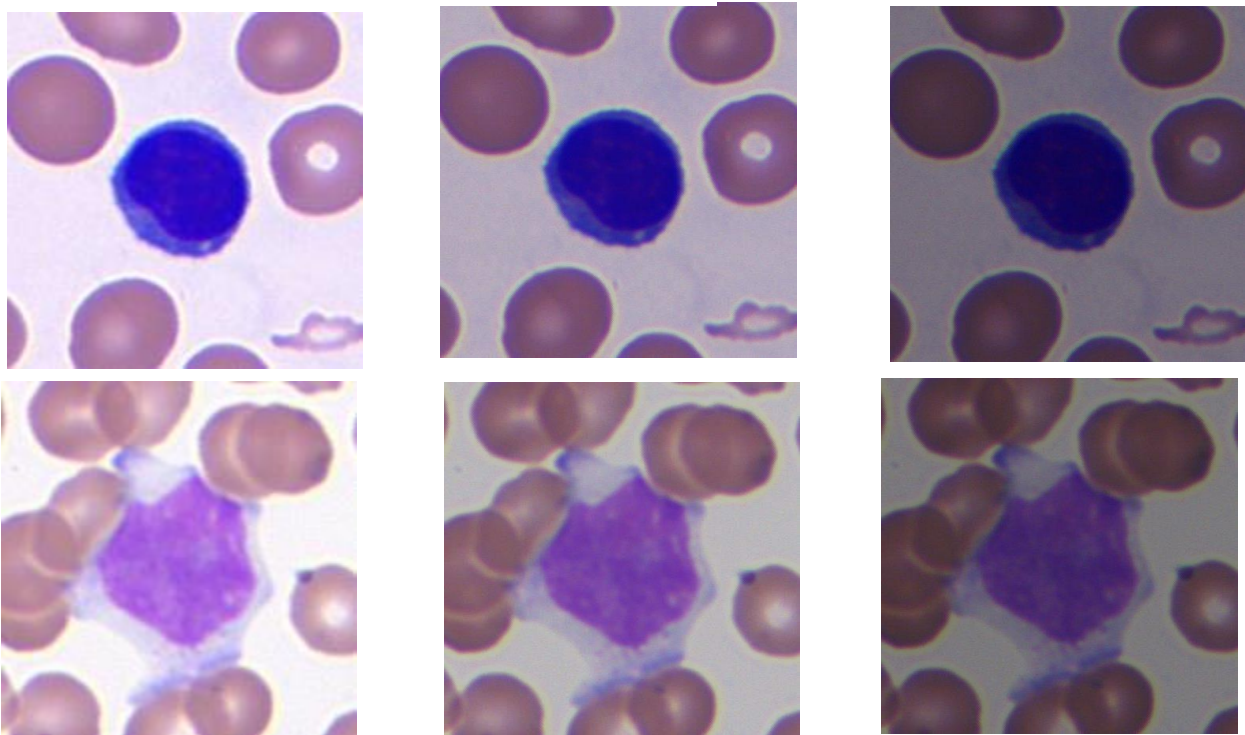
Donde

*IOD*: Densidad óptica integrada

A continuación, se muestran imágenes tanto de linfocitos normales y reactivos para ver la variación a nivel de densidad óptica.

### Figura 10

*Diagrama de la Densidad óptica del núcleo*



*Nota.* En la fila de arriba se muestran tres imágenes con diferentes tonos de contraste y brillo, estas tres imágenes corresponden a un linfocito normal, mientras que en la fila de abajo se observa a un linfocito reactivo, al igual tres imágenes con diferentes tonos de contraste y de brillo. En conjunto se demuestra la diferencia de la densidad óptica del núcleo de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

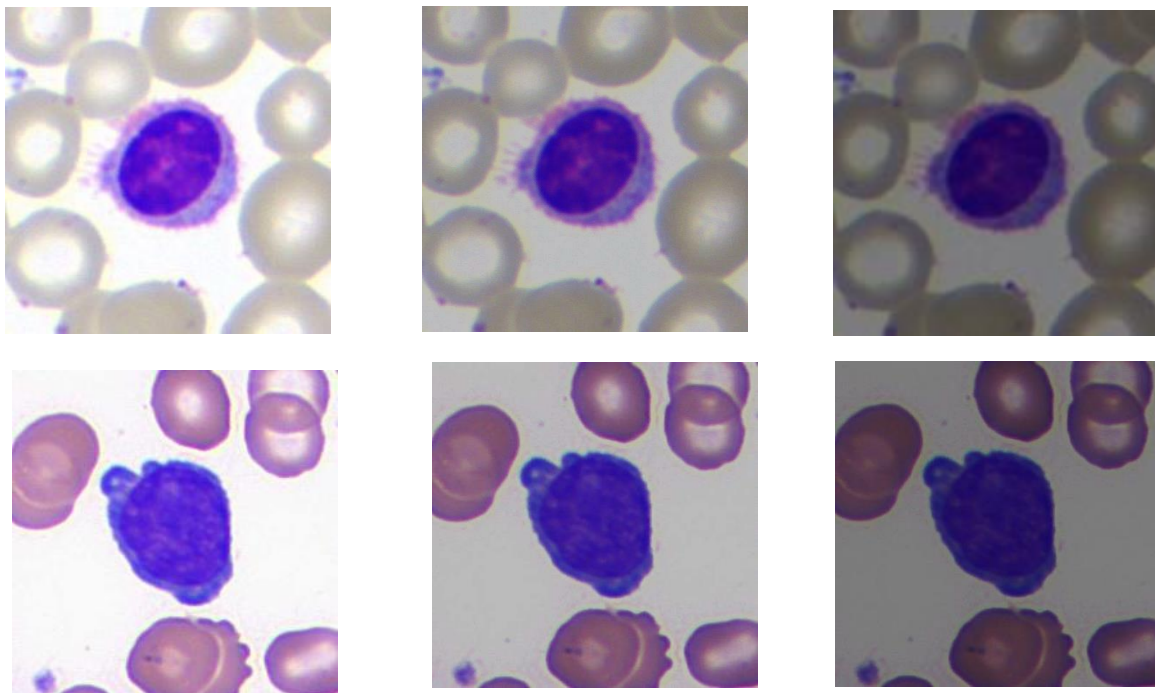


**BI. Densidad óptica del citoplasma.** Mide la integración de los valores de nivel de gris del área de interés, en este caso es el citoplasma, el algoritmo es el mismo que se usa para hallar la densidad óptica del núcleo. (Campos Vidal, 1997)

Se muestran imágenes tanto de linfocito normal como reactivo para notar la diferencia en la densidad óptica del citoplasma.

### Figura 11

*Diagrama de la Densidad óptica del citoplasma*



*Nota.* En la fila de arriba se muestran tres imágenes con diferentes grados de contraste y brillo, estas tres imágenes corresponden a un linfocito normal, mientras que en la fila de abajo se observa a un linfocito reactivo, al igual tres imágenes con diferentes grados de contraste y de brillo. En conjunto se demuestra la diferencia de la densidad óptica del citoplasma de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. **Fuente:** Imágenes del software Vision Hema.

**2.1.7.3 Matiz.** Representa el color dominante en sí mismo, tal como es percibido y descrito por un observador. (Puigví, 2019)

**2.1.7.4 Saturación.** Indica la pureza relativa de un color, o la cantidad de blanco que se mezcla con un color puro. Los colores puros del espectro están saturados completamente. El nivel de saturación es inversamente proporcional a la cantidad de blanco añadido. Un color saturado da la sensación de viveza, mientras que la falta de saturación puede dar la sensación de color apagado o sucio. El matiz y la saturación definen la llamada cromaticidad y son características que tienen un fondo más cualitativo. El brillo es una medida claramente cuantitativa, por eso suele llamarse también como el valor del color. (Puigví, 2019)

El histograma es una herramienta para describir cuantitativamente los píxeles de una imagen y es la base de cálculo de los descriptores de color, como se sabe una imagen digital está formada por un número concreto de píxeles y cada uno de ellos se caracteriza por el nivel de intensidad, el cual toma valores enteros en un determinado rango. Así mismo, el histograma se representa mediante un gráfico de dos ejes en los que el eje horizontal representa la intensidad de gris dentro de un rango de 0 (negro) a un valor máximo normalizado (blanco), dividido en un número discreto de intervalos. El eje vertical da el número de píxeles en la imagen con las intensidades correspondientes a cada intervalo. El histograma también se puede interpretar como una densidad de probabilidad de ocurrencia de los valores de intensidad si las frecuencias se dividen por el número de píxeles de la imagen. La suma de todos los valores de un histograma normalizado es igual a 1. (Puigví, 2019)

Teniendo en cuenta la definición de histograma y su utilidad en la determinación de valores cuantitativos, tenemos los siguientes descriptores colorimétricos:

### **2.1.8 Media ( $\mu$ )**

La media proporciona una medida de la intensidad media de la imagen ya que es la media de todos los valores de intensidad de los píxeles de la imagen o de una región de interés

en concreto (célula, núcleo o citoplasma) y se calcula a partir de la siguiente fórmula: (Puigví, 2019)

$$\mu = \sum_{i=0}^{L-1} i p(i)$$

Donde  $p(i) = H(i)/L$  e  $i = 0, 1, 2, \dots, L - 1$ ,  $H(i)$  es el número de píxeles en el eje Y, y  $L$  se puede interpretar como el número de contenedores de píxeles.

### 2.1.9 Desviación estándar (DE)

La desviación estándar es una medida que proporciona una comprensión de la propagación de intensidades a través de la imagen y al mismo tiempo es un indicador de contraste en la imagen. Se calcula con la siguiente fórmula: (Puigví, 2019)

$$DE = \sqrt{\sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^2 p(i)}$$

### 2.1.10 Asimetría (A)

La asimetría describe el grado de simetría de la distribución de intensidades de la imagen. Si la asimetría es negativa, las intensidades de los píxeles se extienden más a la izquierda de la media (intensidades bajas) que a la derecha (intensidades con brillo). Por otro lado, si la asimetría es positiva, las intensidades de los píxeles se encuentran más hacia la derecha. Ante una distribución simétrica, la asimetría es cero. (Puigví, 2019)

$$A = \sigma^{-3} \sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^3 p(i)$$

Donde  $\sigma$  es la desviación estándar.

### 2.1.11 Curtosis

La curtosis es una medida del grado de aplanamiento del histograma de intensidades. En una distribución normal, la curtosis toma un valor de cero. La fórmula de la curtosis se detalla a continuación: (Puigví, 2019)

$$Curtosis = \sigma^{-4} \sum_{i=0}^{L-1} (i - \mu)^4 p(i) - 3$$

### **2.1.12 Energía (E1)**

La energía es una medida que muestra cómo se distribuyen los valores de nivel gris dentro de la imagen. tiene una relación inversa con la entropía, en el que la energía de una imagen será la más alta si sólo tiene un valor de nivel gris. Cuantos más niveles de grises estén presentes en un objeto, menor será su energía. La energía del histograma da información de la uniformidad y se calcula mediante la siguiente fórmula: (Puigví, 2019)

$$E_1 = \sum_{i=0}^{L-1} [p(i)]^2$$

### **2.1.13 Entropía (H1)**

Proporciona una medida de la suavidad de una imagen en términos de nivel de gris. Cuanto más alta sea la entropía, más niveles de grises están presentes en la imagen. La entropía describe la variabilidad del histograma según la expresión:

$$H_1 = \sum_{i=0}^{L-1} p(i) \log_2 (p(i))$$

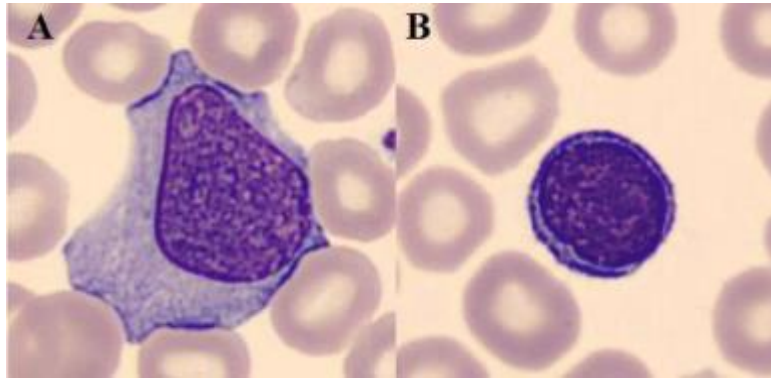
### **2.1.14 Descriptores de textura**

La textura de una imagen digital se define por la uniformidad, la densidad, el tono de sus píxeles y sus relaciones espaciales. Se observa en la figura la imagen A que corresponde a un linfocito reactivo, tanto la densidad de la cromatina del núcleo (laxa) así como la basofilia del citoplasma (coloración azulada difusa) son características de la célula que aportan información sobre la textura del núcleo y del citoplasma. En la imagen B se observa un linfocito

normal, el cual se caracteriza por una textura diferente al núcleo, la densidad de la cromatina del núcleo es madura, el citoplasma es menos basófilo. (Puigví, 2019)

### **Figura 12**

*Imágenes de Linfocito reactivo y Linfocito normal*



*Nota.* Imagen A nos muestra un linfocito reactivo, Imagen B nos muestra un infocito normal

**Fuente:** (Puigví, 2019)

#### **2.1.15 Descriptores granulométricos**

La granulometría calcula la distribución de tamaño de los píxeles oscuros y brillantes en la imagen. En una imagen en escala de grises, generalmente se consideran dos tipos de partículas, las brillantes y las que son más oscuras respecto al fondo, éstas pueden ser identificadas mediante operaciones de morfología matemáticas como la erosión, la dilatación, la apertura y el cierre. Estas operaciones consisten en procesar la imagen original con una imagen auxiliar de tamaño pequeño (elemento estructural), la cual se mueve sobre la imagen para extraer determinados patrones de interés localizados. Para hallar estos valores, la imagen original se tiene que trabajar en escala de grises. (Puigví, 2019).

Los descriptores granulométricos son encontrados numéricamente gracias a los parámetros calculados a partir de un histograma de una imagen digital en escala de grises, dentro de aquellos parámetros tenemos a mediana, desviación estándar, asimetría, curtosis, energía, entropía. (Puigví, 2019)

### ***2.1.16 Software Vision Hema***

VISION HEMA es un sistema automático diseñado para la automatización y estandarización del análisis de la interpretación morfológica del frotis sanguíneo. Este sistema escanea automáticamente una diapositiva microscópica en la sección de la monocapa celular a través de la trayectoria adaptativa, recolecta datos del análisis, clasifica los hematocitos y guarda los resultados en una base de datos. El objetivo de este software es automatizar y simplificar un complejo procedimiento de análisis del frotis de sangre, trabaja con un sistema unificado donde se da prioridad a la eficiencia y estandarización del flujo de trabajo y se busca obtener resultados cualitativos y cuantitativos usando el microscopio y cámara digital. VISION HEMA realiza un análisis automático del frotis sanguíneo que consiste en un análisis morfológico de eritrocitos, cálculo de Leucograma de 12 tipos: segmentados, neutrófilos en banda, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, células blasticas, pre mieloblastos, metamielocitos, linfocitos atípicos (reactivos), plasmocitos, así mismo analiza la morfología de las plaquetas. Así mismo puede ser programado para realizar otras tinciones diferentes a la de Wright / Giemsa. Este sistema automatizado crea automáticamente una galería de células sanguíneas, las selecciona por tipo y prepara diapositivas digitales, revisa y corrige las células sanguíneas de la galería, posee un filtro adicional para las formas atípicas y crea una base de

datos para los análisis de resultados, todos estos procesos facilitan el trabajo al asistente de laboratorio. (Vision Hema Manual de usuario 2014)

### **Figura 13**

#### *Software Vision Hema*



#### **2.1.17 Hemograma**

Es uno de los exámenes solicitado al laboratorio con mayor frecuencia, interpretado adecuadamente puede orientar la solicitud de exámenes complementarios agilizando el diagnóstico de diversas patologías. En los últimos tiempos los laboratorios han incorporado autoanalizadores hematológicos que basan su funcionamiento en métodos de alta precisión, entregando resultados de gran fiabilidad. La revisión del frotis de sangre al microscopio es cada vez menos frecuente, pero sigue siendo indispensable para detectar alteraciones morfológicas que los autoanalizadores no pueden detectar, por lo que actualmente la mayoría de los laboratorios han incorporado criterios de revisión del frotis sanguíneo al microscopio. Las células sanguíneas producidas en la médula ósea pasan a la circulación periférica para cumplir su función, la sangre periférica constituye el objeto del hemograma, análisis que reúne las

mediciones en valores absolutos y porcentuales y agrega el aspecto morfológico de las tres poblaciones celulares, leucocitos, eritrocitos y plaquetas. (Torrens, 2015)

### ***2.1.18 Fórmula diferencial leucocitaria***

En la sangre circulan cinco tipos de células que se originan de tres series hematopoyéticas a saber: de la serie granulocítica, los polimorfonucleares neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos y los polimorfonucleares basófilos, de la serie linfocítica, los linfocitos y de la serie monocítica, los monocitos. El profesional en laboratorio debe estar en condiciones de identificar tanto las formas normales como las formas inmaduras y las anomalías que puedan presentar estas células. (Campuzano, 2008)

**2.1.18.1 Recuento diferencial de leucocitos de forma manual.** Cuando el hemograma es manual se analizan en promedio 100 células, para tener un buen recuento diferencial de leucocitos por este método es necesario: hacer un buen extendido de sangre periférica, seguir los procedimientos y protocolos de cada laboratorio y que el personal esté debidamente capacitado para poder identificar todas las células normales y las anormales, que es lo más importante. (Campuzano, 2008)

**2.1.18.2 Recuento diferencial de leucocitos por métodos electrónicos.** Existen analizadores hematológicos como el XE – 2100 de Sysmex o el Sapphire de la línea Cell – Dyn de Abbot Diagnostics, estos equipos analizan más de 50000 células por estudio. Cuando el hemograma es electrónico, el recuento que hacen los equipos se logran mediante alta tecnología. Estos hemogramas tienen mayor sensibilidad y especificidad para detectar alteraciones a diferencia de los métodos manuales. (Campuzano, 2008)

### ***2.1.19 El linfocito***

Los linfocitos son glóbulos blancos de apariencia uniforme, pero varían en función e incluyen linfocito T, B y natural killer (NK). Los linfocitos son responsables de la producción de anticuerpos, la destrucción directa de células infectadas por virus y tumores y también de la



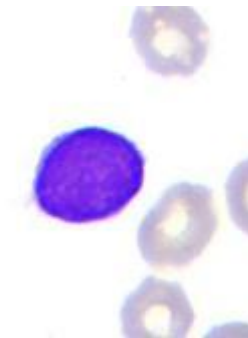
regulación de la respuesta inmune, éstos participan en la inmunidad innata y adaptativa. (La Rosa y Orange, 2008)

**2.1.19.1 Morfología del linfocito.** El linfocito tiene un tamaño promedio de 7 a 18 $\mu$ m, presenta un núcleo redondo u ovalado, ocasionalmente puede presentar nucléolos. Su cromatina varía de condensada con grumos a intensamente condensada borrosa. El citoplasma puede presentar vacuolas. Los gránulos pueden estar ausentes en el linfocito pequeño y puede haber escasos en linfocitos de mayor tamaño. Normalmente se encuentra en la sangre periférica en un porcentaje de 20 a 40. (Rodak y Carr, 2013) .

**2.1.19.2 Linfocito pequeño.** Tiene un tamaño de 7 a 10  $\mu$ m, tienen el núcleo del tamaño aproximado de un eritrocito y ocupa cerca del 90% del área celular. La cromatina se presenta intensamente condensada y en grumos y se tiñe de un color morado oscuro intenso. El núcleo se encuentra rodeado de una cantidad reducida de citoplasma de color azul cielo, se observan unos cuantos gránulos azurófilos. (Manascero, 2014)

#### **Figura 14**

*Linfocito normal pequeño*

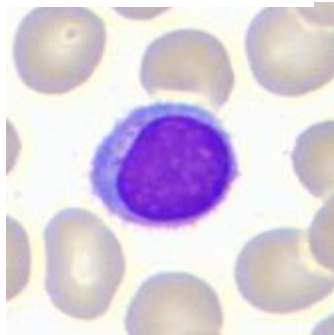


*Nota.* Imagen del software Vision Hema

**2.1.19.3 Linfocito mediano.** Estos linfocitos miden entre 10 y 12  $\mu\text{m}$  y pueden llegar hasta 14  $\mu\text{m}$ . Además del tamaño presentan diferencias con respecto al linfocito pequeño, ya que tienen más citoplasma y éste es más basofílico y con mayor número de gránulos azurófilos. El núcleo puede ser redondo, ovalado o indentado, usualmente excéntrico y la cromatina menos densa que en los linfocitos pequeños, no se observan nucléolos. (Campuzano, 2008)

### Figura 15

*Linfocito mediano*



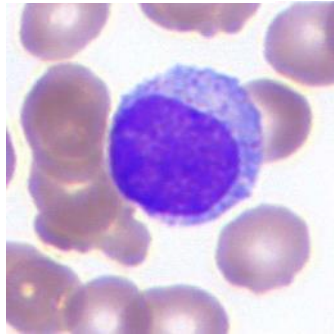
*Nota.* Imagen de Linfocito mediano del software Vision Hema

**2.1.19.4 Linfocito grande.** Estos linfocitos son heterogéneos y su tamaño varía de 11 a 16  $\mu\text{m}$  de diámetro, su cromatina nuclear es de un aspecto parecido a la de los linfocitos pequeños, su citoplasma es abundante presentando un color azul más claro con mayor basofilia periférica. En ocasiones estos linfocitos pueden presentar gránulos, que corresponden a un pequeño porcentaje de la población de linfocitos. Su aspecto es similar al linfocito grande con la diferencia que presentan gránulos azurófilos que se tiñen con la eosina: gránulos grandes y gruesos generalmente contables. En el adulto normal, aproximadamente el 3 % de los linfocitos, son linfocitos granulares grandes. Estas células son una población mixta consistente en células NK y algunas del subgrupo CD8 de las células T maduras. Sin embargo, la mayoría de los linfocitos T maduros muestran un patrón de tinción en un “punto” localizado para la fosfatasa acida, las esterasas no específicas y la N- acetil-B glucosaminidasa. Mientras que los

linfocitos B carecen de esterasa y fosfatasa acida y además a esto, muestran una tinción granular dispersa. (Manascero, 2014)

### **Figura 16**

#### *Linfocito grande*

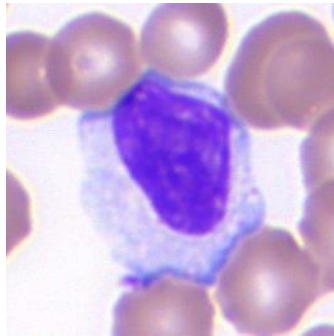


*Nota.* Imagen de Linfocito grande del software Vision Hema

#### **2.1.20. Linfocito Reactivo**

La característica distintiva clave de estos linfocitos es su amplia variedad en tamaño y forma celular, así como el tamaño, formas y patrones de cromatina nucleares. Estos linfocitos reaccionan a un estímulo inmunológico y con frecuencia aumentan cuando se presenta alguna enfermedad viral. El ejemplo clásico es la mononucleosis infecciosa (virus de Epstein – Barr), los linfocitos reactivos se pueden encontrar también en una variedad de infecciones virales, incluyendo citomegalovirus, adenovirus o infección aguda por VIH, también encontramos linfocitos reactivos, en infecciones por protozoos (como la toxoplasmosis), en algunas reacciones a medicamentos, enfermedades del tejido conectivo y luego de cuadros de estrés para el sistema inmunológico. Una variedad de formas reactivas de linfocitos ha sido descrita y a menudo se ven al mismo tiempo en el mismo frotis de sangre. Estos redondean a las células ovoides a irregulares varían de 10 a 25  $\mu\text{m}$  de tamaño con una relación N: C que varía de 3: 1 a 1: 2. El tipo más común de linfocito reactivo se asemeja a un linfocito de mayor tamaño y corresponde a una célula Downey tipo II. Estas células presentan núcleos redondos u ovalados, cromatina moderadamente condensada (que le da una apariencia machada) y nucléolos

ausentes o indistintos, estas células contienen abundante citoplasma azul grisáceo pálido. Los gránulos, si están presentes, suelen ser pequeños y pocos en número. Con frecuencia, estos linfocitos reactivos tienen un citoplasma ameboso que rodea parcialmente los glóbulos rojos adyacentes y tiene un margen enrollado de tinción más oscura, además pueden presentar basofilia que irradia desde el núcleo. Los inmunoblastos y los linfocitos reactivos de tipo inmunoblástico son células grandes (de 15 a 20  $\mu\text{m}$ ) con núcleos redondos a ovalados, tienen cromatina fina a moderadamente dispersa con abundante paracromatina y uno o más nucléolos prominentes. Estos pueden parecerse a células de linfoma o blastos, su citoplasma es moderadamente abundante y se tiñe profundamente basófilo, la relación N: C es alta (3: 1 a 2: 1), estos linfocitos reactivos corresponden a Células de Downey tipo III. Otro tipo de linfocito reactivo se conoce como célula Downey I, éstas células poseen cantidades escasas a moderadas de citoplasma basófilo, los núcleos a menudo aparecen sangrados, doblados o lobulados, la cromatina se condensa, en algunas pequeñas células de este tipo se pueden presentar vacuolas y además pueden aparecer gránulos. Los linfocitos plasmacitoides se asemejan a las células plasmáticas y son de tamaño intermedio (10 a 20  $\mu\text{m}$ ) y de forma redonda u oblonga, tienen núcleos redondos que se colocan en el centro o ligeramente excéntricos, la cromatina es de leve a moderadamente gruesa y forma pequeñas masas densas o una red de hebras parecidas a las de las células plasmáticas, los nucléolos generalmente no son visibles, pero algunas células pueden tener uno o dos pequeños nucléolos irregulares, el citoplasma es moderadamente abundante, homogéneo y de azul claro a azul pizarra intenso, y puede mostrar una zona clara perinuclear. En el estudio del frotis sanguíneo se observan linfocitos que se adosan al hematíe estos vendrían a ser los linfocitos B, mientras los que no se adosan, son basófilos y además presentan citoplasma amplio vendrían a ser los linfocitos T. (College of American Pathologists, 2019)

**Figura 17***Linfocito reactivo*

*Nota.* Imagen de Linfocito reactivo del software Vision Hema

**2.1.21 Importancia del reporte del linfocito reactivo**

Existen numerosas enfermedades de origen viral y muchas de ellas presentan un cuadro hematológico periférico idéntico, otras tienen algunas diferencias, pero, en líneas generales en los procesos virales se observan un patrón periférico común, existen también variaciones en correspondencia al periodo prodrómico de estado o fase de recuperación. En las enfermedades virales predominan los linfocitos reactivos, conocidos también como linfocitos activados o virocitos, éstos difieren tanto en morfología y fenotipo de las células normales debido que son el resultado de una respuesta inmune policlonal producida por estimulación antigénica derivada de varios factores. Los linfocitos reactivos pueden hallarse normalmente en 2% en un adulto sano y en un porcentaje más elevado en el niño, alrededor de 5% a 6%. Algunas enfermedades en las que pueden aparecer linfocitos reactivos son: mononucleosis infecciosas, hepatitis infecciosa por virus A, citomegalovirus, rubeola, varicela, gripe, adenovirus, herpes, fiebre del dengue, virus de inmunodeficiencia humana, en general en todas las infecciones virales. (Terry et al., 2016)

Con respecto al reporte, la International Journal of Laboratory Hematology (2015) nos indica que un linfocito reactivo presenta anomalías que incluyen aumento de tamaño celular, inmadurez del núcleo, un nucléolo visible, falta de condensación de la cromatina, contorno o

lobulación nuclear irregular, basofilia y vacuolación citoplasmática y contorno irregular, el citoplasma puede ser abundante con tinciones que varían de azul pálido marcadamente basófilo, especialmente en los puntos de contacto con células adyacentes, se recomienda reportar la presencia de linfocitos reactivos que pueden ser contados como una población separada en el conteo diferencial leucocitario si están presentes en cantidades significativas. (Palmer et al., 2015)

## III.MÉTODO

### 3.1 Tipo de investigación

El estudio realizado es observacional, que según Manterola y Otzen (2014) corresponde a diseños de investigación cuyo objetivo es “la observación y registro” de acontecimientos sin intervenir en el curso natural de estos. Este trabajo consiste además en observar los decriptores geométricos tanto en los linfocitos reactivos y linfocitos normales y llevarlos a un registro estadístico y numérico, como tal sería un trabajo de tipo retrospectivo, que según Manterola y Otzen (2014) se registran los datos ocurridos en el pasado.

El presente trabajo es de tipo descriptivo. Estos tipos de estudio miden, evalúan o recolectan datos sobre diversos aspectos, dimensiones o componentes del fenómeno a investigar. En un estudio descriptivo se selecciona una serie de cuestiones y se mide o recolecta información sobre cada una de ellas, para así describir lo que se investiga. Los estudios descriptivos únicamente pretenden medir o recoger información de manera independiente o conjunta sobre los conceptos o las variables a las que se refieren, esto es, su objetivo no es indicar cómo se relacionan las variables medidas. En esta clase de estudios el investigador debe ser capaz de definir, o al menos visualizar, qué se medirá (qué conceptos, variables, componentes, etc.) y sobre qué o quiénes se recolectarán los datos (personas, grupos, comunidades, objetos, animales, hechos, etc.) (Hernández et al., 2006)

### 3.2 Ámbito temporal y espacial

#### 3.2.1 *Delimitación temporal.*

La delimitación temporal está referida al periodo de tiempo que se toma en cuenta con relación a hechos y fenómenos de la investigación (Alfaro, 2012). El presente trabajo se empezó a realizar en junio del 2018 y se culminó en diciembre del 2019.

### **3.2.2 Delimitación espacial.**

Según Alfaro (2012) la delimitación espacial consiste en indicar el lugar donde se realiza la investigación. El presente trabajo se realizó con muestras obtenidas del laboratorio de Hematología de un hospital general de Lima específicamente del Hospital Nacional Arzobispo Loayza y fueron procesadas en un laboratorio dentro las instalaciones de la empresa Ingenious Diagnostics – en el distrito de Comas ubicado en Lima, Perú. Se realizó durante los meses de noviembre y diciembre del 2019.

## **3.3 Variables**

### **3.3.1 Variable.**

Una variable es una propiedad que puede fluctuar y cuya variación es susceptible de medirse u observarse. Las variables adquieren valor para la investigación científica cuando llegan a relacionarse con otras variables, es decir, si forman parte de una hipótesis o una teoría. (Hernández et al., 2006)

En el presente estudio la variable ha estado conformada por los descriptores geométricos los cuales han sido presentados en el desarrollo de la investigación: Descriptores geométricos asociados al área, descriptores geométricos asociados a relaciones, descriptores geométricos asociados a la excentricidad, descriptores geométricos asociados al diámetro promedio, descriptores geométricos asociados al perímetro. Se trabajaron dos descriptores colorimétricos, uno asociado al brillo y otro asociado a la densidad.

### **3.3.2 Variable interviniente.**

La variable interviniente es aquel factor que interviene entre otras variables modificando o alterando con su contenido las relaciones que existen entre esos elementos. (Núñez, 2007)

En el presente estudio la variable interviniente ha estado conformada por los linfocitos reactivos estudiados mediante un sistema digital de hematología.



**Tabla 1***Operacionalización de variables*

	Concepto	Dimensión	Indicador	Escala de medición
Software Vision	Sistema que	Linfocitos		Citomorfología
Hema	identifica de manera automática células sanguíneas, presenta un sistema de calificación acorde a varios parámetros	Linfocitos reactivos	Células sanguíneas	Citomorfología
Descriptor geométricos	Obtienen las características morfológicas de las células sanguíneas relacionadas al tamaño, forma, brillo.	Área Relación Excentricidad Diámetro Perímetro Brillo Densidad óptica	Valor medido	$\mu\text{m}^2$

### **3.4 Población y muestra**

#### **3.4.1 Población.**

Se define a la población como “la totalidad del fenómeno a estudiar, donde las unidades poseen características en común, las cuales se estudian y dan origen a los datos de investigación”. (Hernández et al., 2006)

En este trabajo la población ha sido la población adulta que se atendieron en el Hospital Loayza, por consulta externa, hospitalización y emergencia. Vale decir que son los pacientes que específicamente han tenido la orden de un hemograma y conteo diferencial leucocitario.

#### **3.4.2 Muestra.**

La muestra es una porción representativa de la población que permite generalizar sobre ésta los resultados de una investigación. Es la conformación de unidades dentro de un subconjunto, que tiene por finalidad integrar las observaciones ( sujetos, objetos, situaciones, instituciones u organizaciones o fenómenos ) como parte de una población. (Chávez, 2001). En este trabajo la muestra ha sido conformada por frotices de sangre periférica en donde se encontraron los linfocitos reactivos así como los normales. Específicamente la muestra ha sido conformada por linfocitos reactivos que fueron posteriormente validados por un personal con años de experiencia en morfología celular hematológica así como los linfocitos normales. En total se obtuvieron 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos.

#### **3.4.3 Muestreo.**

En este trabajo se utilizó el muestro por conveniencia que según McMillan y Schumacher (2001) “es un método no probabilístico de seleccionar sujetos que están accesibles o disponibles”. En este caso lo seleccionado han sido frotices de sangre periférica que contenían linfocitos reactivos para que posteriormente se haga el muestreo por conveniencia de los linfocitos reactivos validados por el profesional con años de experiencia en morfología hematológica.

### **3.5 Instrumentos**

Se usaron un promedio de 100 frotices de sangre periférica teñidas con tinción Wright, los cuales fueron escaneados usando el sistema Vision Hema. En dichas láminas se encontraron como mínimo un intervalo de 12 a 40 linfocitos reactivos encontrados en la lectura del frotis que fueron validados por un profesional con experiencia en citomorfología hematológica. Lo que se buscó con los 100 frotices fue obtener una cantidad significativa de linfocitos reactivos para poder compararlos con los linfocitos normales, al final se obtuvieron 1156 imágenes de linfocitos normales y 1091 imágenes de linfocitos reactivos.

#### ***3.5.1 Materiales y equipos.***

Se usó el software de hematología digital Vision Hema.

### **3.6 Procedimientos**

Se seleccionaron 100 láminas que contenían entre 12 a 40 linfocitos reactivos, ya evaluados previamente por analistas con conocimiento y experiencia en el conteo diferencial leucocitario. Se procesaron dichas láminas en el software Vision Hema y para comprobar su autenticidad se solicitó la re-evaluación de un tecnólogo médico con pericia en el campo de hematología y morfología celular de células sanguíneas para que corroborara con seguridad de que se trataron de linfocitos reactivos.

#### ***3.6.1 Recolección de datos***

La información se obtuvo gracias a profesionales tecnólogos médicos quienes facilitaron la obtención de las láminas en cuyos frotis se encontraron linfocitos reactivos. La total cantidad de láminas que se obtuvieron fueron del laboratorio de Hematología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, obteniendo así las 100 láminas de frotis sanguíneo. El análisis morfológico del software VISION HEMA mostró las estadísticas obtenidas sobre un tipo de célula en específico, en este caso un linfocito reactivo. El panel central de análisis morfológico del VISION HEMA consistió en los siguientes pasos:

- 1) Seleccionó un grupo de células a analizar, entre ellos a un grupo de linfocitos reactivos.
- 2) Se escogió el método de análisis: clasificación y/o mediciones, posteriormente se seleccionó el parámetro de medida para la clasificación, por ejemplo, el área celular, área del núcleo, diámetro, excentricidad, etc.
- 3) El sistema analizó los parámetros escogidos y nos dio los resultados en valores numéricos y en unidades de medida representados también en histogramas.

### **3.7 Análisis de datos**

Una vez se obtuvieron los linfocitos reactivos fueron clasificados según su alteración, es decir según el tamaño del núcleo celular, según el tamaño del citoplasma, según la forma celular, según la relación núcleo – citoplasma. Esta clasificación fue dada automáticamente por el software Vision Hema. Luego se hallaron estas variaciones y se les dio un valor numérico para que después se obtuviera un promedio. Lo mismo se hizo con los linfocitos normales los cuales se usaron como valor patrón y al final se hizo un cuadro comparativo para observar las diferencias citomorfológicas entre linfocitos reactivos y linfocitos normales demostrado a través de valores numéricos. Éstos valores numéricos fueron analizados tanto en el programa Microsoft Excel 2016 como en el SPSS ®, que ayudaron a llevar un manejo adecuado de los datos numéricos.

### **3.8 Consideraciones Éticas**

En la presente investigación se mantuvo al margen el nombre de los pacientes en cuyo frotis de sangre periférica se observaron linfocitos reactivos y otras patologías. Así mismo no se dio a conocer ningún otro dato como hora, fecha y día de obtención de la muestra.

## IV.RESULTADOS

Habiendo analizado las 100 láminas de frotis sanguíneos, que contenían un promedio de 12 a 40 linfocitos reactivos en su recuento diferencial leucocitario, gracias al software Vision Hema se generó una base de datos de puros linfocitos reactivos, así como de linfocitos normales. En el caso de los linfocitos reactivos, éstos fueron validados posteriormente por un profesional con años de experiencia en citomorfología hematológica, para tener la certeza de que sean linfocitos reactivos y así fueron seleccionados 1091 linfocitos reactivos junto a 1156 linfocitos normales para poder generar la estadística descriptiva y así poder demostrar la diferencia a nivel numérico y estadístico entre linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales y sus respectivos descriptores geométricos. Para elaborar las tablas y los gráficos y así poder demostrar la hipótesis planteada se utilizó estadística descriptiva, basándonos en “Bioestadística para el análisis de ciencias de la salud”. Wayne W (2012). Empezamos por mostrar los datos con respecto a los descriptores geométricos relacionados al área los cuales son: Área del núcleo, Área del citoplasma y Área celular. Y se representarán en las siguientes tablas.

**Tabla 2**

*Descriptores geométricos asociados al área*

Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Área del núcleo	1156	1091
Área del citoplasma	1156	1091
Área celular	1156	1091

*Nota.* Se muestra los datos analizados por cada descriptor geométrico relacionados al área, para el área del núcleo, área del citoplasma y área celular, se analizaron en total 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Tabla 3***Estadística descriptiva del Área del núcleo*

Área del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	62.92	87.04
Mediana	62.32	83.09
Moda	63.62	77.03
Desviación Estándar	10.12	19.27
Coefficiente de variación	16%	22%

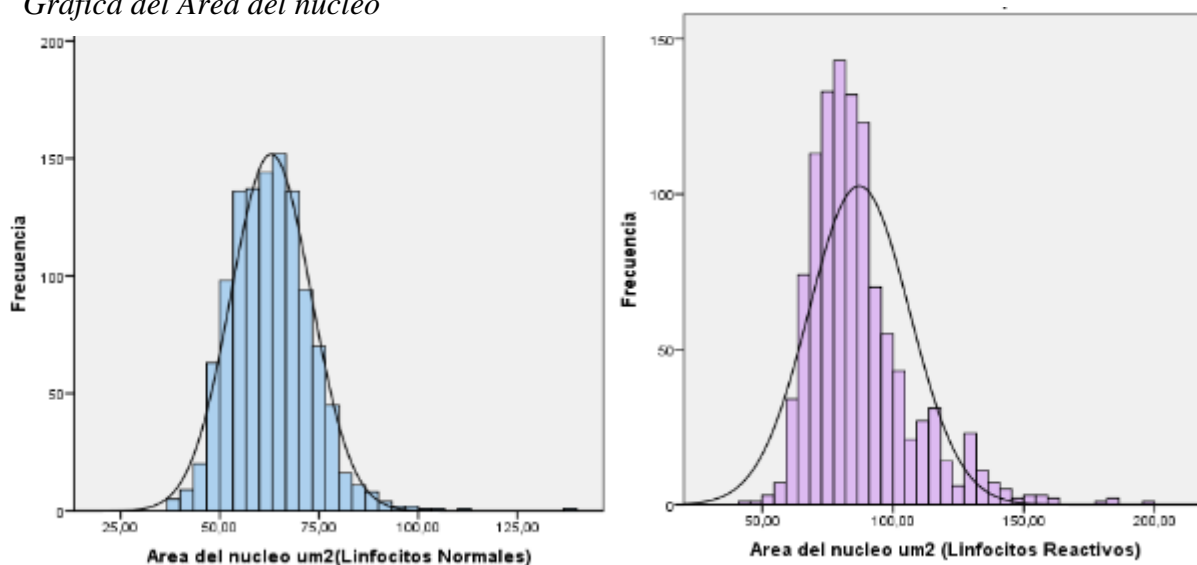
*Nota.* Se muestra los resultados del Área del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 62.92, 10.12 y 16% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 87.04, 19.27 y 22% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos.

**Fuente:** Elaboración propia.

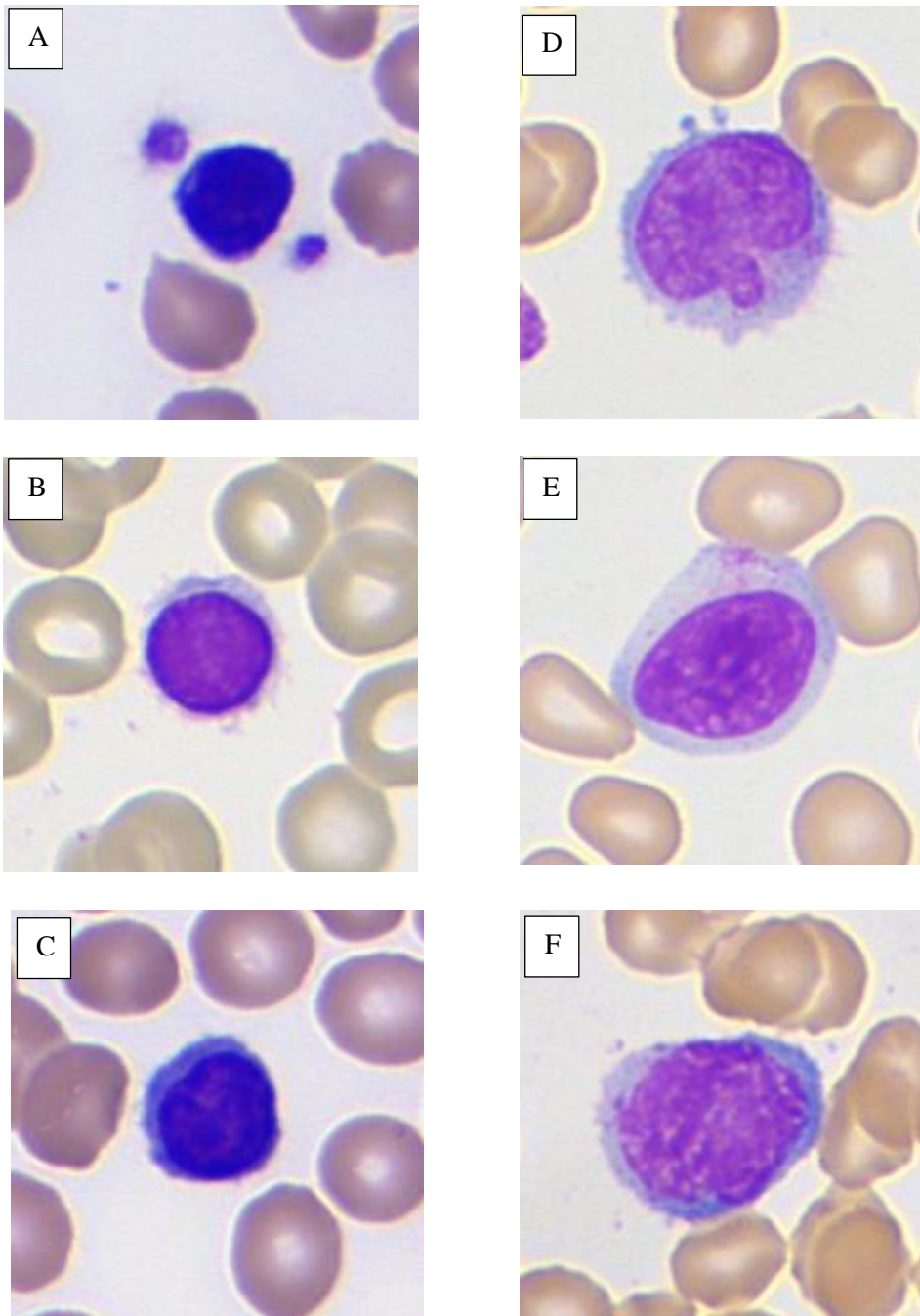
Se pasó a realizar las gráficas para demostrar la diferencia numérica para el Área del núcleo

**Figura 18**

*Gráfica del Área del núcleo*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Área del núcleo tanto para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $38.53 \mu\text{m}^2$  y  $139.62 \mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $43.05 \mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $197.11 \mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 19***Linfocitos normales y reactivos Área del núcleo*

*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del área nuclear es  $38.53 \mu\text{m}^2$ ,  $48.12 \mu\text{m}^2$  y  $54.02 \mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del área nuclear es  $81.00 \mu\text{m}^2$ ,  $88.12 \mu\text{m}^2$  y  $101.04 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)



**Tabla 4***Estadística descriptiva del Área del citoplasma*

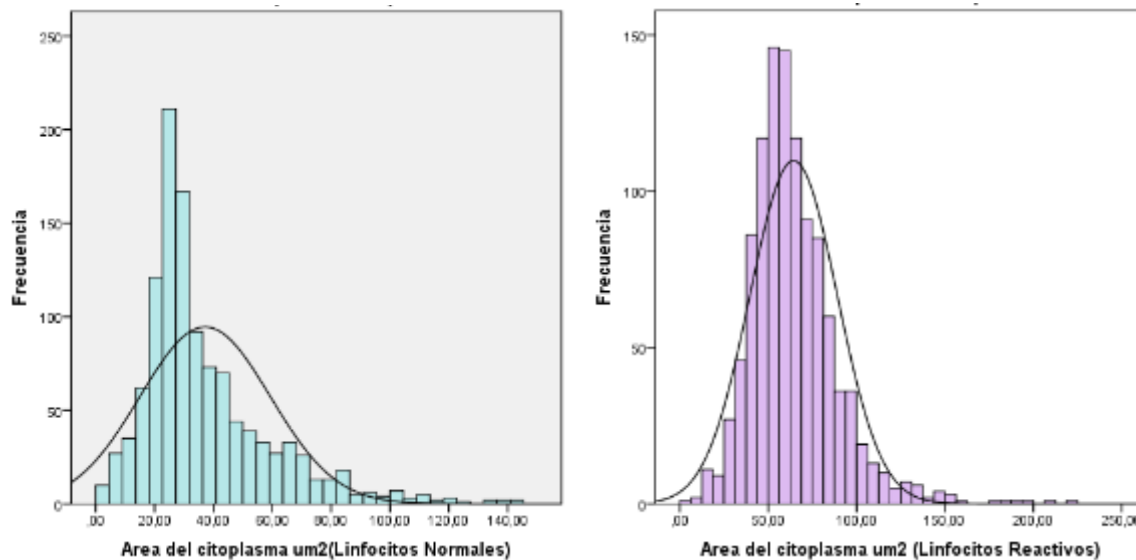
Área del citoplasma		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	37.17	64.35
Mediana	30.19	60.47
Moda	26.82	52.06
Desviación Estándar	22.16	24.77
Coefficiente de variación	60%	38%

*Nota.* Se muestra los resultados del Área del citoplasma a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 37.17, 22.16 y 60% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 64.35, 24.77 y 38% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

Se pasó a realizar las gráficas para demostrar la diferencia numérica para el Área del citoplasma.

**Figura 20**

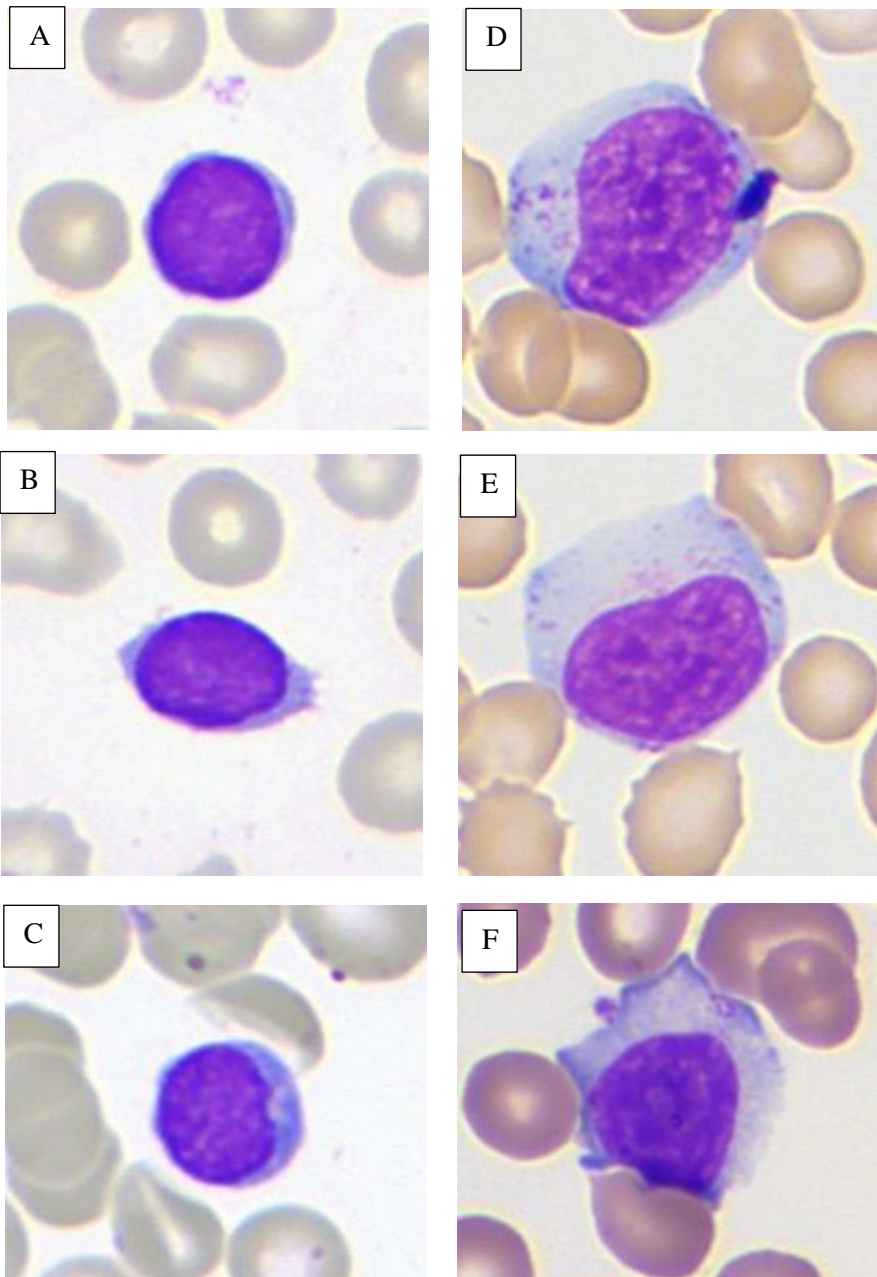
*Gráfica del Área del citoplasma*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Área del citoplasma tanto para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $2.41 \mu\text{m}^2$  y  $143.62 \mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $5.76 \mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $219.39 \mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 21**

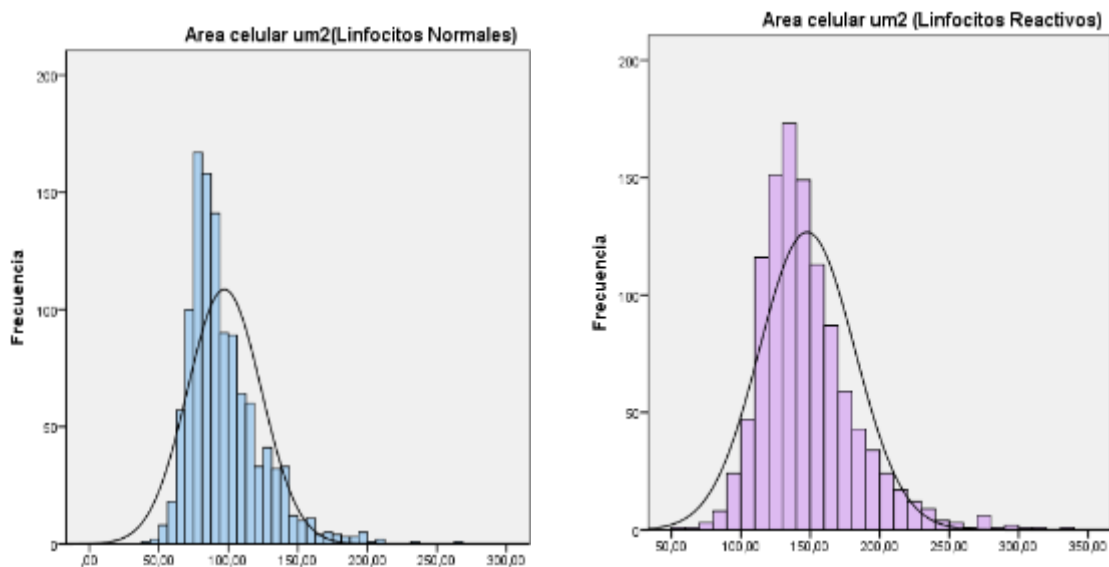
*Linfocitos normales y reactivos Área del citoplasma*



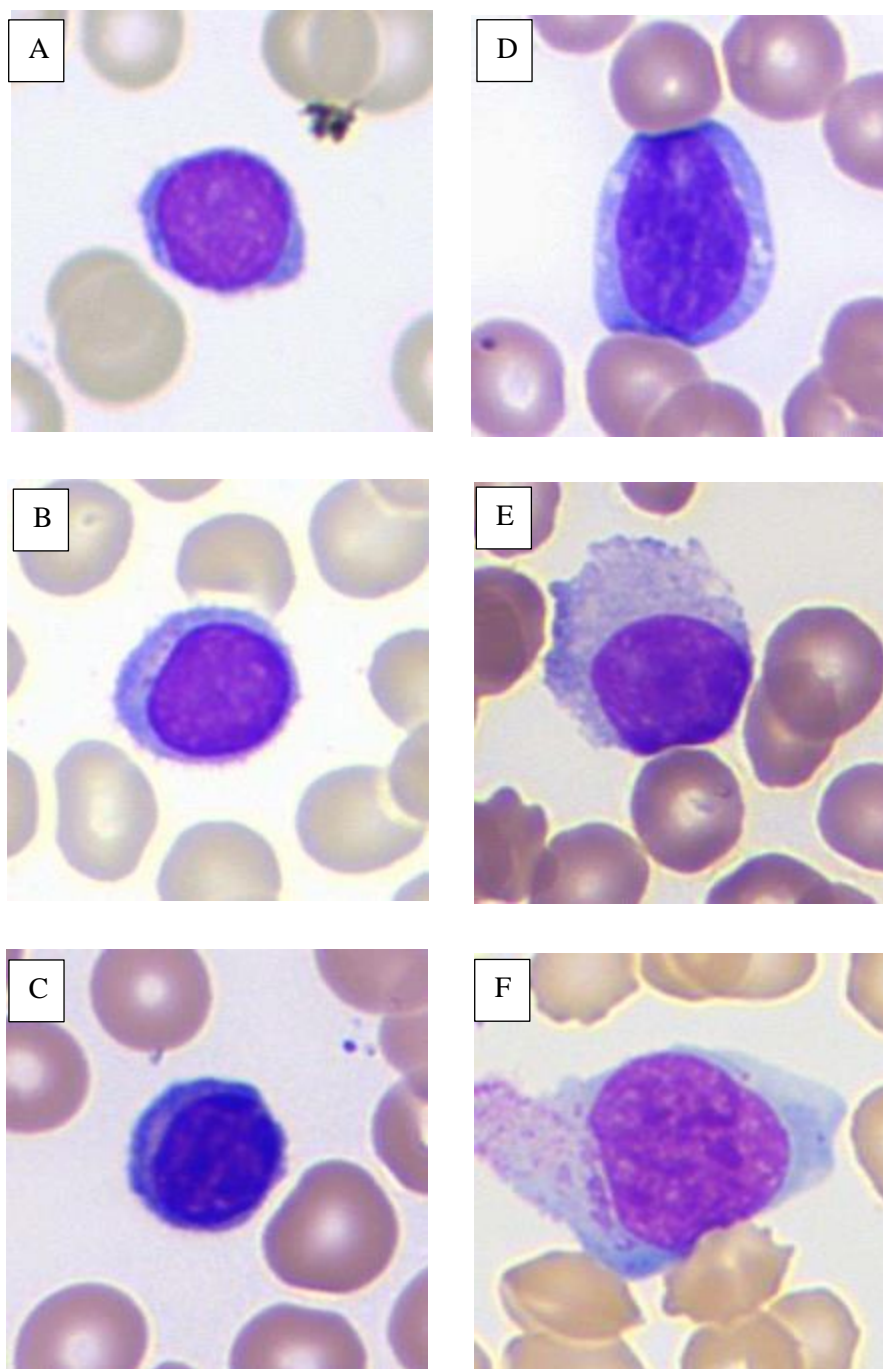
**Tabla 5***Estadística descriptiva del Área celular*

Área celular		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	97.13	147.66
Mediana	90.77	141.03
Moda	75.27	112.60
Desviación Estándar	26.54	34.33
Coefficiente de variación	27%	23%

*Nota.* Se muestra los resultados del Área celular a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 90.77, 26.54 y 27% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 147.66, 34.33 y 23% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 22***Gráfica del Área celular*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Área celular tanto para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $41.71 \mu\text{m}^2$  y  $263.67 \mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $56.24 \mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $336.07 \mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 23***Linfocitos normales y reactivos Área celular*

*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del área celular es  $68.18 \mu\text{m}^2$ ,  $84.99 \mu\text{m}^2$  y  $92.03 \mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del área celular es  $124.50 \mu\text{m}^2$ ,  $139.04 \mu\text{m}^2$  y  $162.91 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

Con respecto a los descriptores geométricos asociados a Relaciones, tenemos dos: Relación área del núcleo / área celular y Relación núcleo / citoplasma, se pasó a analizar 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos. A continuación se muestran las tablas y las gráficas.

**Tabla 6**

*Datos analizados asociados a Relaciones*

Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Relación área del núcleo / área celular	1156	1091
Relación núcleo / citoplasma	1156	1091

**Tabla 7**

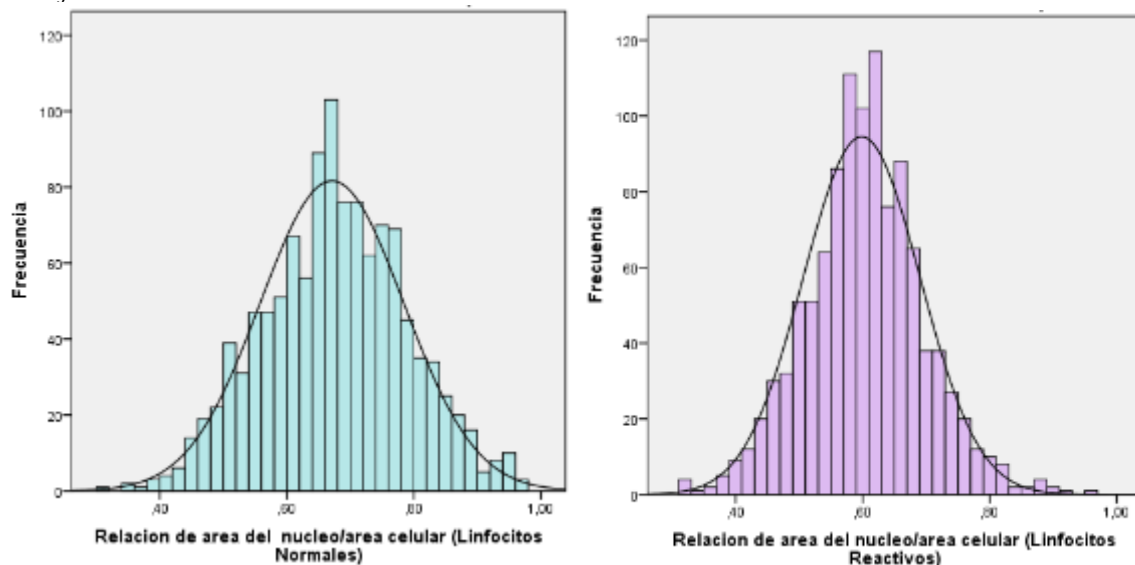
*Estadística descriptiva de la Relación área del núcleo / área celular*

Relación área del núcleo / área celular		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	0.67	0.59
Mediana	0.67	0.60
Moda	0.67	0.61
Desviación Estándar	0.11	0.09
Coeficiente de variación	16.8%	15.4%

*Nota.* Se muestra los resultados de la Relación del área del núcleo / área celular a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 0.67, 0.11 y 16.8% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 0.59, 0.09 y 15.4% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

Figura 24

Gráfica Relación área del núcleo / área celular

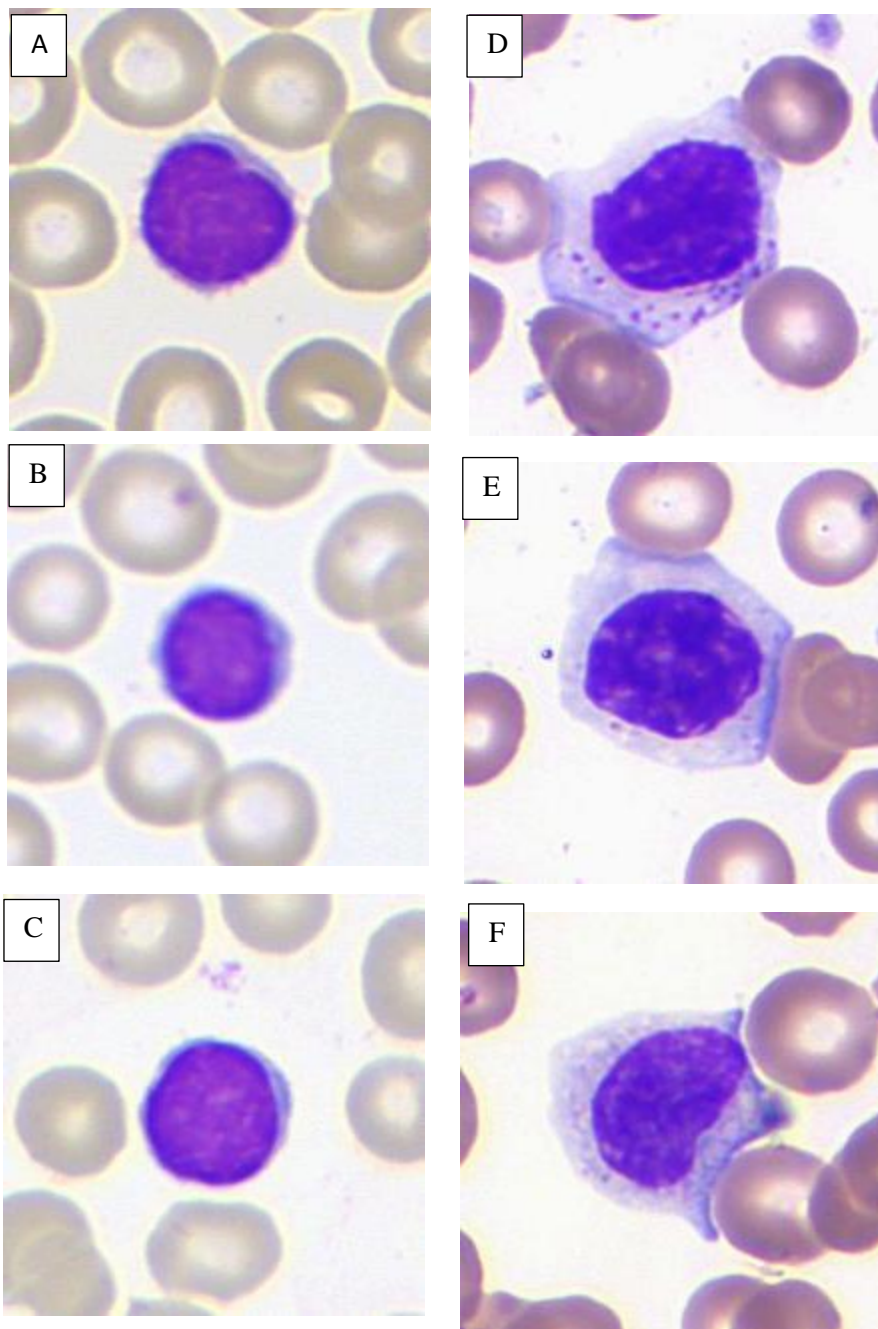


*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Relación área del núcleo/área celular tanto para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $0.31 \mu\text{m}^2$  y  $0.97 \mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $0.32 \mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $0.95 \mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una menor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 25**

*Linfocitos normales y reactivos Relación área del núcleo / área celular*

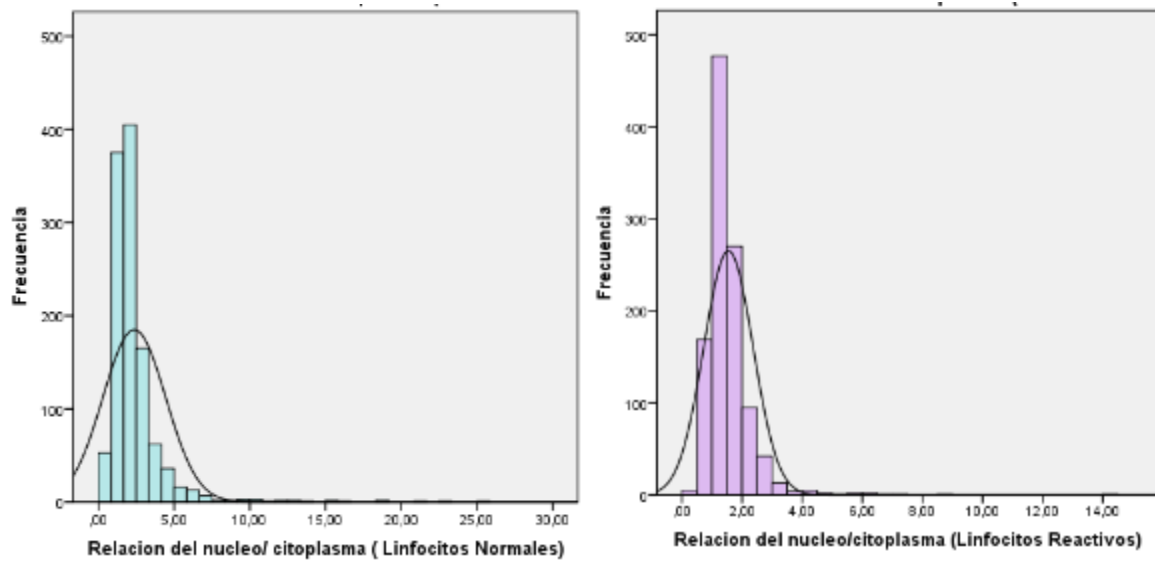


*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la relación área nuclear/área celular es  $0.85 \mu\text{m}^2$ ,  $0.91 \mu\text{m}^2$  y  $0.96 \mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la relación área nuclear/área celular es  $0.41 \mu\text{m}^2$ ,  $0.50 \mu\text{m}^2$  y  $0.62 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

**Tabla 8***Estadística descriptiva de la Relación Núcleo / Citoplasma*

Relación núcleo / citoplasma		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	2.36	1.54
Mediana	1.94	1.41
Moda	2.13	1.26
Desviación Estándar	2.07	0.82
Coefficiente de variación	87.7%	52.9%

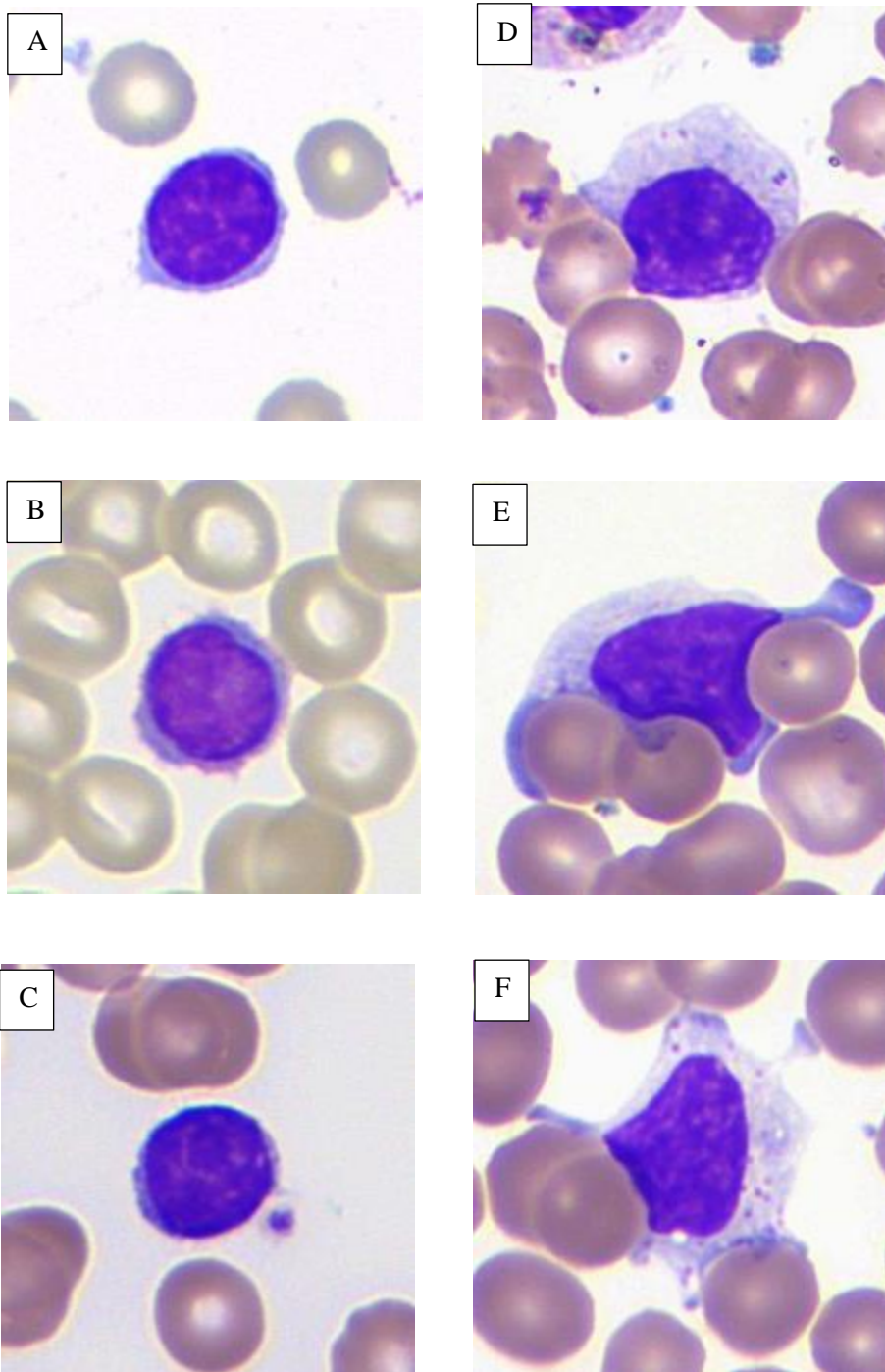
Nota. Se muestra los resultados de la Relación núcleo / citoplasma a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 2.36, 2.07 y 87.7% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 1.54, 0.82 y 52.9% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 26***Gráfica de la Relación núcleo/citoplasma*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Relación núcleo/citoplasma tanto para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $0.45 \mu\text{m}^2$  y  $25.53 \mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $0.44 \mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $14.34 \mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una menor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 27**

*Linfocitos normales y reactivos Relación núcleo / citoplasma*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la relación núcleo/citoplasma es  $2.80 \mu\text{m}^2$ ,  $3.50 \mu\text{m}^2$  y  $4.00 \mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la relación núcleo/citoplasma es  $0.57 \mu\text{m}^2$ ,  $0.64 \mu\text{m}^2$  y  $0.74 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

Con respecto a los descriptores asociados la Excentricidad tenemos dos: Excentricidad del núcleo y Excentricidad de la célula, para ambos casos se estudiaron 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos.

**Tabla 9**

*Datos analizados asociados a la Excentricidad*

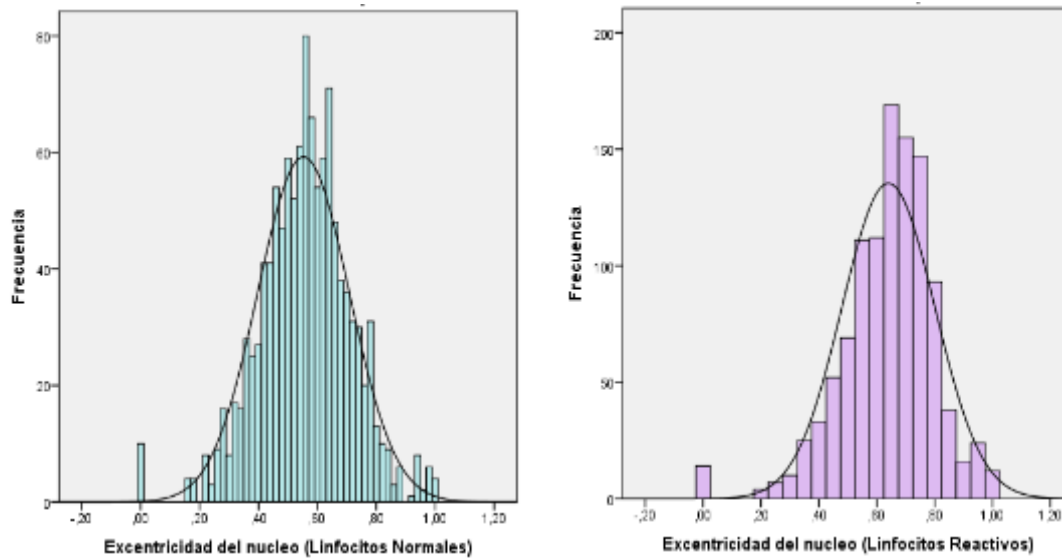
Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Excentricidad del núcleo	1156	1091
Excentricidad de la célula	1156	1091

**Tabla 10**

*Estadística descriptiva de la Excentricidad del núcleo*

Excentricidad del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	0.55	0.64
Mediana	0.56	0.66
Moda	0.55	0.66
Desviación Estándar	0.15	0.16
Coefficiente de variación	28.2%	25.1%

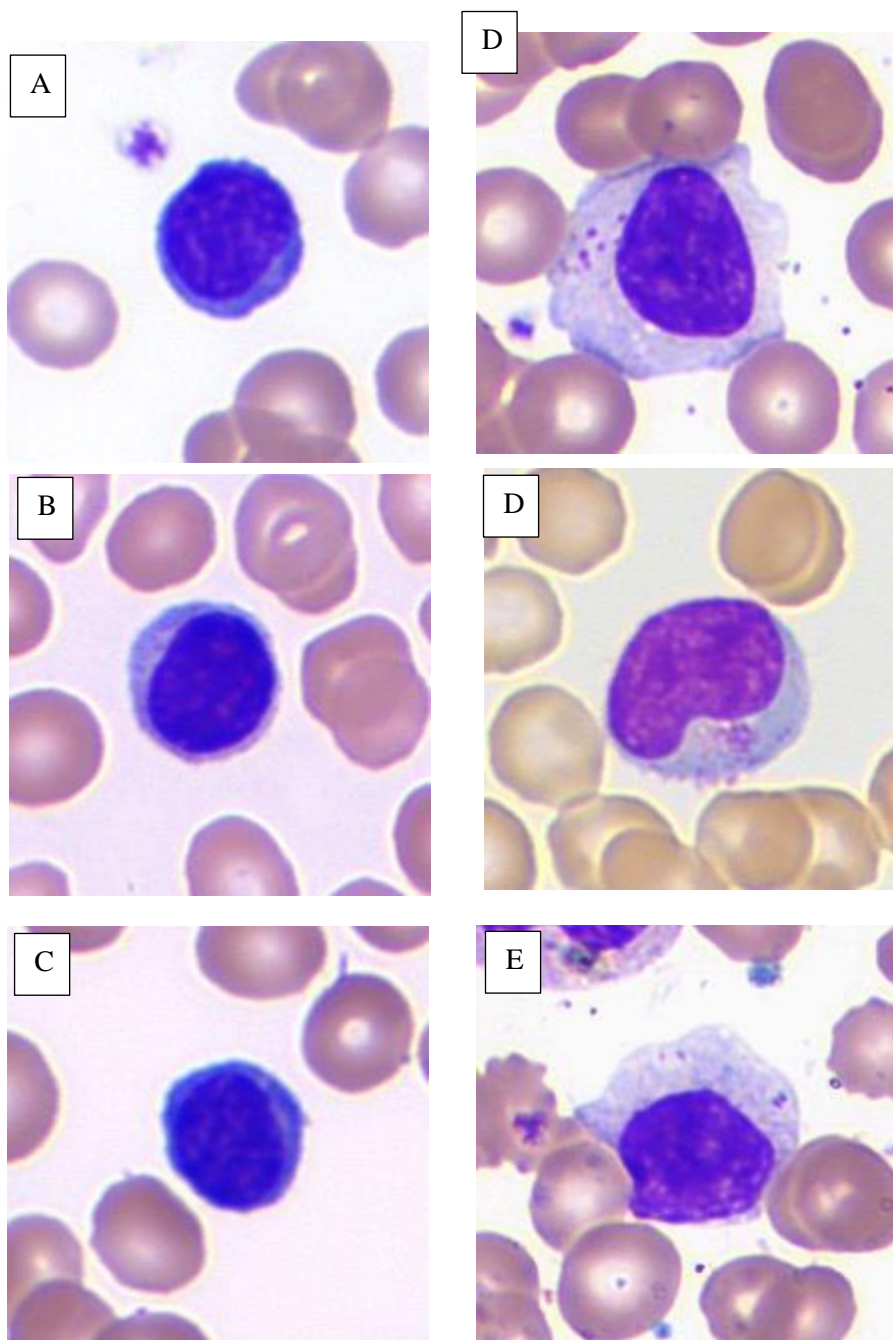
*Nota.* Se muestra los resultados de la Excentricidad del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 0.55, 0.15 y 28.2% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 0.64, 0.16 y 25.1% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 28***Gráfica de la Excentricidad del núcleo*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Excentricidad del núcleo para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 0.0 y 1 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 0.0 y el valor máximo es de 1. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

## Figura 29

*Linfocitos normales y reactivos. Excentricidad del núcleo*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la excentricidad del núcleo es 0.25, 0.39 y 0.55 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la excentricidad del núcleo es 0.70, 0.83 y 0.98 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

**Tabla 11***Estadística descriptiva de la Excentricidad de la célula*

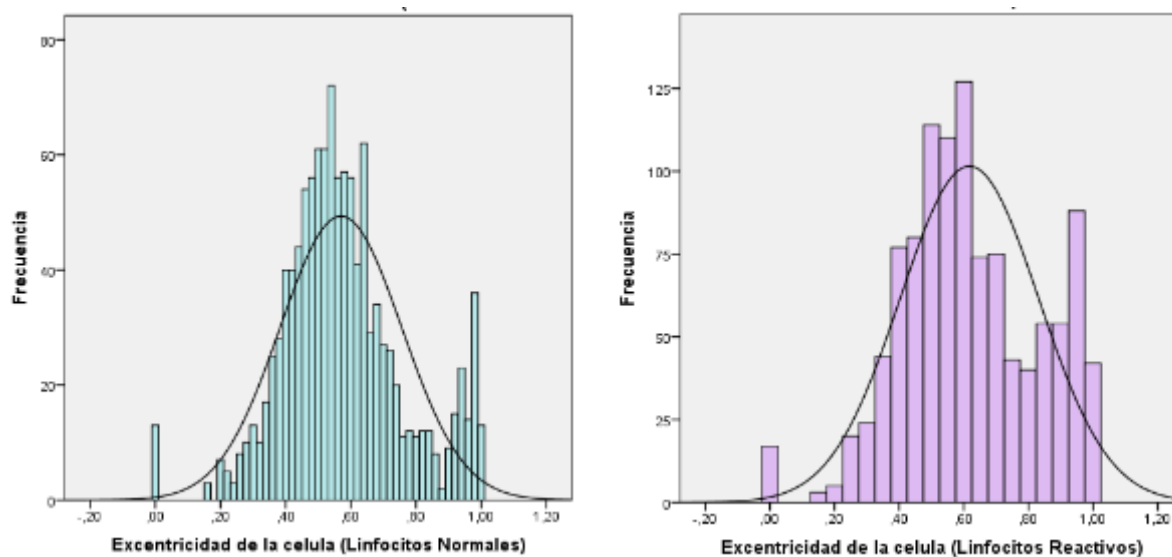
Excentricidad de la célula		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	0.56	0.61
Mediana	0.55	0.60
Moda	0.53	0.55
Desviación Estándar	0.18	0.21
Coeficiente de variación	32.8%	34.7%

*Nota.* Se muestra los resultados de la Excentricidad de la célula a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 0.56, 0.18 y 32.8% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 0.61, 0.21 y 34.7% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

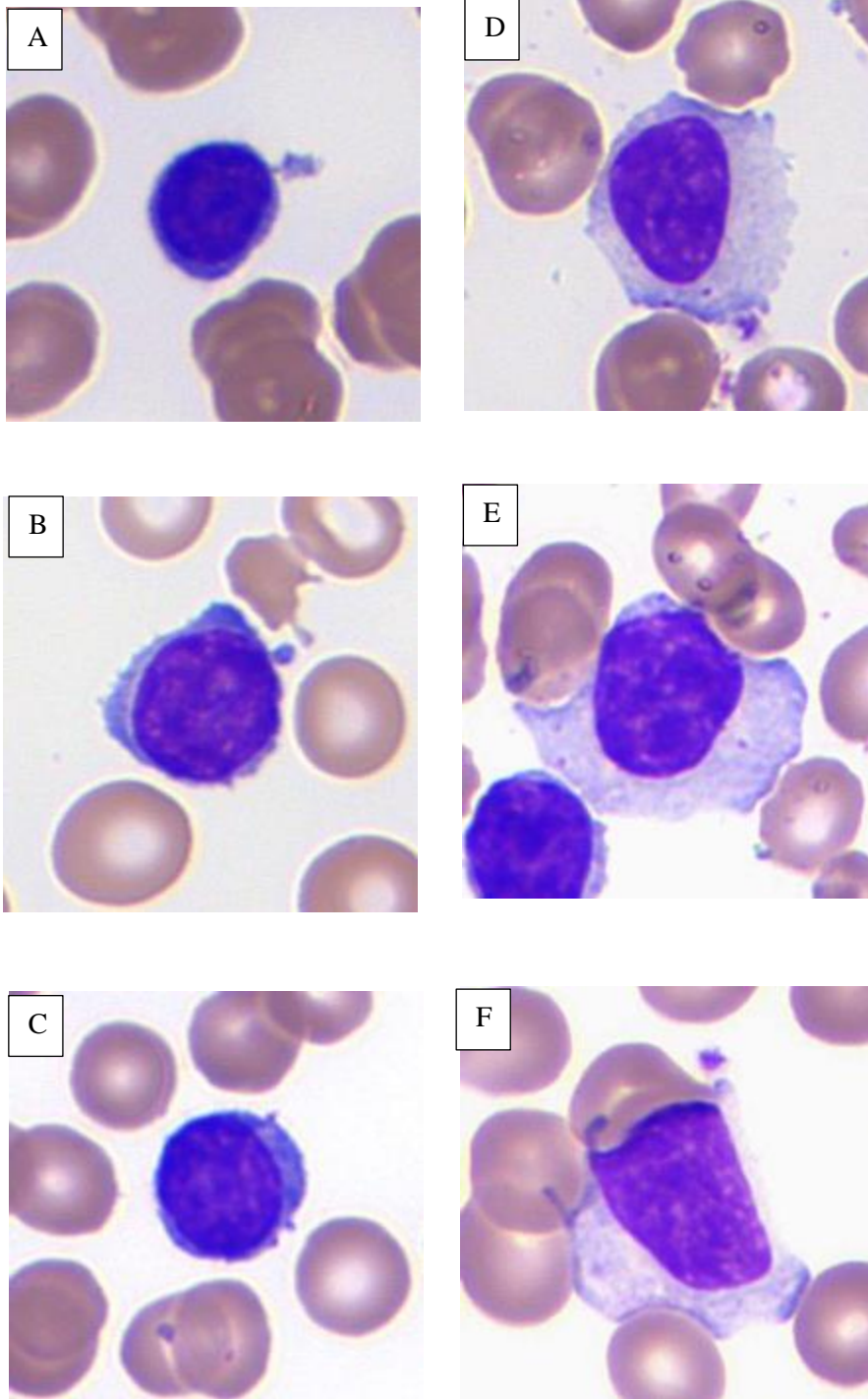


**Figura 30**

*Gráfica de la Excentricidad de la célula*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Excentricidad de la célula para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 0.0 y 1 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 0.0 y el valor máximo es de 1. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.

*Linfocitos normales y reactivos. Excentricidad de la célula*

*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la excentricidad de la célula es 0.16, 0.29 y 0.48 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la excentricidad de la célula es 0.67, 0.79 y 0.95 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

Con respecto a los descriptores asociados al Diámetro promedio, tenemos dos: Diámetro promedio del núcleo y Diámetro promedio de la célula. Para ambos casos se estudiaron 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos, así como para la elaboración de la gráfica estadística.

**Tabla 12**

*Datos analizados asociados al Diámetro promedio*

Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Diámetro promedio del núcleo	1156	1091
Diámetro promedio de la célula	1156	1091

**Tabla 13**

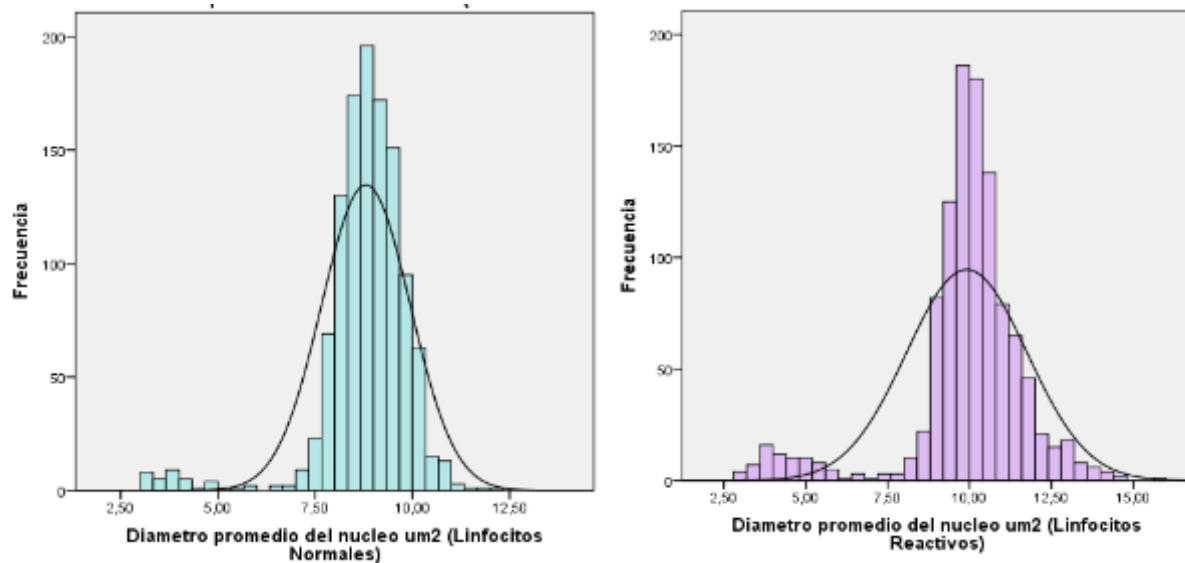
*Estadística descriptiva del Diámetro promedio del núcleo*

Diámetro promedio del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	8.80	9.91
Mediana	8.90	10.06
Moda	8.48	9.81
Desviación Estándar	1.14	1.84
Coefficiente de variación	13%	18.6%

*Nota.* Se muestra los resultados del Diámetro promedio del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 8.80, 1.14 y 13% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 9.91, 1.84 y 18.6% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 32**

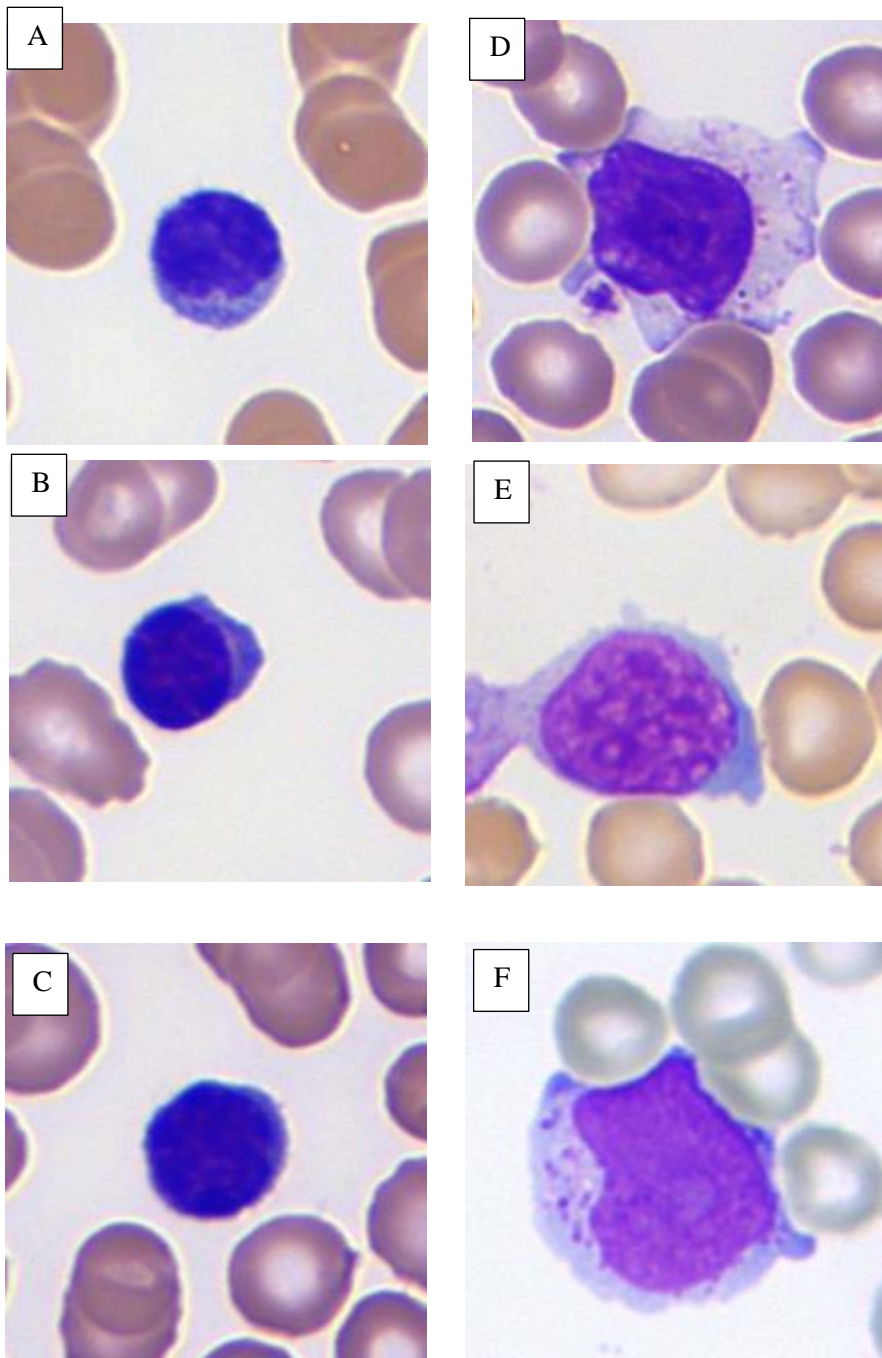
*Gráfica del Diámetro promedio del núcleo*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Diámetro promedio del núcleo para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $3.03\mu\text{m}^2$  y  $12.1\mu\text{m}^2$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $3.05\mu\text{m}^2$  y el valor máximo es de  $15.87\mu\text{m}^2$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 33**

*Linfocitos normales y reactivos. Diámetro promedio del núcleo*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del diámetro promedio del núcleo es  $7.20 \mu\text{m}^2$ ,  $8.30 \mu\text{m}^2$  y  $6.92 \mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del diámetro promedio del núcleo es  $10.40 \mu\text{m}^2$ ,  $11.12 \mu\text{m}^2$  y  $12.70 \mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

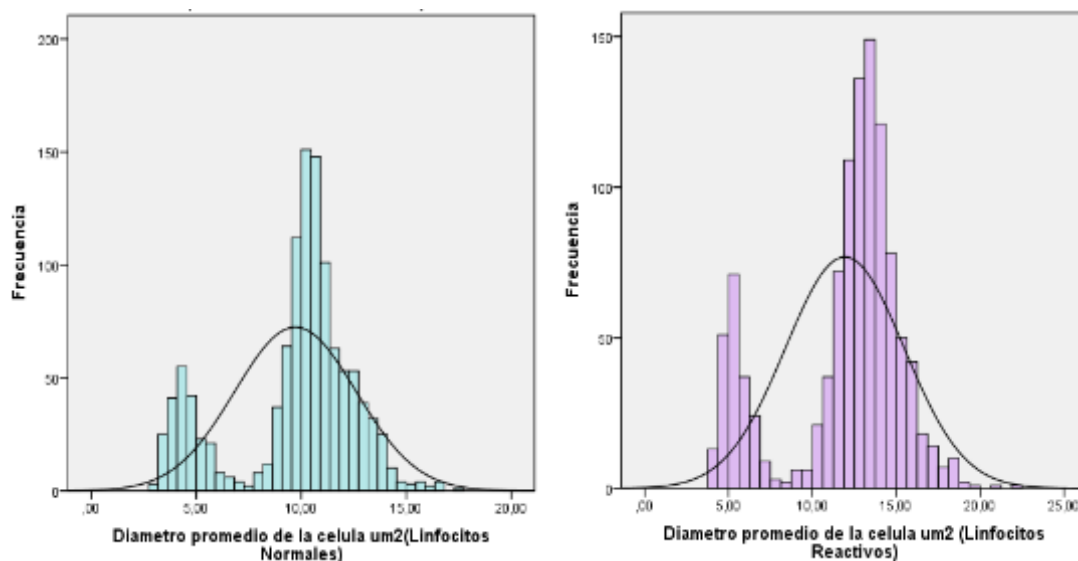
**Tabla 14***Estadística descriptiva del Diámetro promedio de la célula*

Diámetro promedio de la célula		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	9.71	11.93
Mediana	10.33	12.90
Moda	10.29	12.40
Desviación Estándar	2.89	3.54
Coefficiente de variación	29.8%	29.7%

*Nota.* Se muestra los resultados del Diámetro promedio de la célula a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 9.71, 2.89 y 29.8% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 11.93, 3.54 y 29.7% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 34**

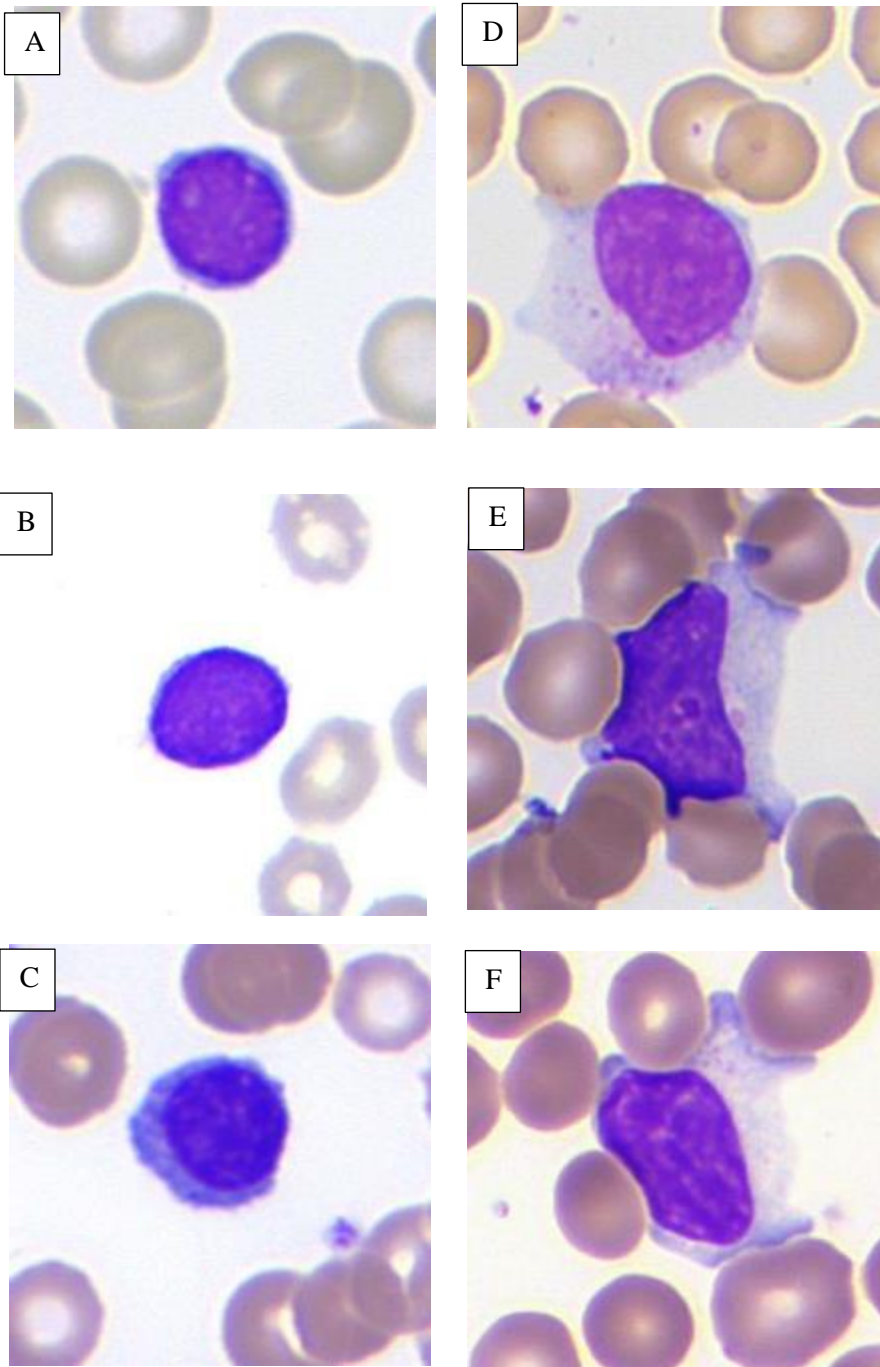
*Gráfica Diámetro promedio de la célula*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Diámetro promedio de la célula para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 2.95 y 17.47 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 3.87 y el valor máximo es de 22.06. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 35**

*Linfocitos normales y reactivos. Diámetro promedio de la célula*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del diámetro promedio de la célula es  $5.72\mu\text{m}^2$ ,  $7.39\mu\text{m}^2$  y  $10.40\mu\text{m}^2$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del diámetro promedio de la célula es  $15.41\mu\text{m}^2$ ,  $16.90\mu\text{m}^2$  y  $18.50\mu\text{m}^2$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)



Con respecto a los descriptores relacionados al Factor forma, tenemos dos: Factor forma del núcleo y Factor forma de la célula, para ambos casos se estudiaron 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos. Y posteriormente se elaboró la gráfica de la estadística.

**Tabla 15**

*Datos analizados asociados al Factor Forma*

Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Factor forma del núcleo	1156	1091
Factor forma de la célula	1156	1091

**Tabla 16**

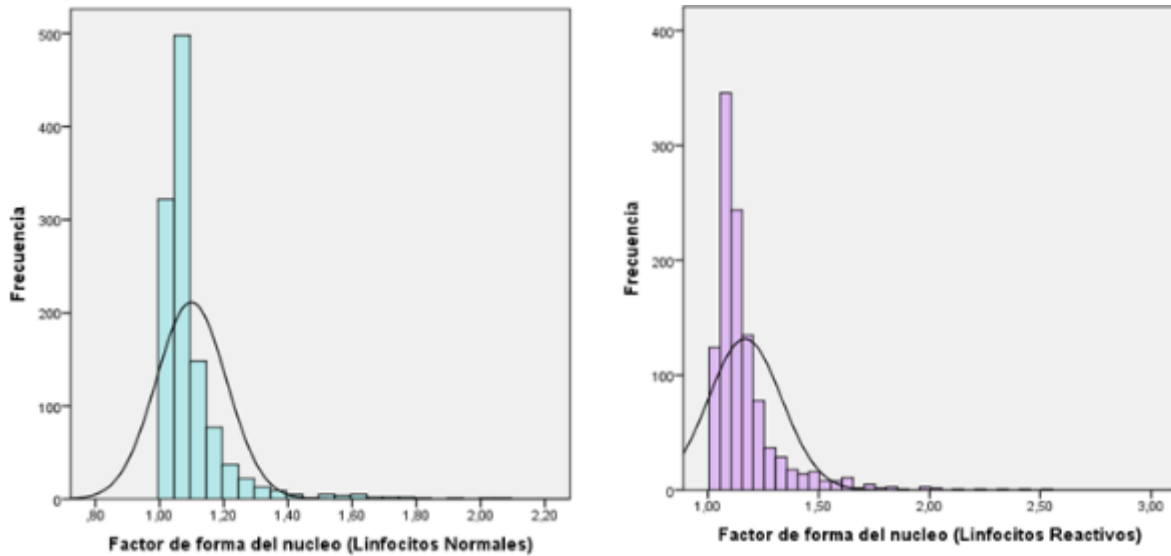
*Estadística descriptiva del Factor Forma del núcleo*

Factor forma del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	1.09	1.16
Mediana	1.06	1.12
Moda	1.04	1.07
Desviación Estándar	0.10	0.16
Coeficiente de variación	10%	14%

*Nota.* Se muestra los resultados del Factor forma del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 1.09, 0.10 y 10% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 1.16, 0.16 y 14% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 36**

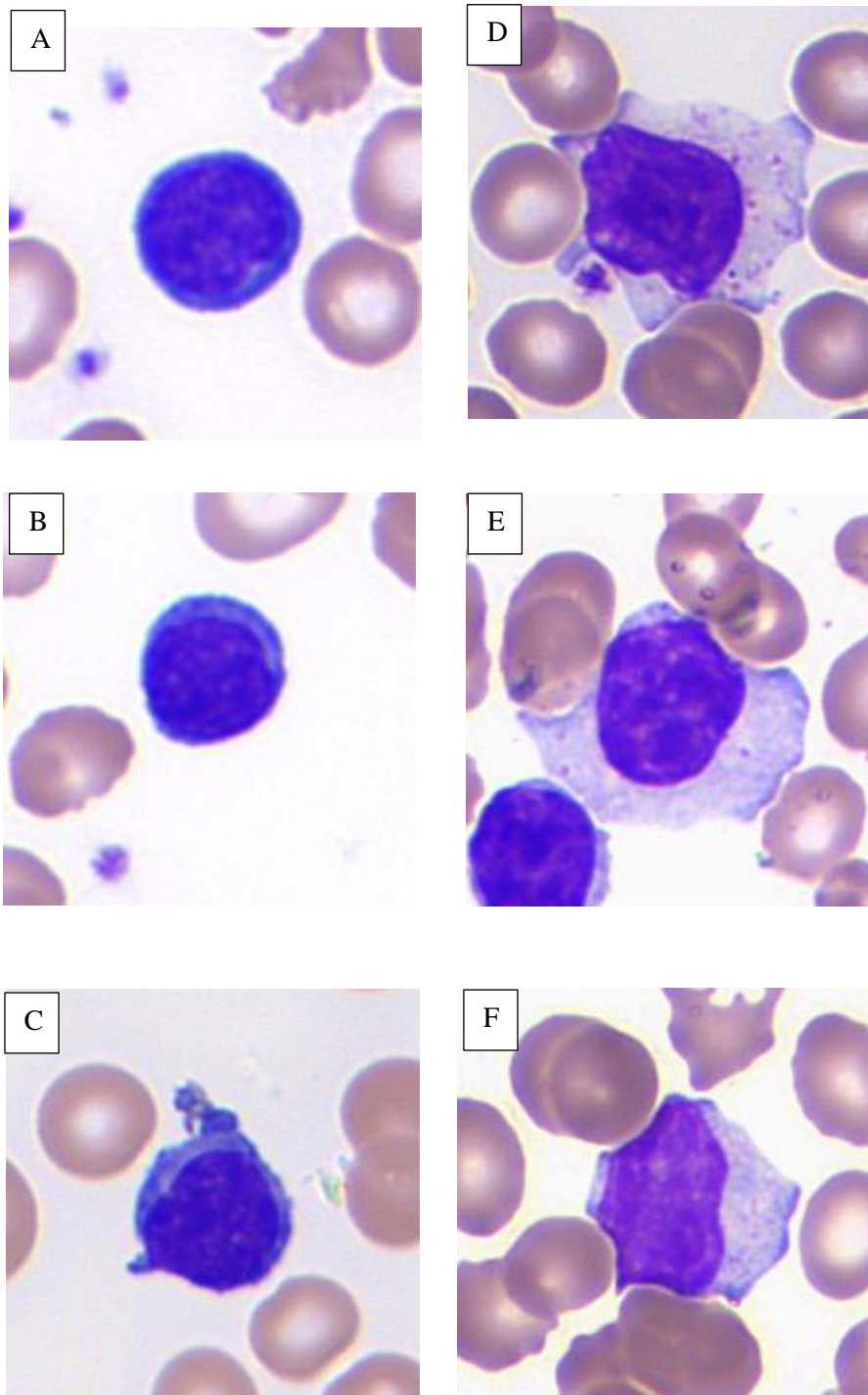
*Gráfica del Factor forma del núcleo*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Factor forma del núcleo para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 1.02 y 2.08 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 1.03 y el valor máximo es de 2.51. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 37**

*Linfocitos normales y reactivos. Factor forma del núcleo*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del factor forma del núcleo es 1.01,1.10 y 1.21 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del factor forma del núcleo es 1.30,1.79 y 2.51 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

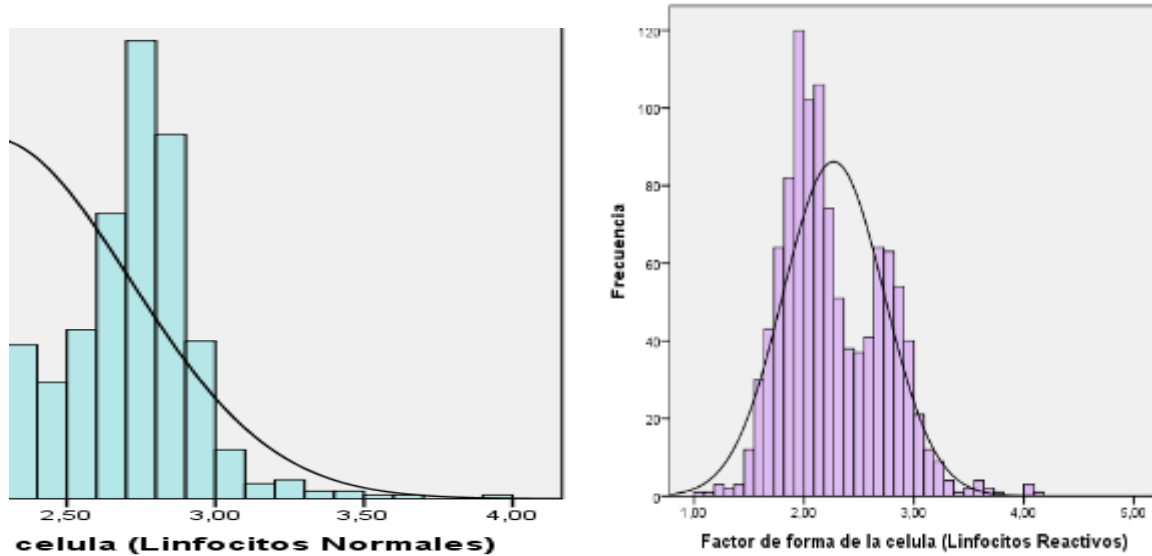
**Tabla 17***Estadística descriptiva del Factor Forma de la célula*

Factor forma de la célula		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	2.23	2.26
Mediana	2.14	2.16
Moda	2.00	1.91
Desviación Estándar	0.47	0.45
Coefficiente de variación	21%	20%

*Nota.* Se muestra los resultados del Factor forma de la célula a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 2.23, 0.47 y 21% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 2.26, 0.45 y 20% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 38**

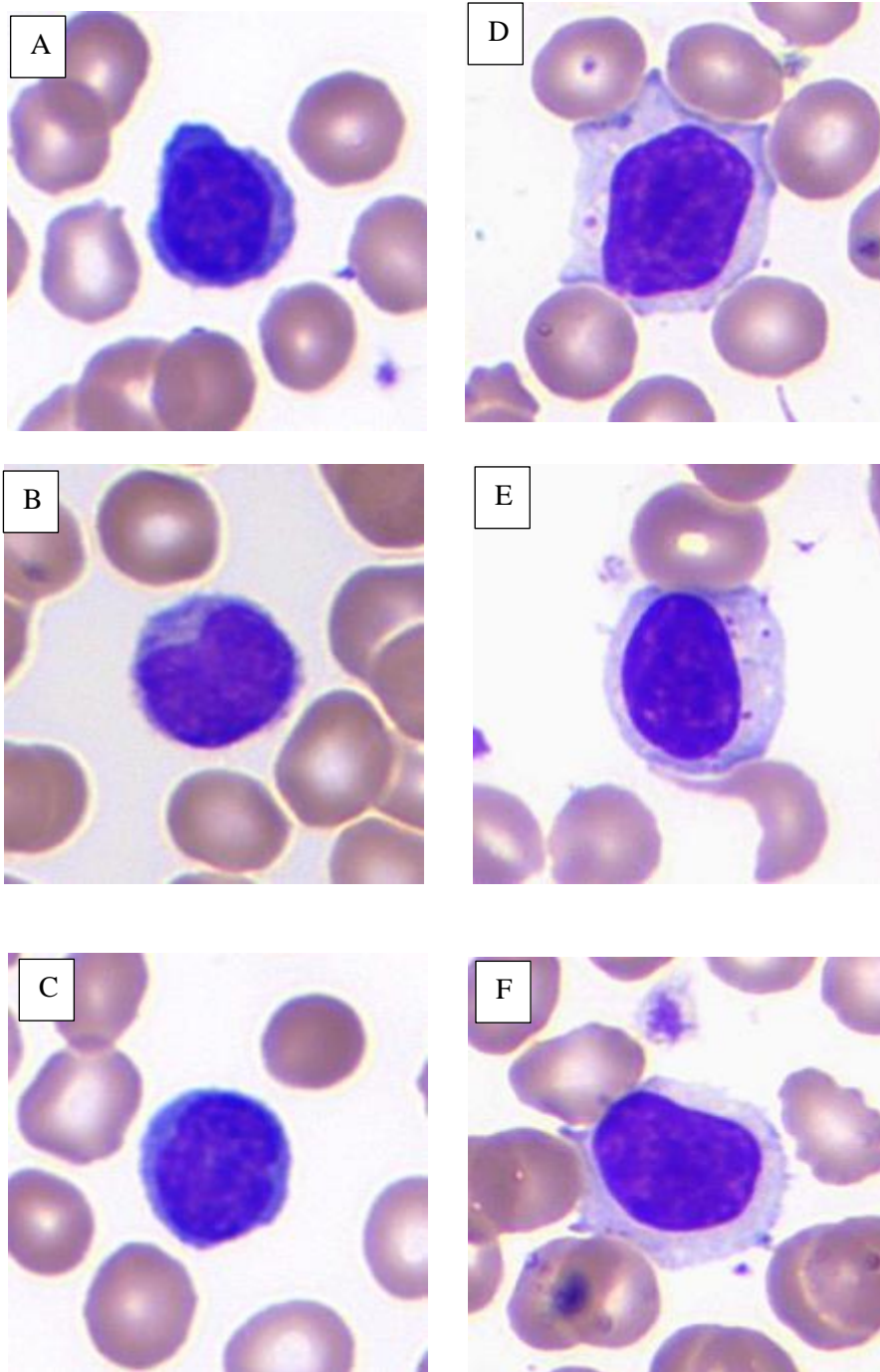
*Gráfica del Factor forma de la célula*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Factor forma de la célula para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 1.04 y 3.99 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 1.06 y el valor máximo es de 4.14. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una menor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 39**

*Linfocitos normales y reactivos. Factor forma de la célula*



*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del factor forma de la célula es 1.05, 1.58 y 1.86 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del factor forma de la célula es 2.79, 3.20 y 4.14 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

Con respecto al descriptor asociado al Perímetro, tenemos solo al perímetro celular, para tal caso se estudiaron 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos y posteriormente se elaboró la gráfica estadística.

**Tabla 18**

*Datos analizados asociados al Perímetro*

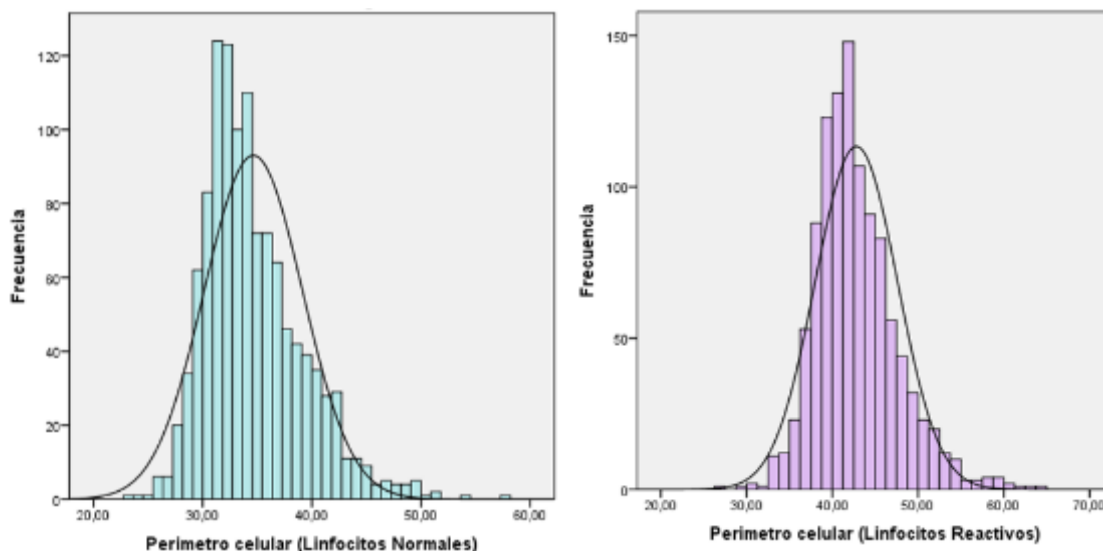
Descriptores geométricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Perímetro celular	1156	1091

**Tabla 19**

*Datos encontrados del Perímetro celular*

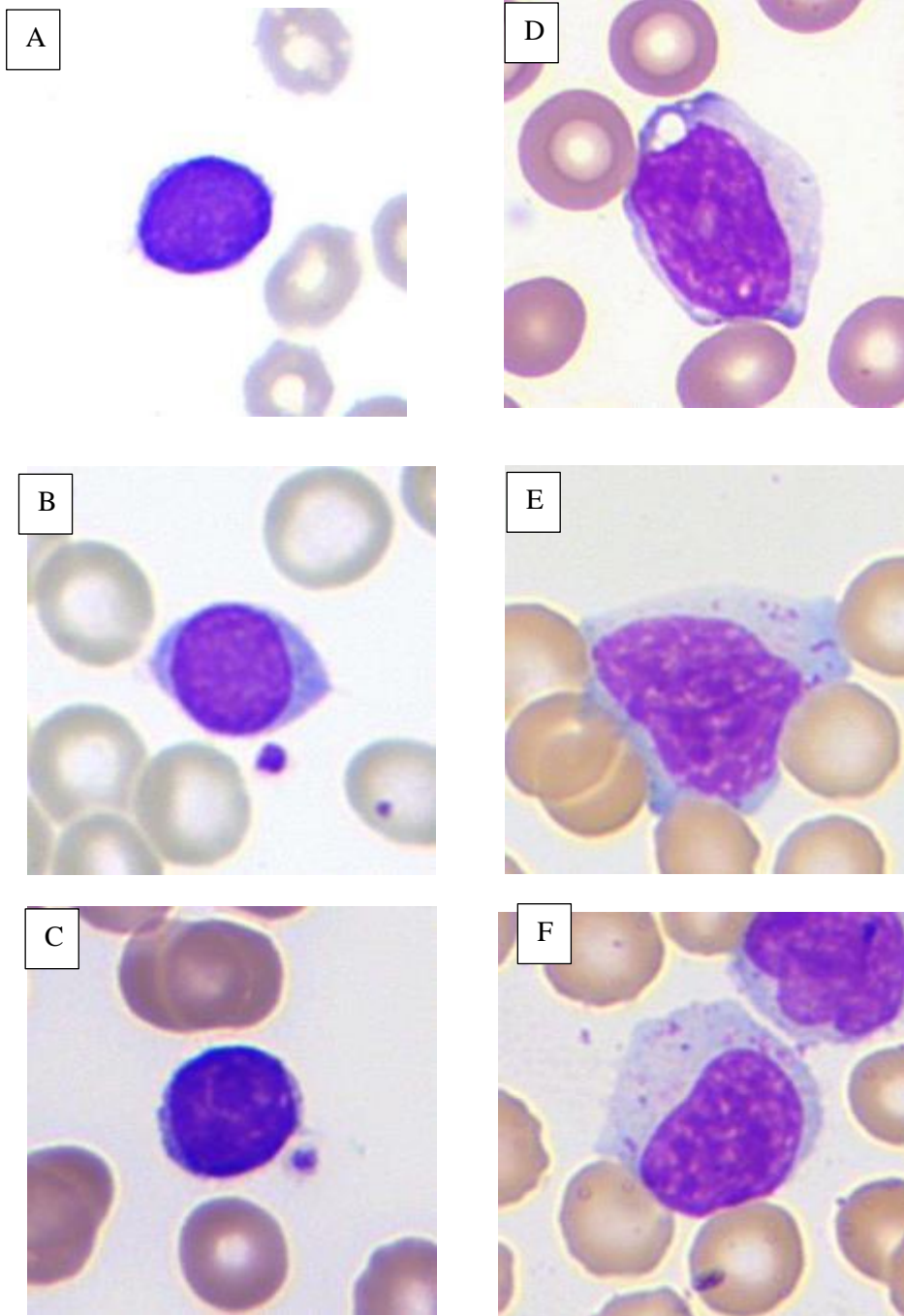
Perímetro celular		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	34.63	42.79
Mediana	33.76	42.09
Moda	31.52	39.27
Desviación Estándar	4.50	4.79
Coefficiente de variación	13%	11%

*Nota.* Se muestra los resultados del Perímetro celular a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 34.63, 4.50 y 13% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 42.79, 4.79 y 11% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 40***Gráfica del Perímetro celular*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Perímetro celular para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de  $23.16\mu\text{m}$  y  $44.06\mu\text{m}$  respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de  $28.87\mu\text{m}$  y el valor máximo es de  $52.81\mu\text{m}$ . Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.



**Figura 41***Linfocitos normales y reactivos. Perímetro celular*

*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del perímetro celular es 23.16  $\mu\text{m}$ , 26.21  $\mu\text{m}$  y 29.13  $\mu\text{m}$  respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del perímetro celular es 43.91  $\mu\text{m}$ , 48.00  $\mu\text{m}$  y 52.82  $\mu\text{m}$  respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

Con respecto a los descriptores geométricos colorimétricos asociados a brillo, tenemos dos: brillo del núcleo y brillo del citoplasma, se pasó a analizar 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos para cada descriptor, así como la gráfica estadística y para demostrar esta diferenciación se seleccionaron imágenes de linfocitos normales y reactivos como se verá a continuación.

**Tabla 20**

*Datos analizados asociados al Brillo*

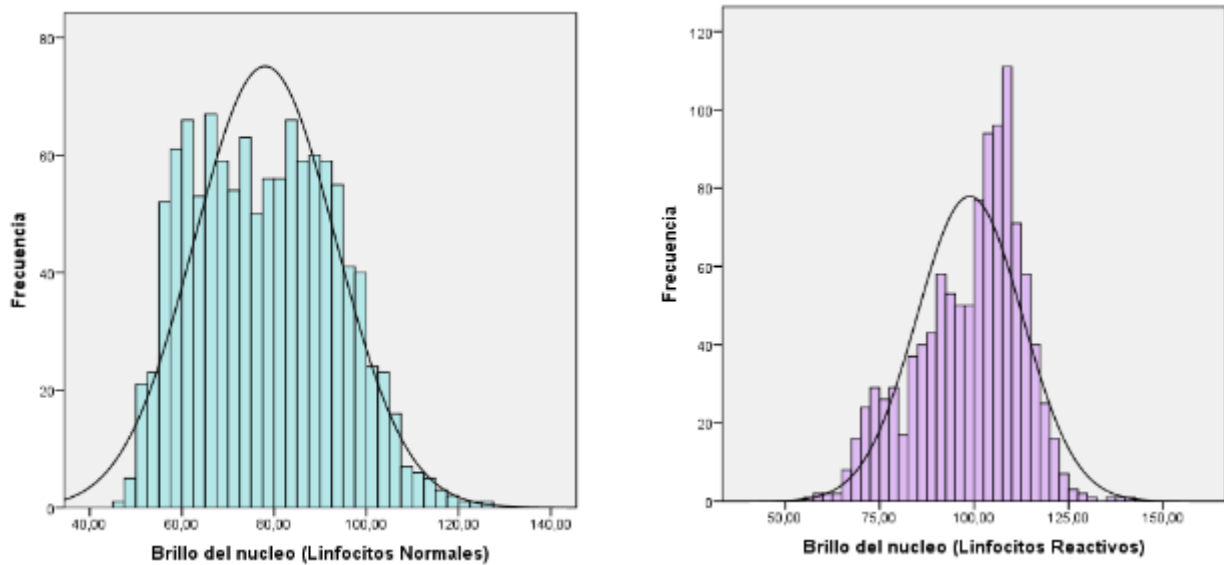
Descriptores geométricos colorimétricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Brillo del núcleo	1156	1091
Brillo del citoplasma	1156	1091

**Tabla 21**

*Estadística descriptiva del Brillo del núcleo*

Brillo del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	78.02	98.83
Mediana	77.57	101.94
Moda	63.36	108.71
Desviación Estándar	15.34	13.96
Coefficiente de variación	19.7%	14.1%

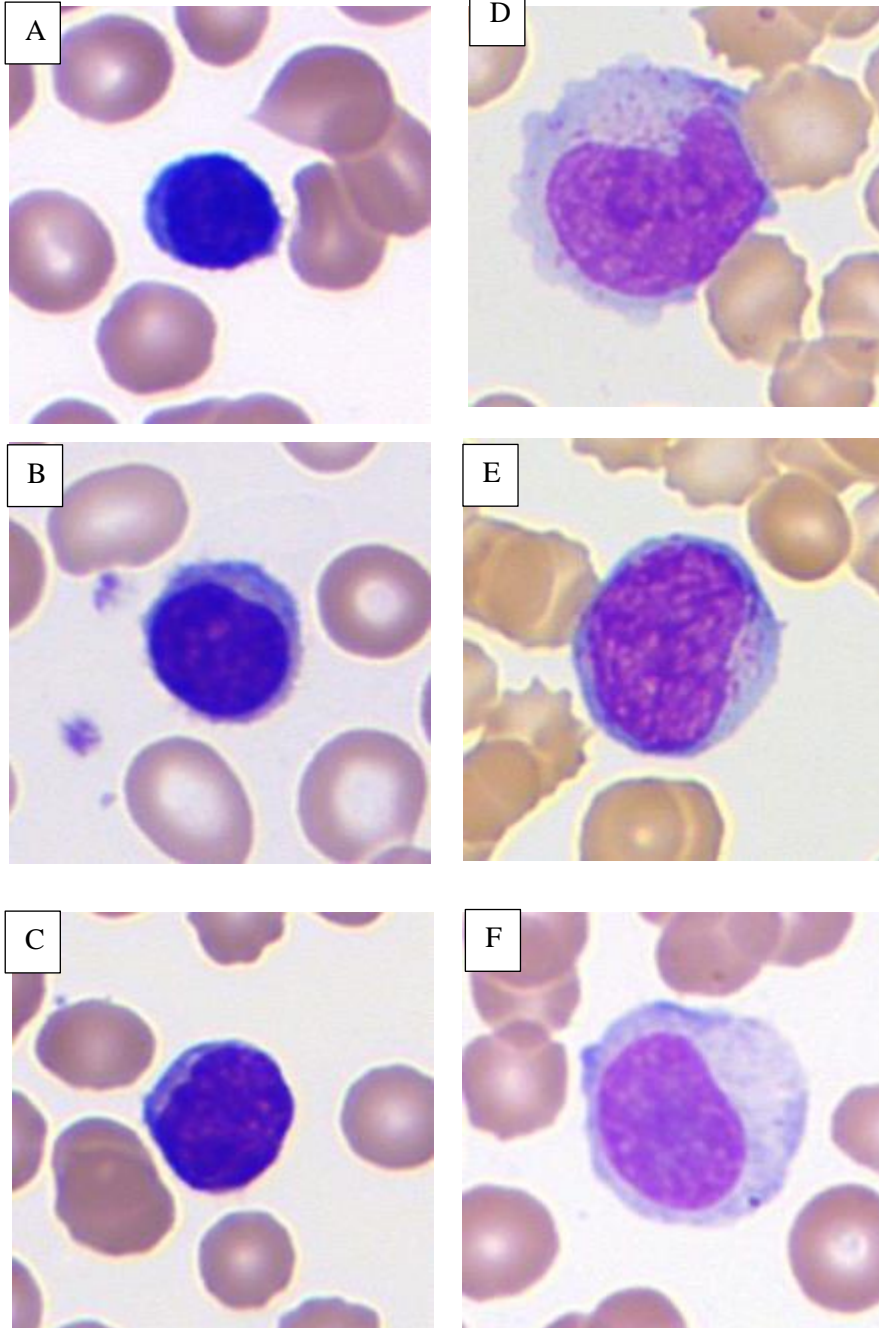
*Nota.* Se muestra los resultados del Brillo del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 78.02, 15.34 y 19.7% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 98.83, 13.96 y 14.1% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 42***Gráfica del Brillo del núcleo*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Brillo del núcleo para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 45.14 y 127.21 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 56 y el valor máximo es de 141.19. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 43**

*Linfocitos normales y reactivos. Brillo del núcleo*

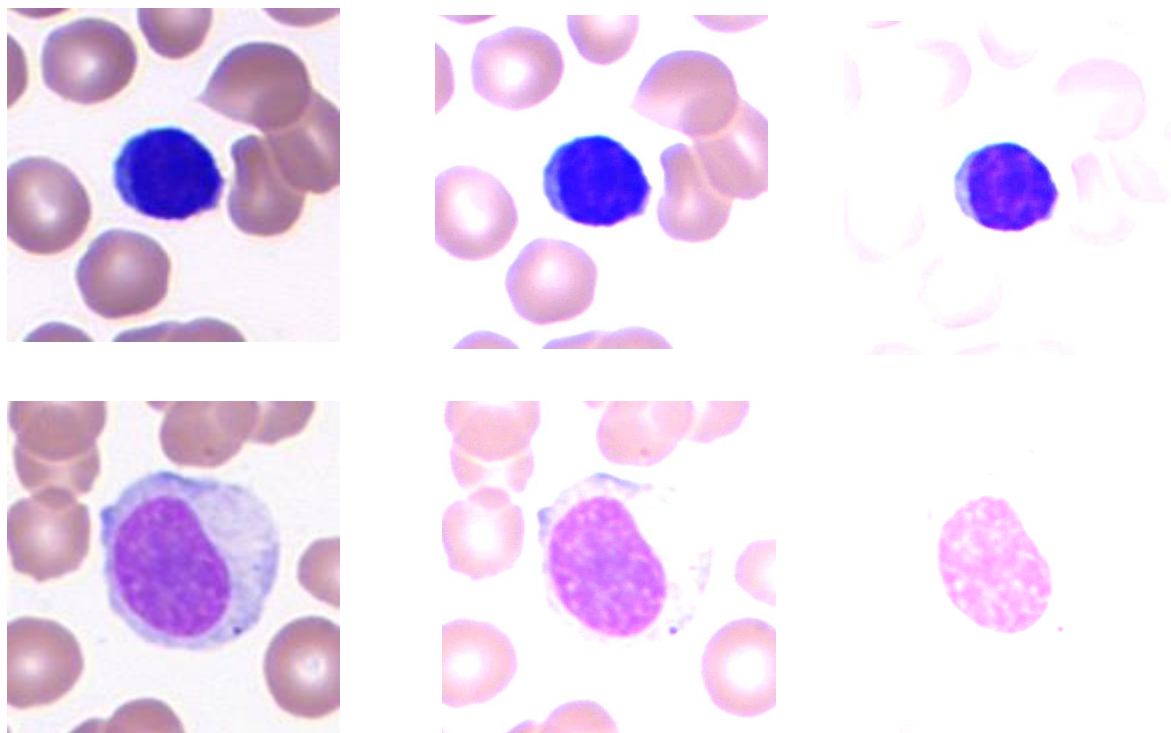


*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del brillo del núcleo es 55.01, 58.13 y 63.98 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del brillo del núcleo es 112.05, 122.38 y 128.14 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

A continuación, se muestra de manera didáctica, la diferencia del brillo del núcleo de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. Se analizó con diferentes grados de brillo en las imágenes para ver dicha variación.

#### **Figura 44**

*Linfocitos normales y reactivos diferenciación en el brillo del núcleo*

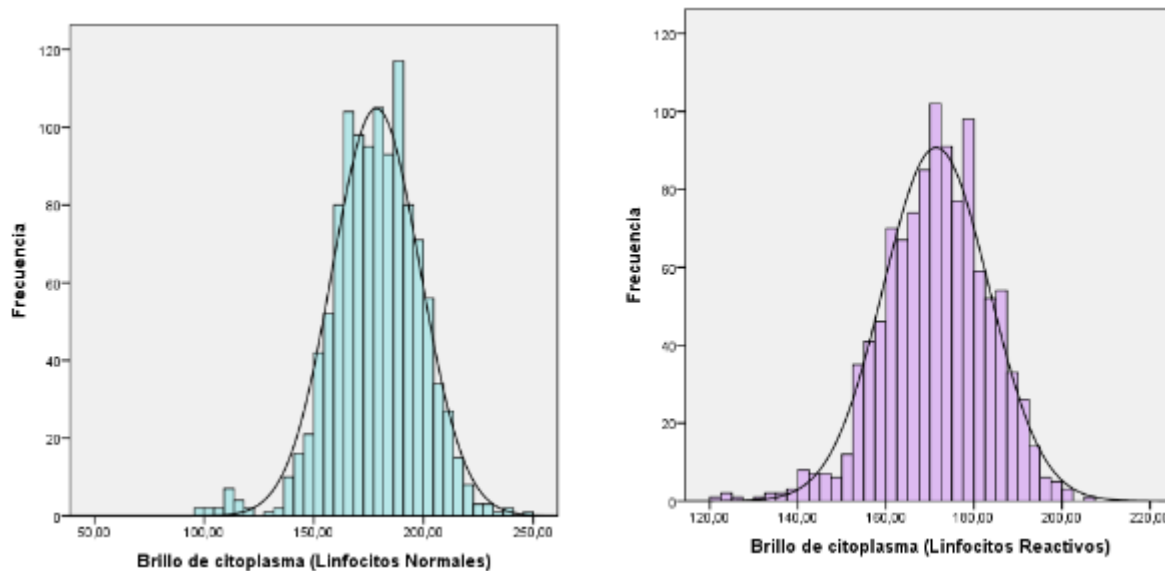


*Nota.* En la fila de arriba en la parte superior izquierda se observa a un linfocito normal cuyo valor numérico del brillo del núcleo es de 55.01, se seleccionó la imagen original y se trabajó con diferentes tonos de brillo, como se puede ver en las dos imágenes de la parte superior derecha. En la fila de abajo, en la parte inferior izquierda se tiene a un linfocito reactivo cuyo valor del brillo del núcleo es de 128.14. Se puede observar que, en el caso del linfocito reactivo a más brillo en la imagen, el núcleo se va poniendo más blanco, caso contrario con el linfocito normal que el núcleo no se torna a más blanco con más brillo. Esto se debe a la composición y morfología del núcleo en ambos casos. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

**Tabla 22***Estadística descriptiva del Brillo del citoplasma*

Brillo del citoplasma		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	178.44	171.39
Mediana	178.96	171.85
Moda	178.95	161.86
Desviación Estándar	19.98	11.98
Coefficiente de variación	11.2%	7%

*Nota.* Se muestra los resultados del Brillo del citoplasma a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 178.44, 19.98 y 11.2% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 171.39, 11.98 y 7% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

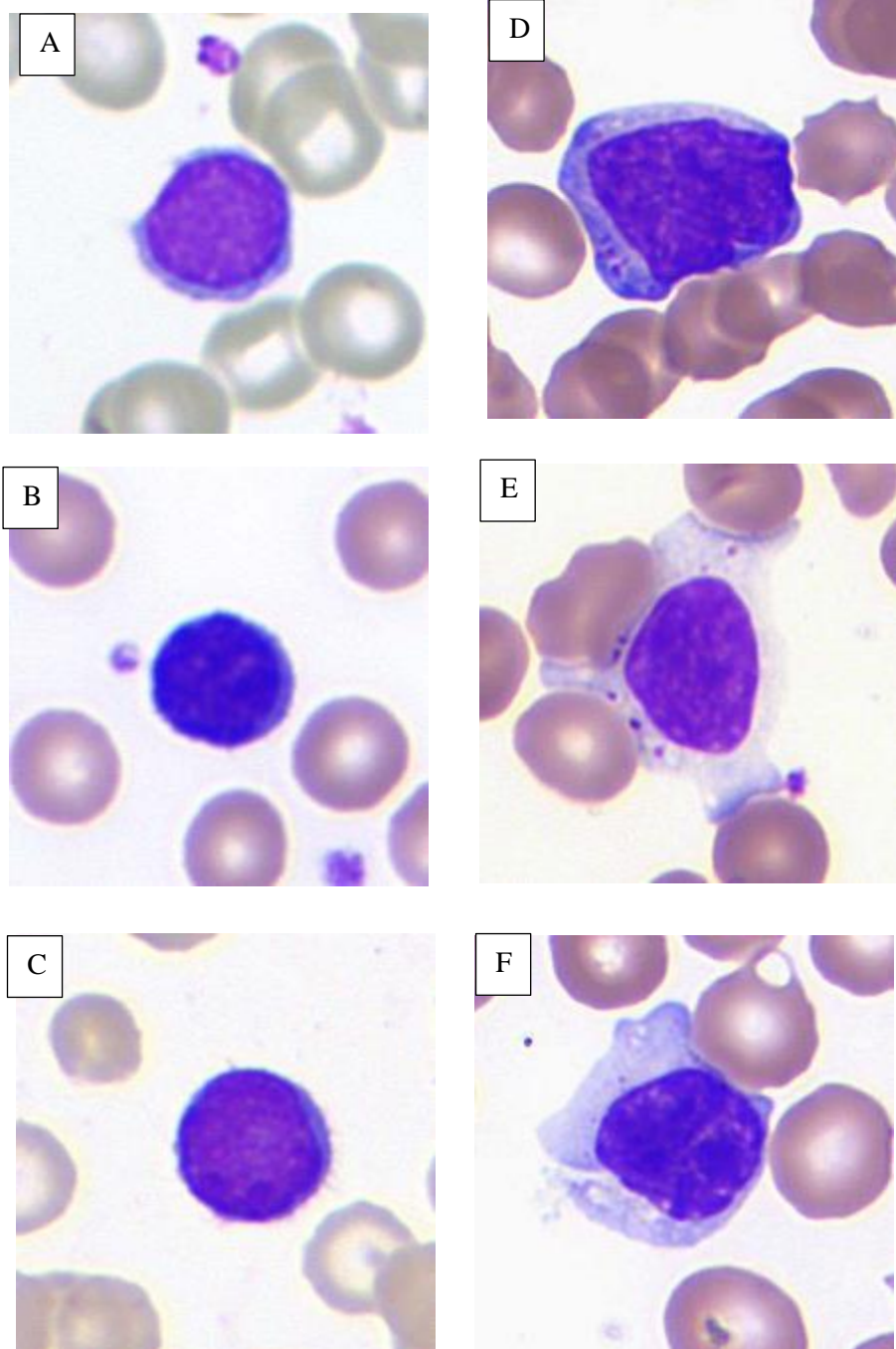
**Figura 45***Gráfica del Brillo del citoplasma*

*Nota.* Se muestra la distribución de los datos del Brillo del citoplasma para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 98.64 y 248.37 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 122.08 y el valor máximo es de 206.46. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una menor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia



**Figura 46**

*Linfocitos normales y reactivos. Brillo del citoplasma*



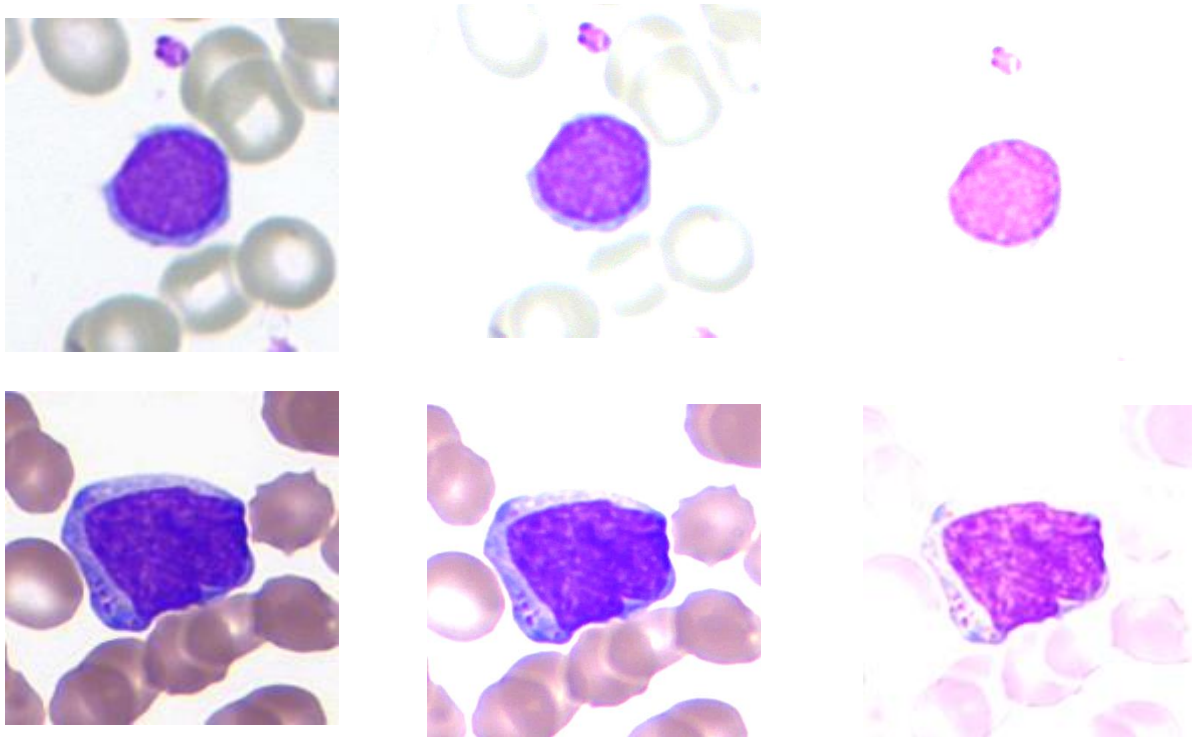
*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico del brillo del citoplasma es 209.95, 215.05 y 228.75 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico del brillo del citoplasma es 140.64, 147.14 y 162.97 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)



A continuación, se muestra de manera didáctica, la diferencia del brillo del citoplasma de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales. Se analizó con diferentes grados de brillo en las imágenes para ver dicha variación.

**Figura 47**

*Linfocitos normales y reactivos, diferenciación del Brillo del citoplasma*



*Nota.* En la fila de arriba se muestra a un linfocito normal cuyo valor numérico del brillo del citoplasma es de 209.95 y en la fila de abajo se muestra a un linfocito reactivo cuyo valor del brillo del citoplasma es de 140.64. Se ha trabajado de manera demostrativa con diferentes tonos de brillo y contraste, para demostrar la diferencia en el brillo del citoplasma. Mientras mayor brillo tenga la imagen, el citoplasma se va volviendo de color blanco, en el caso del linfocito normal, la imagen de la parte superior derecha, ya no se logra percibirse el citoplasma. Esto se debe a los componentes colorimétricos que forman el citoplasma de un linfocito normal con respecto a un linfocito reactivo, donde sucede todo lo contrario.

Con respecto a los descriptores geométricos colorimétricos relacionados a la Densidad Óptica tenemos dos: Densidad óptica del núcleo y Densidad óptica del citoplasma, se trabajó 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos para poder observar la diferencia a nivel gráfico y a nivel numérico, se seleccionaron imágenes de linfocitos normales y reactivos para observar de manera didáctica la diferencia de este descriptor.

**Tabla 23**

*Datos analizados asociados a la Densidad Óptica*

Descriptores geométricos colorimétricos	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Densidad óptica del núcleo	1156	1091
Densidad óptica del citoplasma	1156	1091

**Tabla 24**

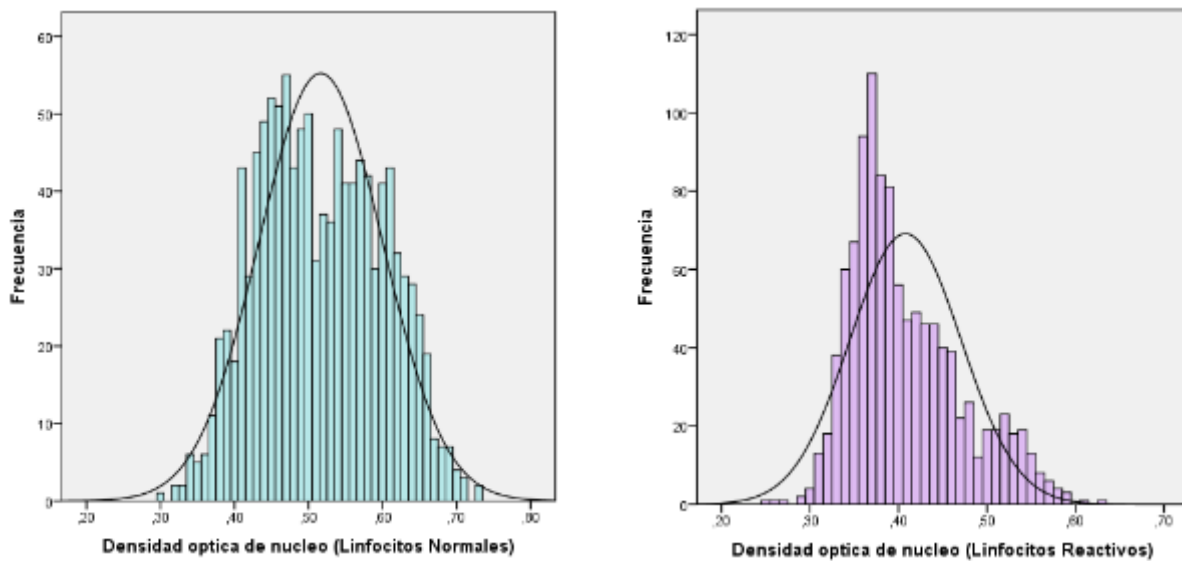
*Estadística descriptiva de la Densidad óptica del núcleo*

Densidad óptica del núcleo		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	0.51	0.40
Mediana	0.51	0.39
Moda	0.47	0.37
Desviación Estándar	0.08	0.06
Coefficiente de variación	16%	15%

*Nota.* Se muestra los resultados de la Densidad óptica del núcleo a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 0.51, 0.08 y 16% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 0.40, 0.06 y 15% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 48**

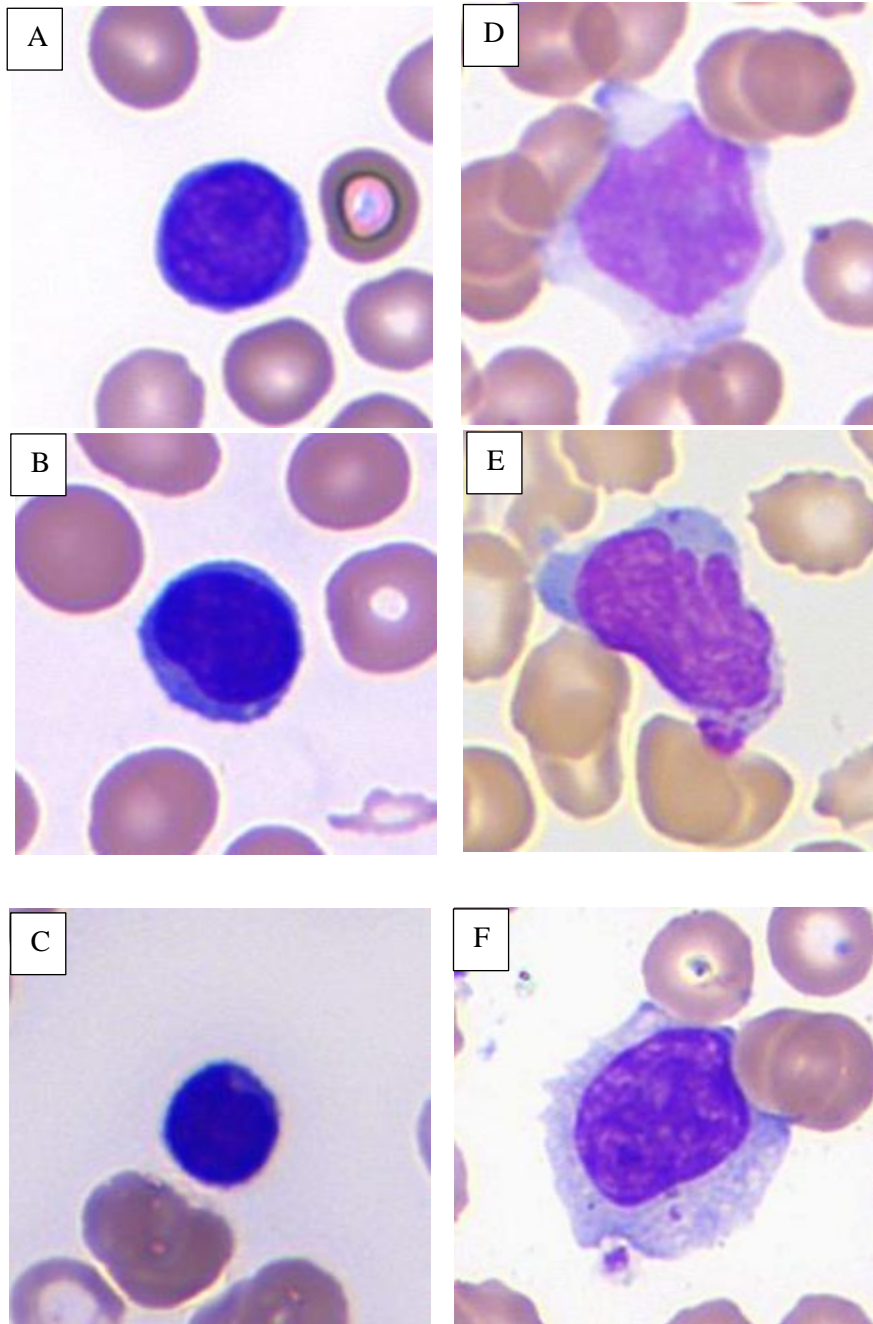
*Gráfica de la Densidad óptica del núcleo*



*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Densidad óptica del núcleo para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 0.30 y 0.73 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 0.25 y el valor máximo es de 0.63. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una menor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia.

**Figura 49**

*Linfocitos normales y reactivos. Densidad óptica del núcleo*

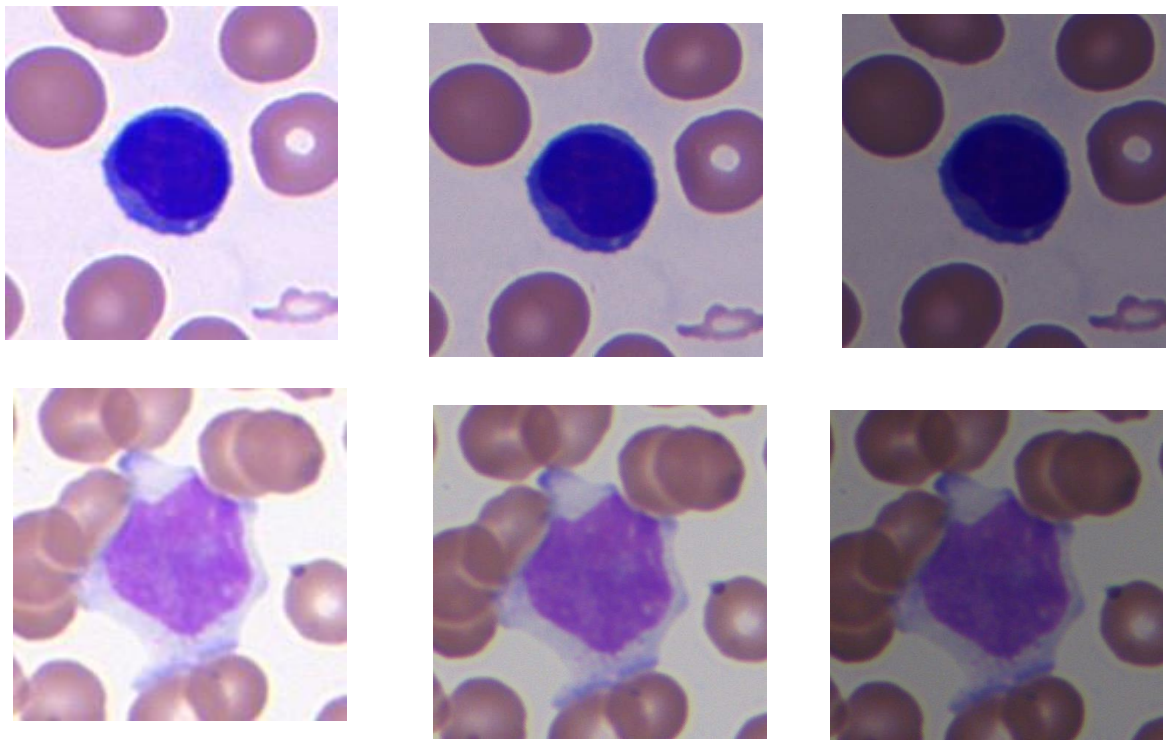


*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la densidad óptica del núcleo es 0.54, 0.65 y 0.73 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la densidad óptica del núcleo es 0.25, 0.40 y 0.45 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)

De manera didáctica se presentan las siguientes imágenes para ver la diferencia a nivel de la densidad óptica del núcleo, tanto para linfocitos normales y linfocitos reactivos.

**Figura 50**

*Linfocitos normales y reactivos. Diferenciación de la densidad óptica del núcleo*



*Nota.* Se observa en la imagen de arriba a un linfocito normal cuyo valor numérico de la densidad óptica del núcleo es de 0.65 y en la parte inferior a un linfocito reactivo cuyo valor numérico de la densidad óptica del núcleo es de 0.25. Las imágenes fueron tratadas con menos grado de brillo y contraste para así poder demostrar que a mayor valor numérico de la densidad óptica del núcleo, se produce un ennegrecimiento del núcleo, como se observa en el caso del linfocito normal, mientras que en caso del linfocito reactivo no ocurre de manera significativa. Esto se debe a los componentes del núcleo.

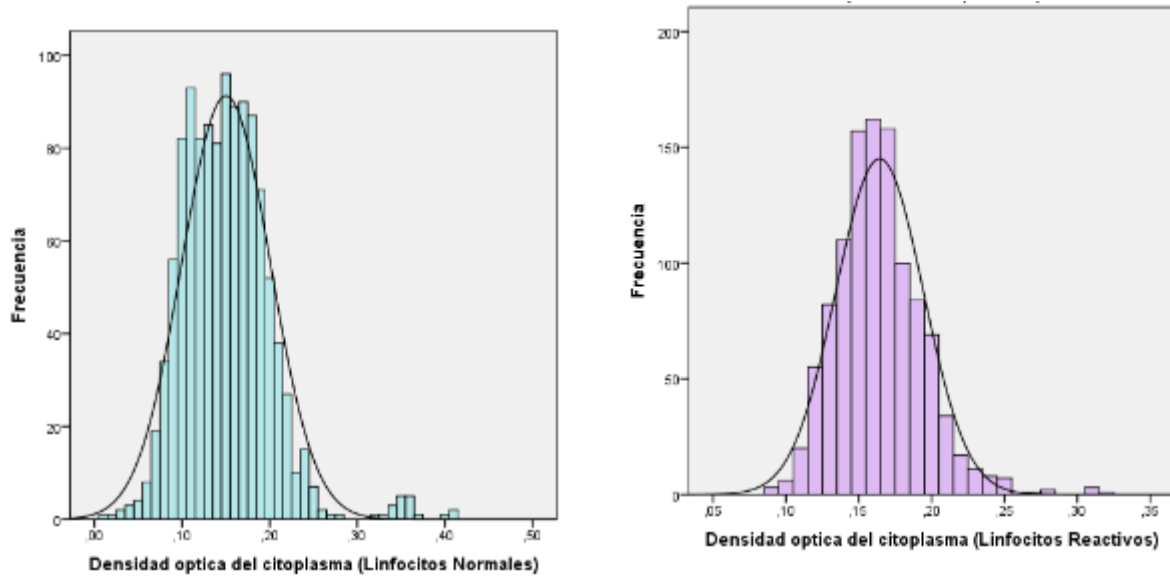
**Tabla 25***Estadística descriptiva de la Densidad óptica del citoplasma*

Densidad óptica del citoplasma		
Estadística descriptiva	Linfocitos normales	Linfocitos reactivos
Media	0.15	0.16
Mediana	0.15	0.16
Moda	0.15	0.16
Desviación Estándar	0.05	0.03
Coefficiente de variación	34%	18%

*Nota.* Se muestra los resultados de la Densidad óptica del citoplasma a partir de 1156 linfocitos normales y 1091 linfocitos reactivos analizados, se observa la variación numérica en media, desviación estándar y en el coeficiente de variación, los cuales son 0.15, 0.05 y 34% respectivamente en el caso de linfocitos normales y 0.16, 0.03 y 18% respectivamente en el caso de linfocitos reactivos. **Fuente:** Elaboración propia

**Figura 51**

*Gráfica de la Densidad óptica del citoplasma*

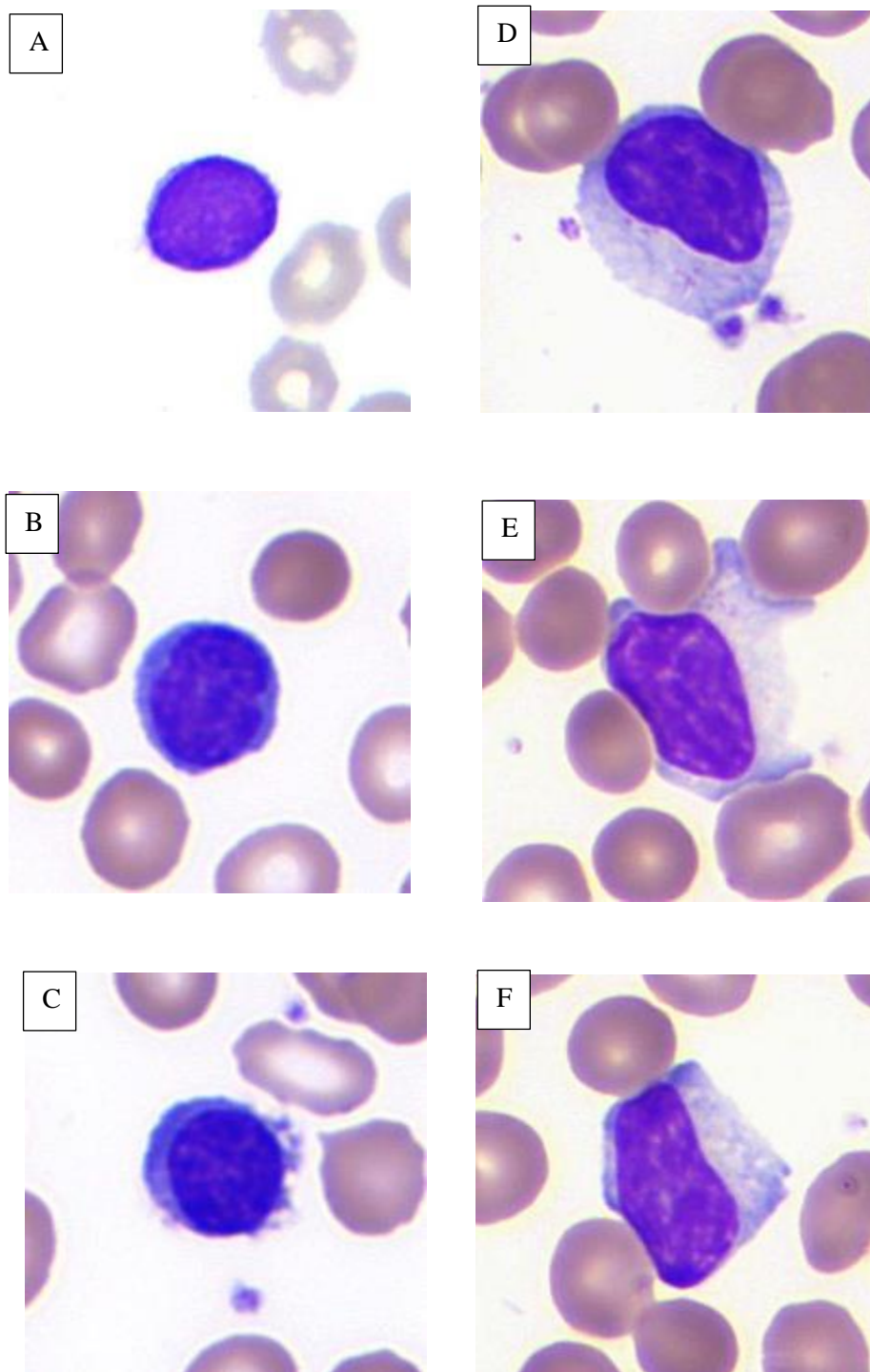


*Nota.* Se muestra la distribución de los datos de la Densidad óptica del citoplasma para linfocitos normales y reactivos, se observa que para el caso de linfocitos normales el valor mínimo y máximo es de 0.01 y 0.41 respectivamente, mientras que para los linfocitos reactivos el valor mínimo es de 0.09 y el valor máximo es de 0.32. Se observa también la frecuencia y se evidencia que en el caso de los linfocitos reactivos se presentan una mayor cantidad de datos por intervalo en su distribución. Y nos muestra la curva de una distribución adecuada estadísticamente para ambos casos. **Fuente:** Elaboración propia



**Figura 52**

*Linfocitos normales y reactivos. Densidad óptica del citoplasma*



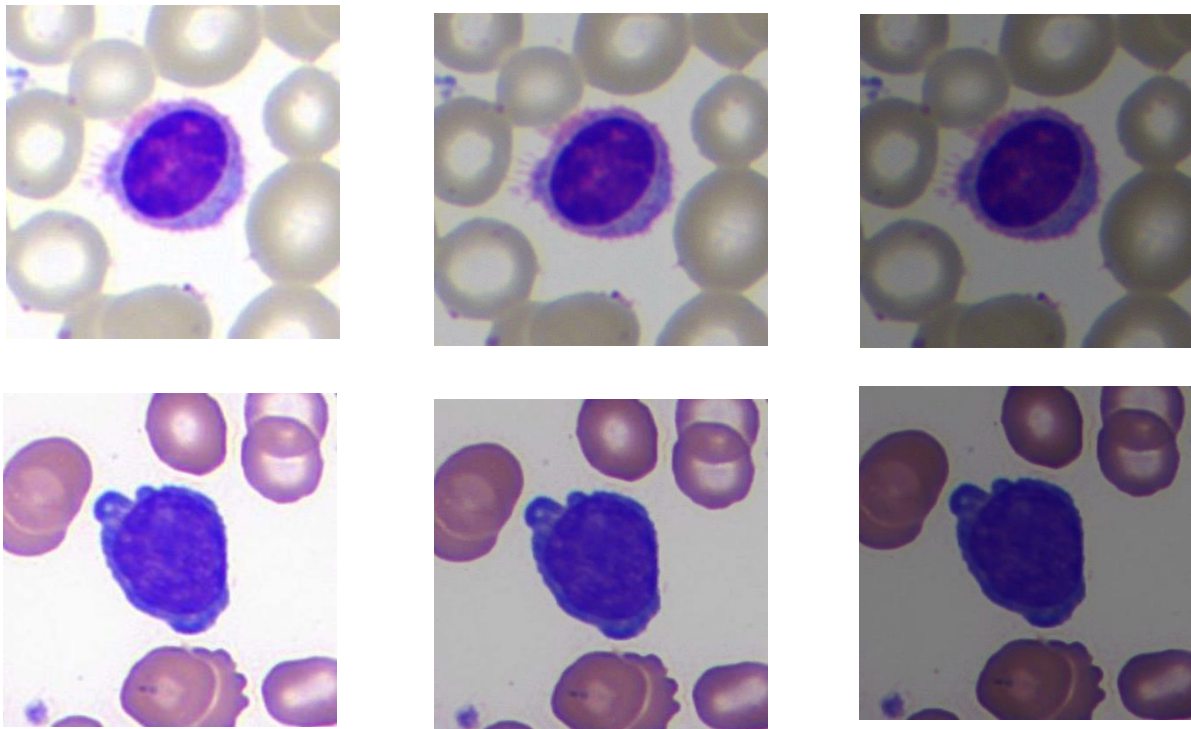
*Nota.* Se muestra a los linfocitos normales A, B, C cuyo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma es 0.01, 0.09 y 0.13 respectivamente. D, E, F son linfocitos reactivos cuyo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma es 0.20, 0.22 y 0.23 respectivamente. Estas imágenes han sido obtenidas mediante el Software VisionHema (Lima, Perú 2019)



De manera didáctica se presentan las siguientes imágenes para ver la diferencia a nivel de la densidad óptica del citoplasma, tanto para linfocitos normales y linfocitos reactivos.

### Figura 53

*Linfocitos normales y reactivos. Diferenciación densidad óptica del citoplasma*



*Nota.* En la fila de arriba se muestra a un linfocito normal cuyo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma es de 0.14, mientras que en la fila de abajo se muestra a un linfocito reactivo cuyo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma es de 0.24. Se analizaron ambas imágenes con diferentes grados de tonalidad de color, brillo y contraste para observar el cambio a nivel del citoplasma. Se observa que en el caso del linfocito normal a más oscuro el color, se sigue observando el citoplasma, mientras sucede lo contrario con el linfocito reactivo, a más oscuro, el citoplasma se va oscureciendo, esto se debe a los componentes del citoplasma para cada caso.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A partir de los hallazgos encontrados, aceptamos la hipótesis estableciendo que la caracterización de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos presentan diferencias con respecto a los linfocitos normales así mismo se establece que la evidente diferenciación morfológica de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales pueden ser demostrables numéricamente, teniendo como base de datos los frotices de sangre periféricas de un laboratorio de hematología de un hospital general de Lima, el Hospital Nacional Arzobispo Loayza.

Al ser esta investigación un estudio pionero sobre la diferenciación a nivel citomorfológico, guarda relación con algunos trabajos como por ejemplo el estudio realizado por Hamid Jahanmenhr et al. (2007), se muestra un análisis computarizado de la evaluación morfológica de los linfocitos de tres diferentes patologías: leucemia linfocítica crónica (CLL) para observar a linfocitos pequeños, linfoma de células de manto (MCL) para observar a linfocitos medianos y leucemia prolinfocítica de células B (B-PLL) para observar linfocitos grandes, transformando datos cualitativos a cuantitativos para obtener los valores de algunos descriptores geométricos como área celular total, área del citoplasma, área nuclear, diámetro celular, perímetro celular, relación núcleo/citoplasma y relación núcleo/célula. Dicho estudio muestra la diferenciación numérica en respectivos descriptores geométricos, se usó un mínimo de 100 linfocitos por cada patología (CLL, MCL, B-PLL).

**Tabla 26**

*Comparación de datos obtenidos teniendo como base 100 linfocitos normales y 100 linfocitos reactivos.*

Descriptor geométrico	CLL		Linfocitos normales		MCL		Linfocitos reactivos		B-PLL	
	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	Media	Mediana	Media
Área total celular	78.9	82.2	84.94	89.84	136.2	136.1	139.8	144.8	172.6	175.4
Área del citoplasma	16.7	18.5	29.0	34.3	38.9	40.9	69.9	63.8	61.5	65.4
Área del núcleo	61.8	62.2	58.6	59.3	95.2	95.2	71.1	72.4	106.2	104.0
Relación Núcleo/Citoplasma	3.4	3.5	1.9	2.0	2.4	2.5	1.0	1.13	1.6	1.7
Diámetro promedio de la célula	9.2	9.3	10.2	10.1	12.2	12.2	12.6	10.4	13.6	13.8
Perímetro celular	78.3	79.5	32.6	33.4	104.1	103.2	41.9	42.4	110.5	109

*Nota.* Se observa los datos numéricos obtenidos por Hamid et al. expresados en  $\mu\text{m}^2$  y los datos obtenidos en el presente trabajo a partir de 100 células por cada patología y observamos la diferenciación numérica a nivel del área total celular, área del citoplasma, área del núcleo, relación núcleo/citoplasma, diámetro promedio de la célula y perímetro celular

Cabe mencionar que en el trabajo de Hamid et al., se diagnosticaron las patologías usando inmunofenotificación y además todos los frotices sanguíneos se analizaron en el equipo Sysmex XE2100 a diferencia del presente trabajo en el cual los frotices fueron analizados en el equipo Advia 2120, en ambos casos los frotices sí fueron teñidos de manera automatizada con la coloración May – Grunwald Giemsa y posteriormente fueron analizadas por un profesional en citología hematológica. Además, Hamid et al usó el software Visiopharm Integrator System para digitalizar las imágenes y posteriormente generar una base de datos con los resultados, en el presente trabajo se usó el software Vision Hema y en el caso del descriptor geométrico que comprende al perímetro celular se halló con la fórmula matemática usando el área celular y el radio, en el caso de Hamid et al, el valor de ese descriptor fue hallado auténticamente desde el software Visiopharm.

Se compara el presente trabajo con el de Hamid et al, en esencia, para observar la morfología de las células estudiadas, así como su variación y su valor a nivel numérico con respecto a los descriptores mencionados.

Con respecto al estudio de Alférez (2015), el presente trabajo se diferencia principalmente porque no tiene como objetivo buscar una metodología para la clasificación automática de células con características normales y anormales. Alférez (2015) desarrolla una metodología en la cual utiliza una base de datos conformado por células netamente patológicas y luego ensaya esa metodología usando células de pacientes en cuyo análisis de sangre periférica se encuentra las células usadas en el desarrollo de la metodología buscando así su eficiencia, exactitud y eficacia en la clasificación de células entre ellas los linfocitos normales, leucemia de células pilosas (HCL) y leucemia linfocítica crónica (CLL). Así mismo, Alférez (2015) utiliza varios parámetros para una posterior agrupación de células, dichos parámetros están relacionados con geometría, textura, intensidad de basofilia y perfil externo del citoplasma a diferencia del presente trabajo que en esencia presenta descriptores geométricos.

El estudio presentado por Rarís (2017) se centra en el análisis de imágenes de células leucémicas de sangre periférica obtenidas por microscopía óptica para que posteriormente realizar una clasificación en grupos celulares que corresponden a patologías hematológicas, principalmente se centra en la implementación de un algoritmo utilizando el software Matlab. Rarís nos presenta un estudio sobre la obtención de los descriptores y la segmentación de las células a estudiar, dicho estudio se diferencia con el de Rarís ya que nuestro objetivo no es presentar o implementar un algoritmo para la clasificación de las células objetivo, sí tenemos en común los descriptores geométricos, más no la implementación ni clasificación de las células a raíz de un algoritmo.

Piugví (2019) obtiene más de 2000 descriptores, entre ellos los descriptores geométricos, colorimétricos, granulorimétricos y de textura. Teniendo en común los descriptores geométricos estudiados también en el presente trabajo, para la clasificación de linfocitos alterados morfológicamente que corresponden a ciertas patologías. Piugví realiza un estudio comparativo, no sólo con los descriptores geométricos, él implementa otros descriptores para comparar de manera más compleja las células de su estudio. En el presente trabajo sólo se ha utilizado descriptores geométricos y un par de descriptores colorimétricos, para comparar tantos linfocitos normales como linfocitos reactivos y no otras células ni presentar sus patologías.

A diferencia de los trabajos mencionados, en el presente estudio se tomó directamente los linfocitos reactivos validados por un profesional con experiencia en citomorfología hematológica para que posteriormente sean analizadas, sin tomar en cuenta la historia clínica del paciente, ni las patologías de procedencia. Resaltamos aquí la experticia de los profesionales tecnólogos médicos dedicados a la Hematología. Así mismo en el presente estudio se ha utilizado el software Vision Hema, a diferencia de Hamid et al que utilizó el software Visiopharm Integrated System y Alférez que utilizó el CellaVision DM 96, Rarís que

utilizó el MatLab y Piugví que utilizó al igual que Alférez el CellaVision DM 96, cada software tiene sus propias y diferentes características técnicas.

## VI. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron las características de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos usando un sistema de hematología digital, los cuales se utilizaron para observar y demostrar las variaciones a nivel numérico tanto para linfocitos reactivos que para linfocitos normales.
- Se obtuvo la caracterización de los linfocitos reactivos usando un sistema de hematología digital, y se observó la diferenciación citomorfológica con respecto a los linfocitos normales.
- Se obtuvieron las características de los descriptores geométricos de los linfocitos reactivos y se observó la variación de éstos con respecto a los linfocitos normales y se evidenció diferencia a nivel numérico para ambos casos.
- Se obtuvieron las características de los descriptores geométricos colorimétricos de los linfocitos reactivos con respecto a los linfocitos normales, se observó la variación de dichas características y se evidenció diferencia numérica para ambos casos.
- La investigación realizada determina que sí existen diferencias citomorfológicas entre linfocitos normales y linfocitos reactivos demostrables numéricamente y estadísticamente.

## VII. RECOMENDACIONES

- Ampliar e implementar en el campo de estudio otras células encontradas en el conteo diferencial de células sanguíneas, tales como neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos para la contribución en el diagnóstico de enfermedades hematológicas.
- Implementar más descriptores asociados a otras características como el color, textura, basofilia y granulosidad entre otros.
- Utilizar las células encontradas en leucemias y otras patologías para que puedan servir como un patrón de alteración a nivel citomorfológico.
- Realizar estudios similares utilizando diversos softwares de hematología digital para observar el proceso de armonización y manejo de datos entre diferentes patentes.
- Incentivar a los profesionales de la salud dedicados al ámbito del laboratorio de hematología a la creación de una base de datos de células que de por sí presenten alteración a nivel citomorfológico para que puedan ser utilizadas para los próximos estudios e investigaciones.
- Realizar un estudio complementario usando la citometría de flujo para la diferenciación de linfocitos B y T reactivos.



## VIII. REFERENCIAS

- Alfaro, C. (2012). Metodología de investigación científica aplicado a la ingeniería. [Proyecto final de investigación]. Universidad Nacional del Callao, Lima - Perú.
- Alfárez Baquero, E. S. (2015). *Methodology for Automatic Classification of Atypical Lymphoid Cells from Peripheral Blood Cell Images*. [Tesis doctoral] , Universidad politécnica de Cataluña . <http://hdl.handle.net/10803/308328>
- Campos Vidal, B. (1997). Image analysis and definition of nuclear phenotypes. *Brazilian Journal of Genetics* 20(4),pp 12-16 . <https://doi.org/10.1590/S0100-84551997000400031>
- Campuzano, G. (2008). Utilidad del extendido de sangre periférica: Los leucocitos. *Medicina y Laboratorio Volumen 14*, pp. 411 - 455.
- Canny, J. (1986). A Computational Approach to Edge Detection. *IEEE TRANSACTIONS ON PATTERN ANALYSIS AND MACHINE INTELLIGENCE*,8(6) pp. 679 - 698.  
<https://doi.org/10.1109/TPAMI.1986.4767851>
- Chávez, A. (2001). *Introducción a la investigación educativa*. Universal.
- College of American Pathologists, C. (2019). *Hematology and Clinical Microscopy Glossary*. Northfield Illinois, USA: College of American Pathologists.
- Gonzalez, R., y Woods, R. (2008). *Digital Image Processing*. Pearson Prentice Hall.
- Hamid Jahanmenhr, S., Roggers, M., Zheng, J., Lai, R., y Wang, C. (2007). Quantitation of cytological parameters of malignant lymphocytes using computerized image analysis. *International Journal of Laboratory Hematology* 30(1), pp. 278-285.  
<https://doi.org/10.1111/j.1751-553X.2007.00952.x>
- Hernández, S., Fernández, C., y Baptista, P. (2006). *Metodología de la investigación*. McGraw-Hill.

- Hutchinson, C., Brereton, M., y Burthem, J. (2005). Digital imaging of haematological morphology. *Clinical Laboratory Haematology* 27(1),pp. 357-362.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2005.00727.x>
- Jurgen A, R. (2015). Interlaboratory Reproducibility of Blood Morphology Using the Digital Microscop. *Journal of Laboratory Automation* 20(6), pp. 670-675. <https://doi.org/10.1177/2211068215584278>
- La Rosa, D., y Orange, S. J. (2008). Lymphocytes. *Journal Allergy Clinical Immunology* 121(2),pp. 364 - 369. <https://doi.org/doi:10.1016/j.jaci.2007.06.016>
- Lim, K., Huyn, P., Jangho, K., Seonwoo, H., Pill Hoon, C., y Jon Hoong, C. (2013). Cell Image Processing Methods for Automatic Cell Pattern Recognition. *Journal of Biosystems Engineering*, pp. 55-63.
- Manascero, A. (2014). *Atlas de Hematología* . Pontificia Universidad Javeriana. .
- Manterola, C., y Otzen, T. (2014). Estudios Observacionales. Los Diseños Utilizados con Mayor Frecuencia en Investigación Clínica. *Revista Internacional de Morfología* 32(2) , pp.634-645.
- McMillan, J., y Schumacher, S. (2001). *Research in education :A conceptual introduction*. Adisson Wesley Longman.
- Michael, W. S. (2003). The Atypical Lymphocyte. *International Pediatrics* 18(1) , pp.20-21.
- Núñez, M. (2007). Las variables, estructura y función en la hipótesis . *Investigación educativa* 11(20),pp.163 - 179.
- Prinyakupt, J. (2015). Segmentation of white blood cells and comparison of cell morphology by linear and naïve Bayes classifiers. *Biomedical Engineering* 14(63),pp. 1-19.<https://doi.org/10.1186/s12938-015-0037-1>
- Puigví, F. L. (2019). *Caracterització morfològica de cèl·lules limfoides normals, reactives, anormals i blàstiques de sang perifèrica mitjançant processament digital d'imatges*.

- [Tesi presentada per obtenir el títol de “Doctora en Enginyeria Biomèdica. Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España.] <http://hdl.handle.net/2117/327400>
- Rarís, S. (2017). *Análisis de imágenes digitales de células linfoides de sangre periférica a partir de microscopía óptica*. [Trabajo de Grado en Ingeniería Biomédica. Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España.] <http://hdl.handle.net/2117/105183>
- Rodak, B., y Carr, J. (2013). *Clinical Hematology Atlas*. Elsevier Inc.
- Sadeghian, F. (2009). A Framework for White Blood Cell Segmentation in Microscopic Blood Images Using Digital Image Proce. *Biological Procedures Online* 11(1) , pp.196 - 206. [https:// 10.1007/s12575-009-9011-2](https://10.1007/s12575-009-9011-2)
- Saraswat, M., y Arya, K. V. (2014). Automated microscopic image analysis for leukocytes identification: A survey . *Micron*, pp 20-33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2014.04.001>
- Solomon, C., y Breckon, T. (2011). *Fundamentals of Digital Image Processing. A Practical Approach with Examples in Matlab*. Wiley Blackwell. .
- Terry, N., Mediaceja, O., Noa, M., y Sánchez, P. (2016). Valor semiológico del frotis de sangre periférica en el estudio de las enfermedades virales. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica* 63(3),pp.160 - 165.
- Torrens, M. (2015). Interpretación clínica del hemograma. *Revista médica clínica Las Condes - Chile* , pp.713 - 725.
- Van der Meer, W. (2007). The divergent morphological classification of variant lymphocytes in blood smears. *Journal of Clinical Pathology* 60(7), pp. 838-839.<https://doi.org/10.1136/jcp.2005.033787>
- Vision Hema, M. (2014). Sistema de Análisis Automático de la morfología del Frotis Sanguíneo Automático. *Manual de usuario*. West Medica, Perchtoldsdorf, Austria.

Wayne W, D. (2012). *Bioestadística base para el análisis de las ciencias de la salud*. Limusa Wiley.

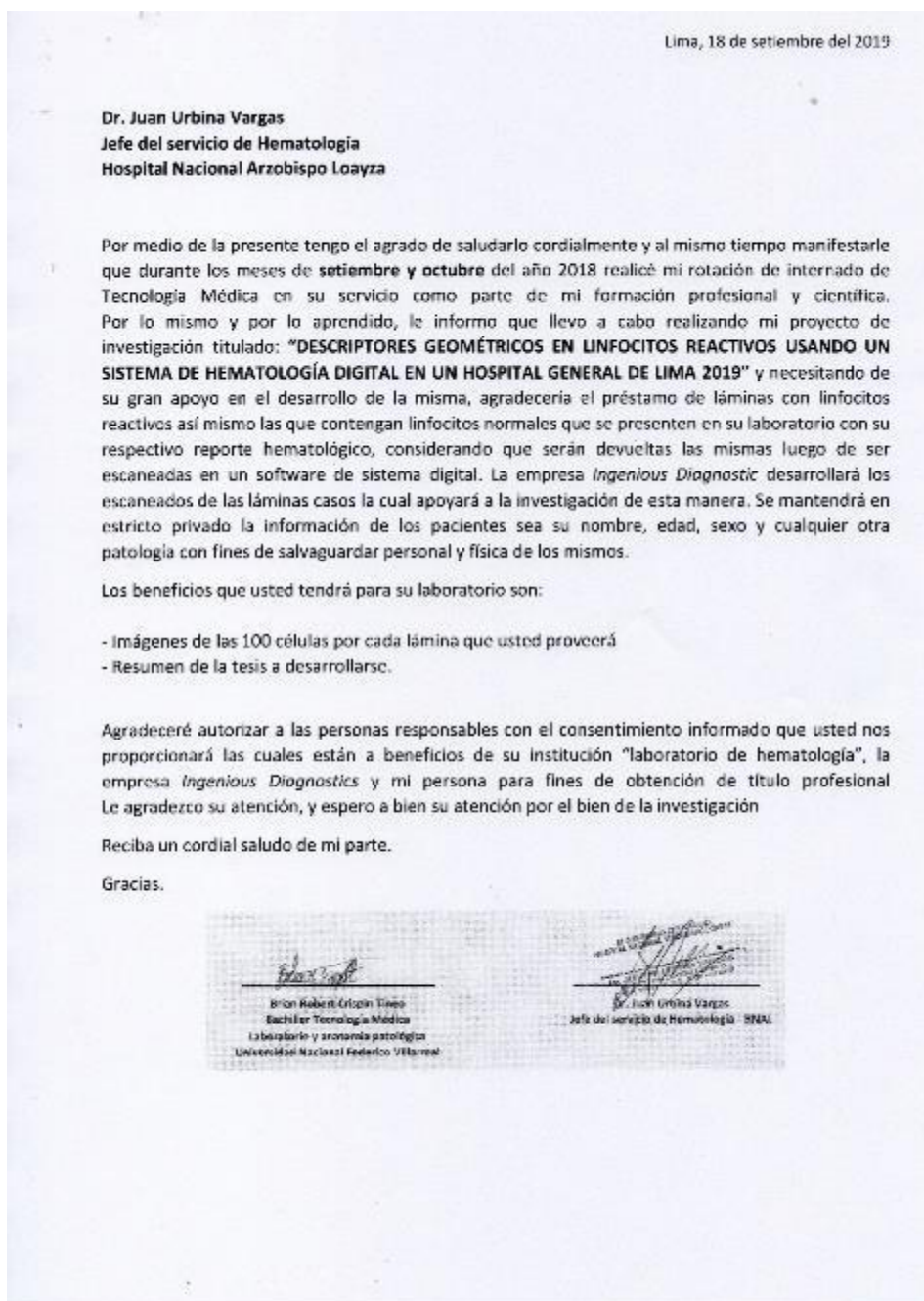
Xiaodong, C., Bin, Z., y Hong, L. (2011). Optical and digital microscopic imaging techniques and applications in pathology. *Analytical Cellular Pathology* , pp. 5-17.

<https://doi.org/10.3233/ACP-2001-0006>

## IX. ANEXOS

### Anexo A

Solicitud de prestación de láminas del servicio de Hematología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza., entendiéndose como recibida y aceptada al tener la firma del doctor Urbina.



### Anexo B

Solicitud al Dr. Paul Avelino Callupe por su conocimiento y experiencia para la validación y verificación de linfocitos reactivos.







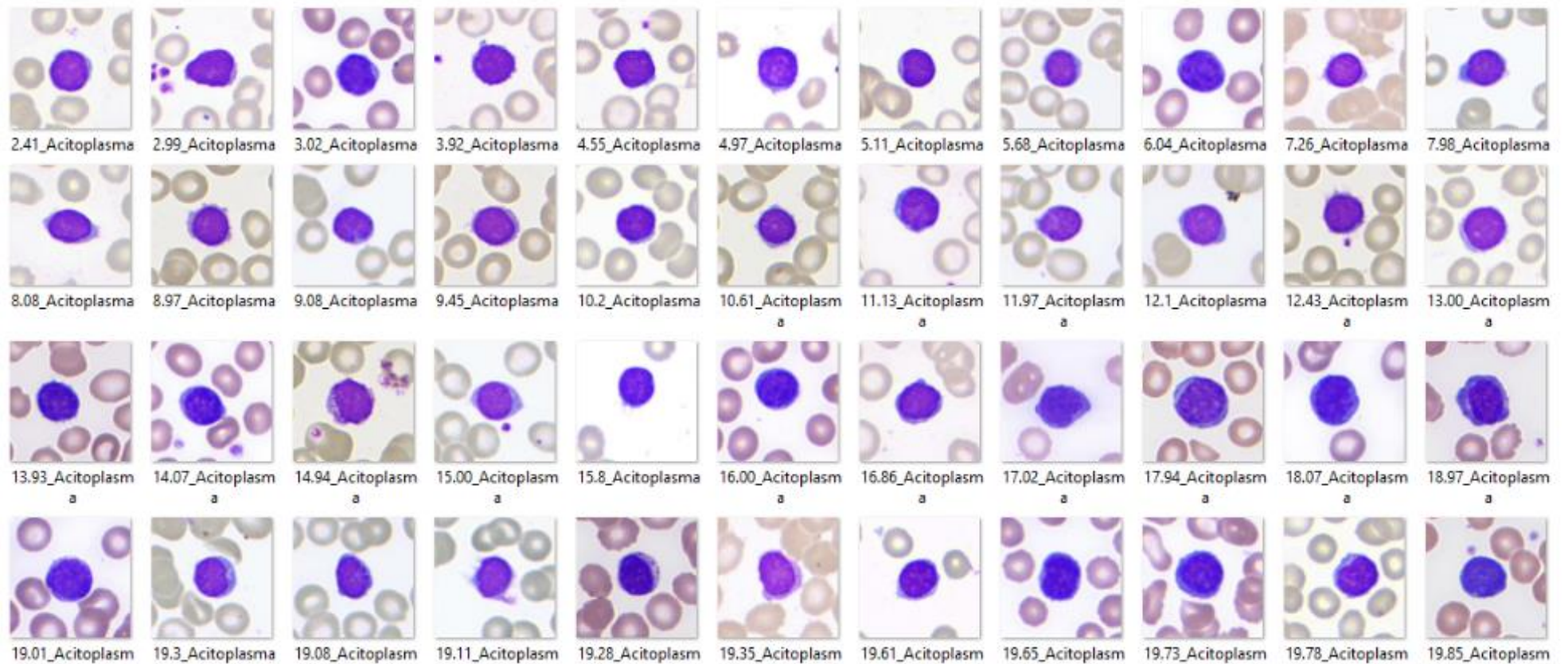




## Anexo E

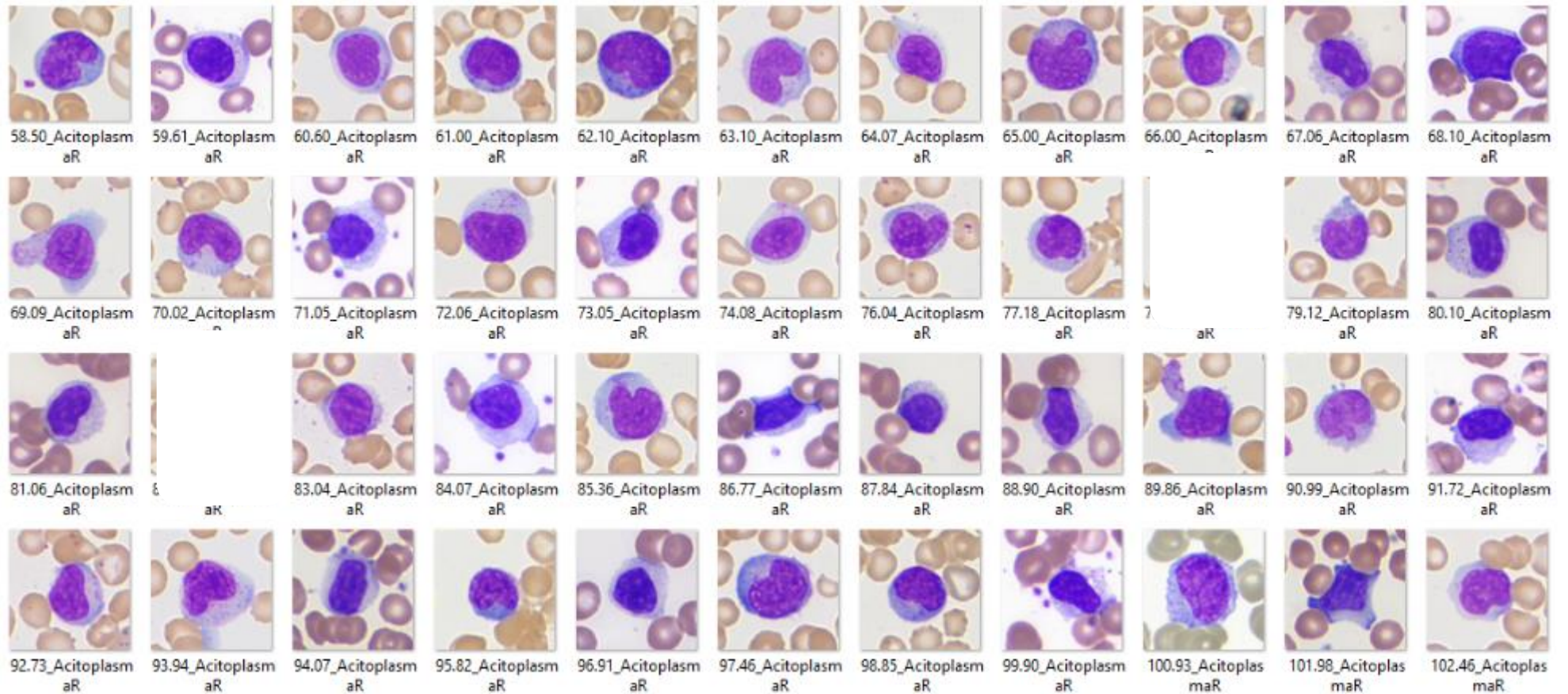
Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del Área del citoplasma expresados en  $\mu\text{m}^2$ , tomadas del software

VisionHema



**Anexo F** Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del Área del citoplasma expresados en  $\mu\text{m}^2$ , tomadas del software

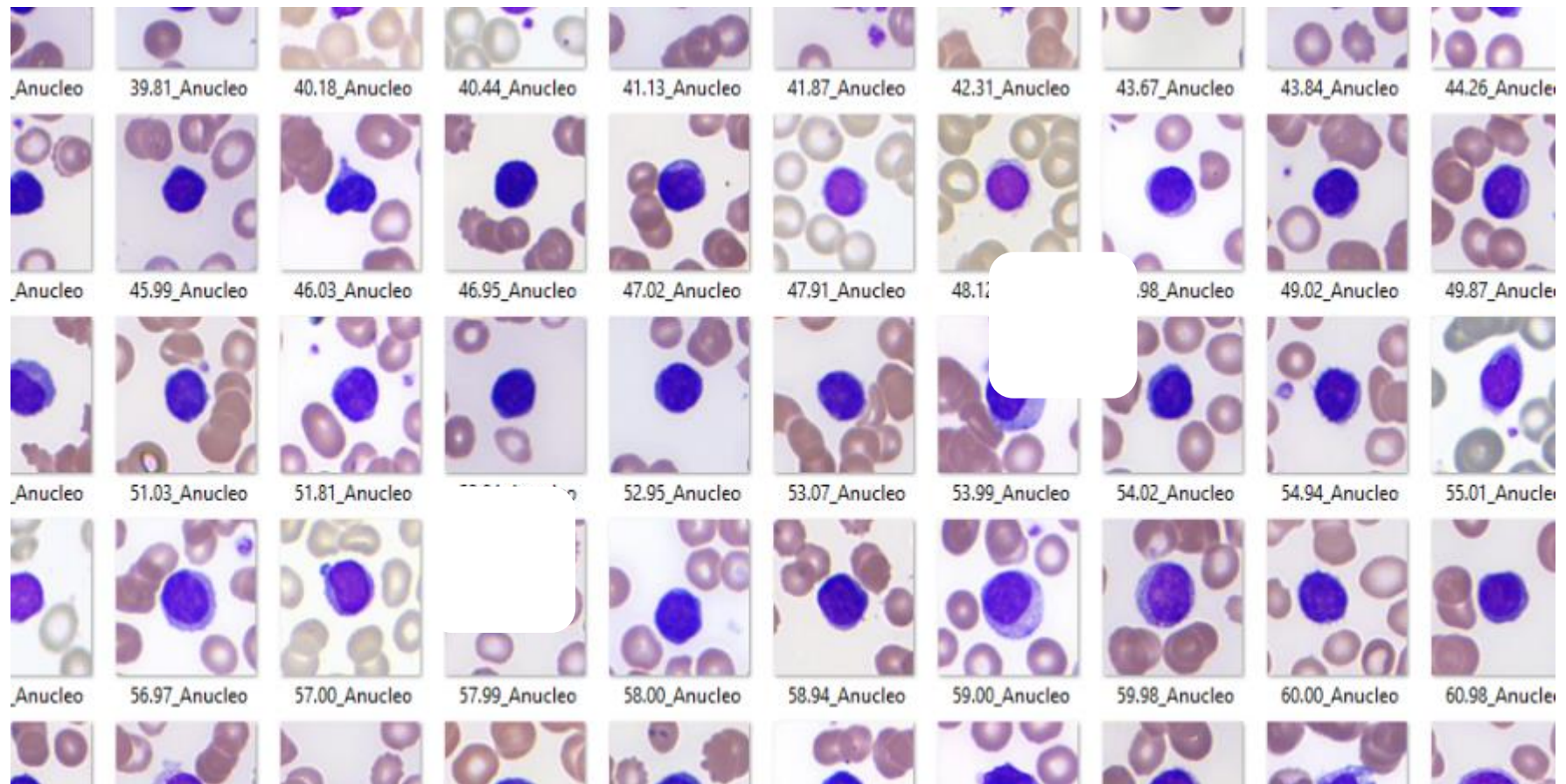
VisionHema



**Anexo G**



Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del Área del núcleo expresados en  $\mu\text{m}^2$ , tomadas del software VisionHema.

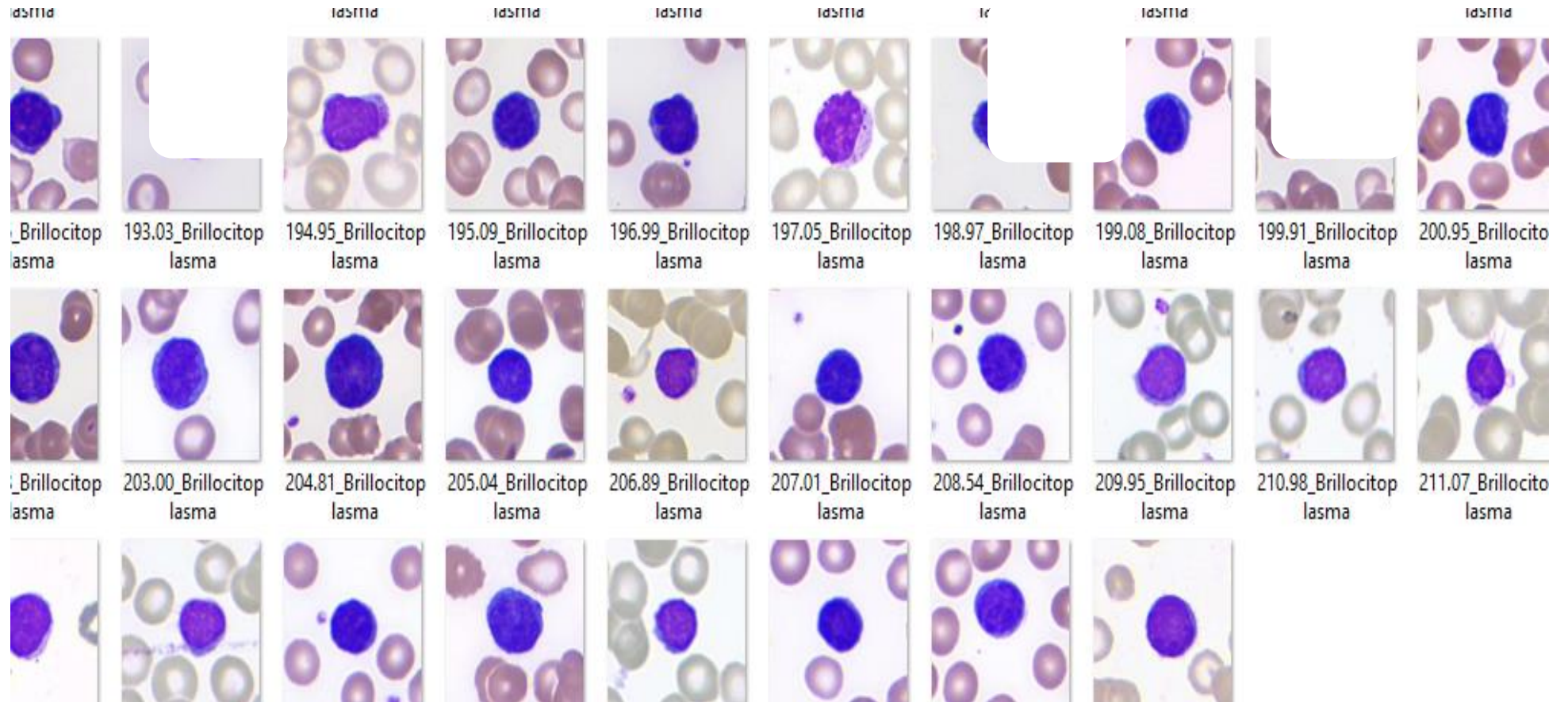






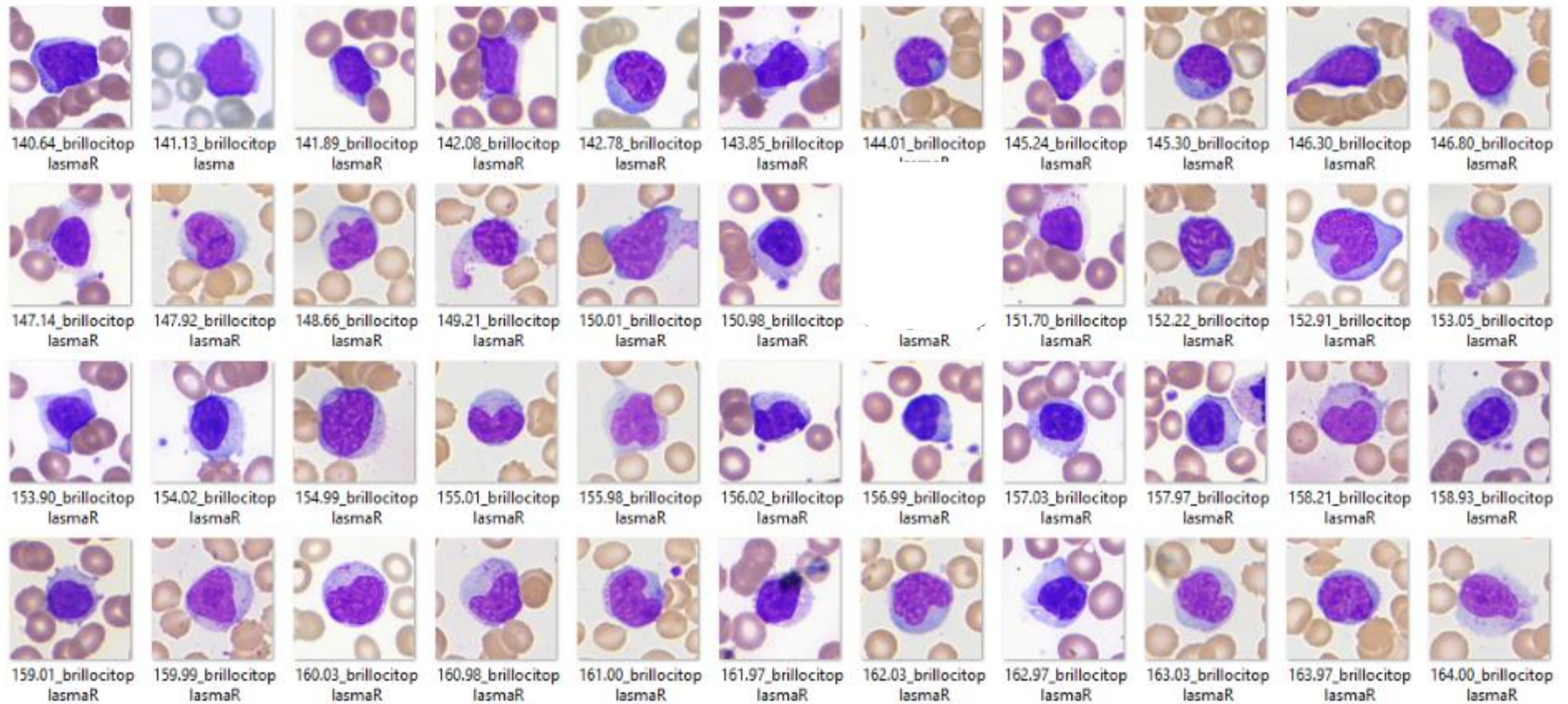
## Anexo I

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del Brillo del citoplasma, tomadas del software VisionHema



## Anexo J

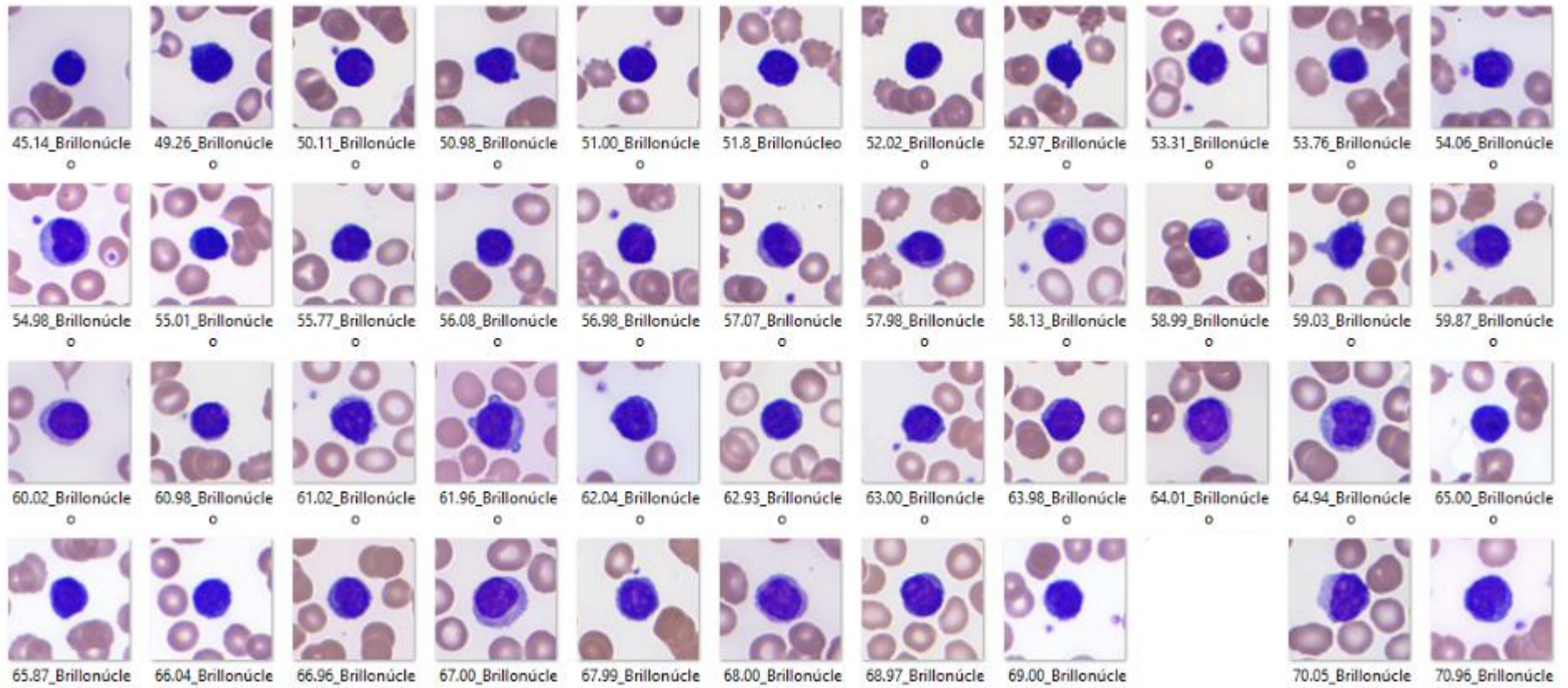
Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del Brillo del citoplasma, tomadas del software VisionHema





## Anexo K

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del Brillo del núcleo, tomadas del software VisionHema

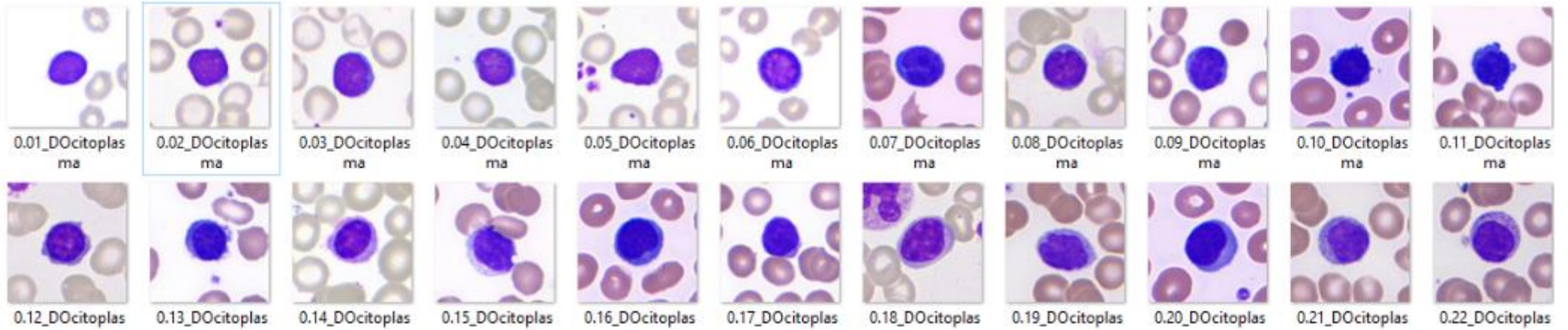






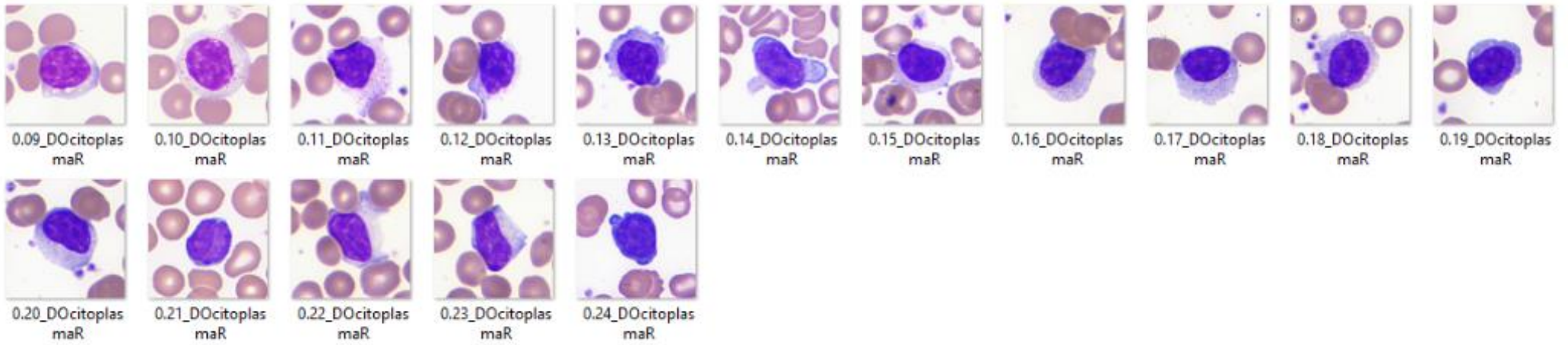
## Anexo N

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma, tomadas del software VisionHema



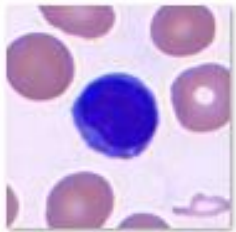
**Anexo L**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la densidad óptica del citoplasma, tomadas del software VisionHema

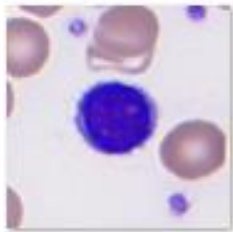


**Anexo O**

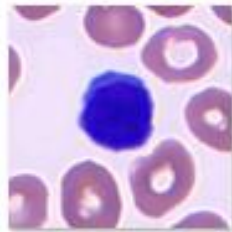
Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico de la densidad óptica del núcleo, tomadas del software VisionHema.



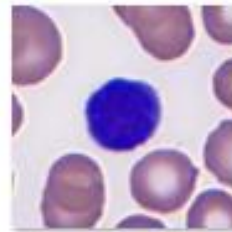
0.65\_DOnúcleo



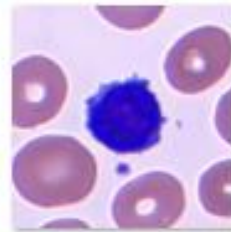
0.66\_DOnúcleo



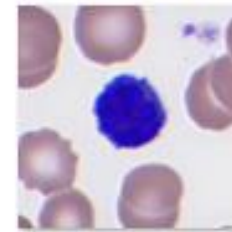
0.67\_DOnúcleo



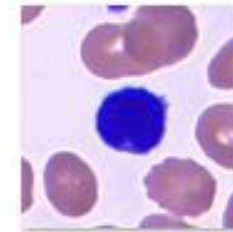
0.68\_DOnúcleo



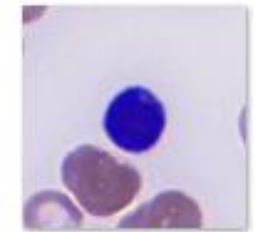
0.69\_DOnúcleo



0.70\_DOnúcleo



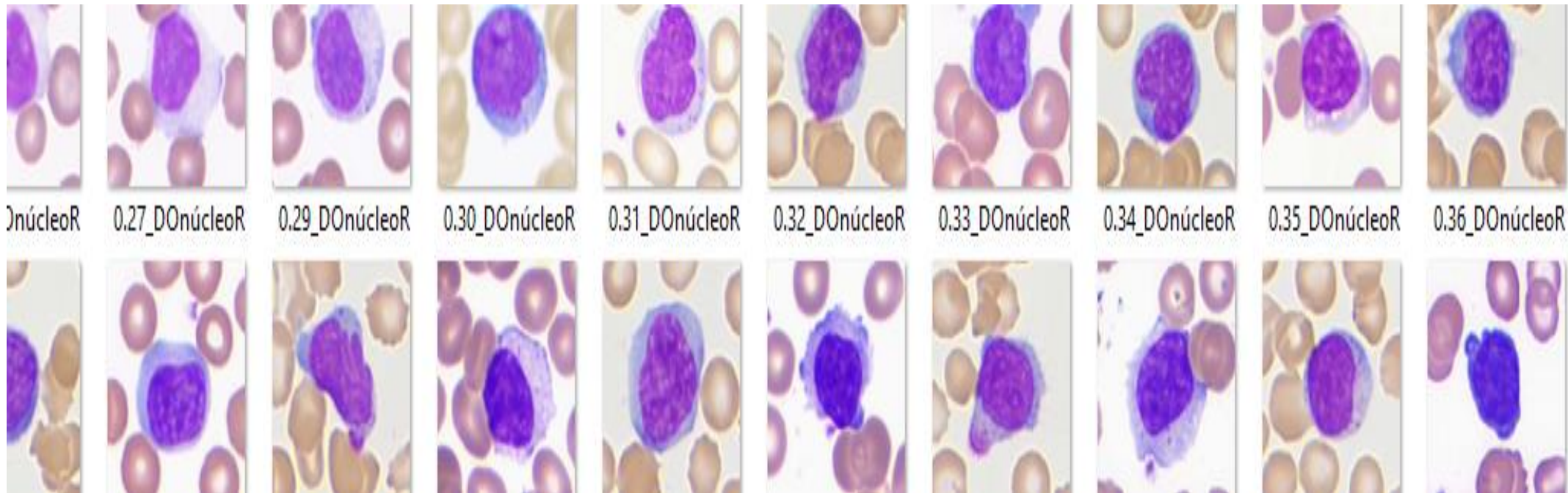
0.71\_DOnúcleo



0.73\_DOnúcleo

**Anexo P**

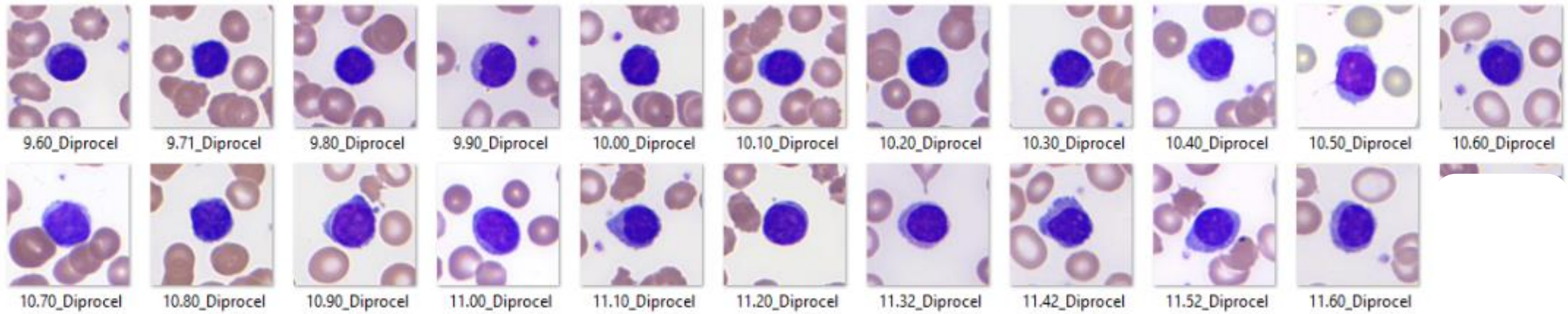
Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la densidad óptica del núcleo, tomadas del software VisionHema





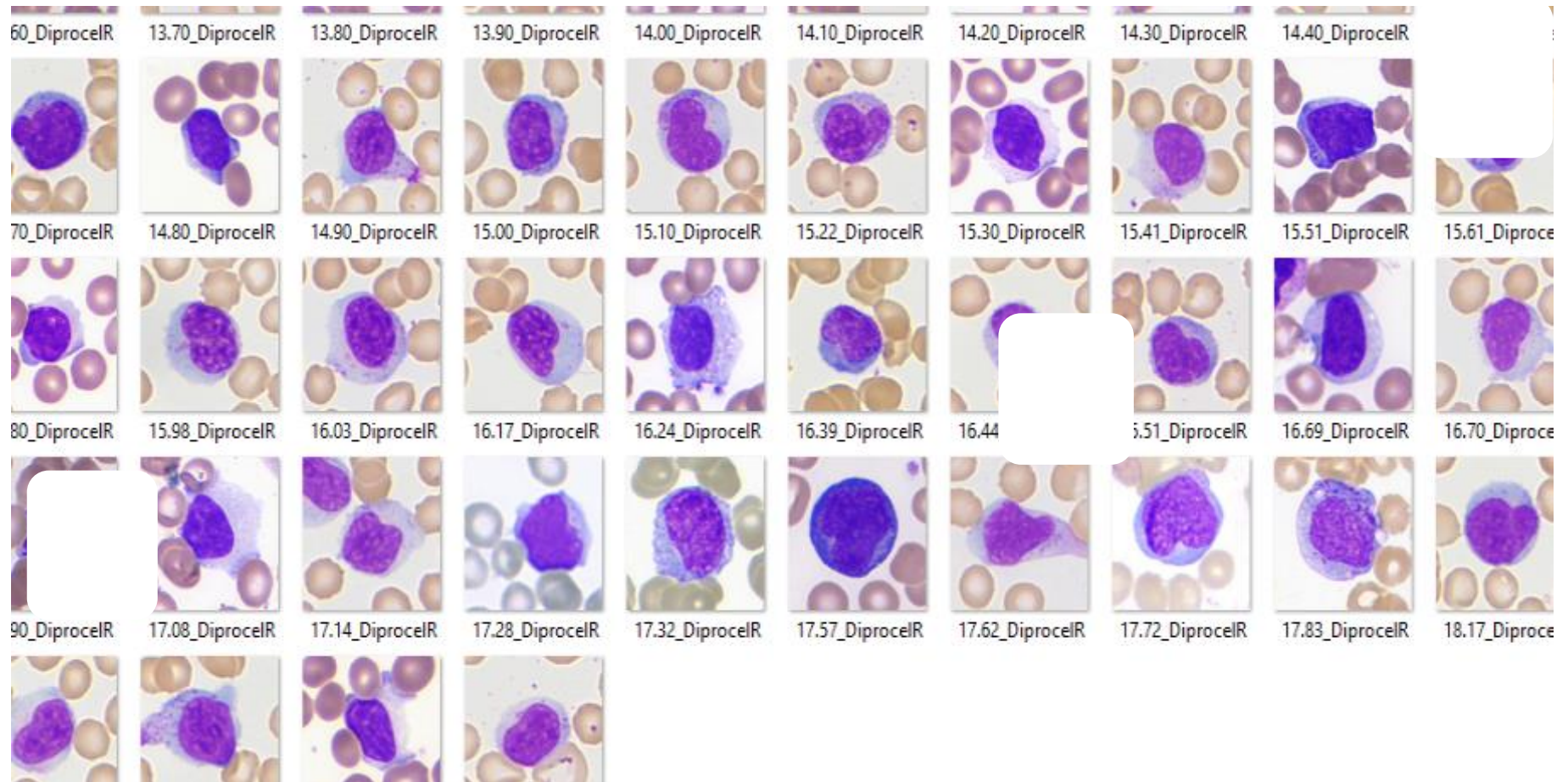
## Anexo Q

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del diámetro promedio de la célula, tomadas del software VisionHema



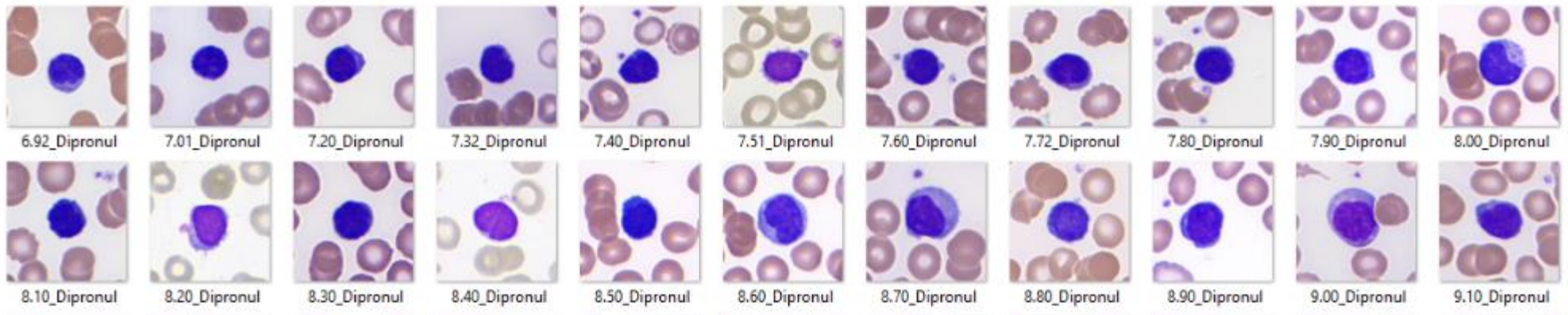
## Anexo R

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del diámetro promedio de la célula, tomadas del software VisionHema



**Anexo S**

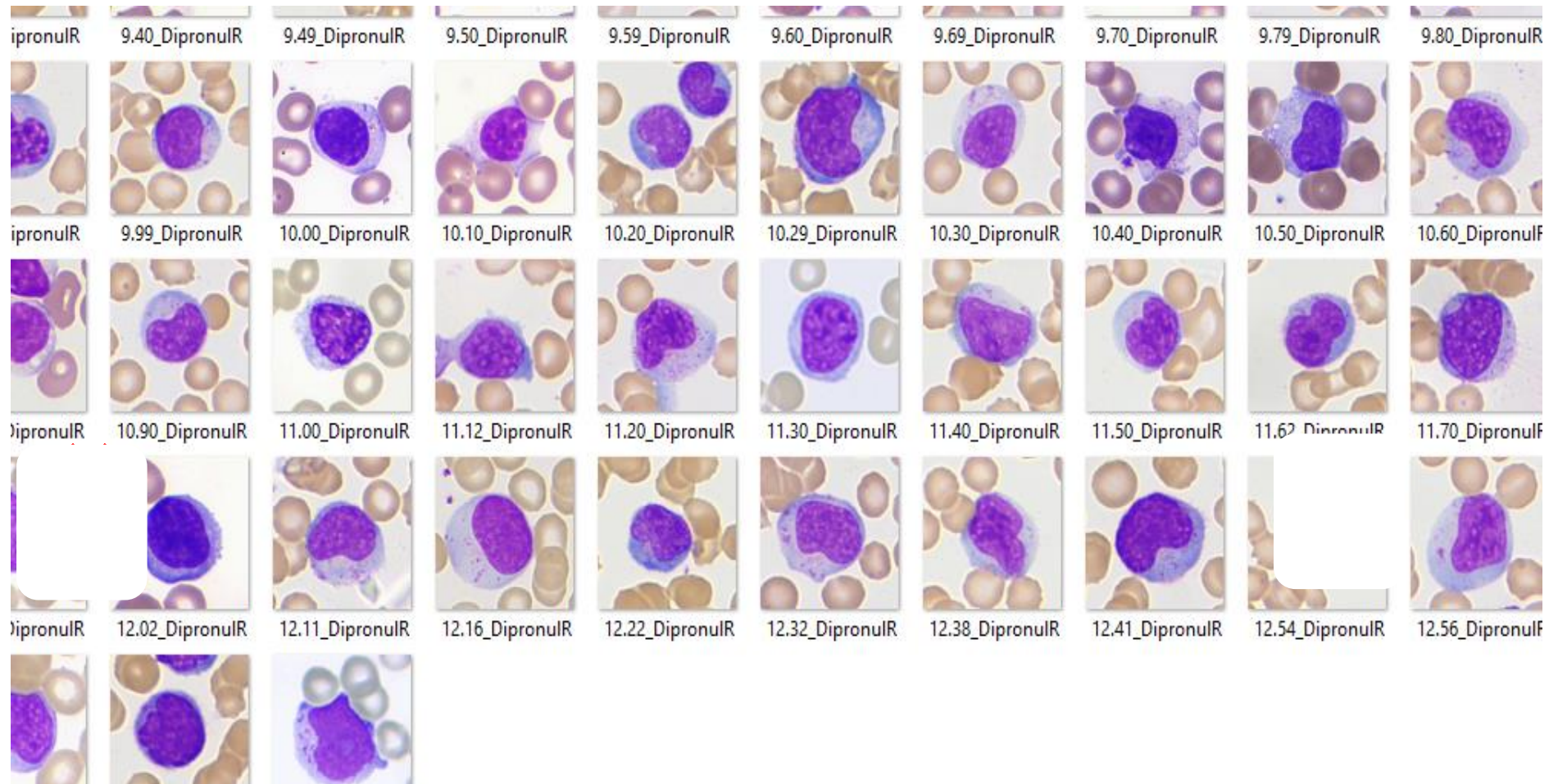
Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del diámetro promedio del núcleo, tomadas del software VisionHema





## Anexo T

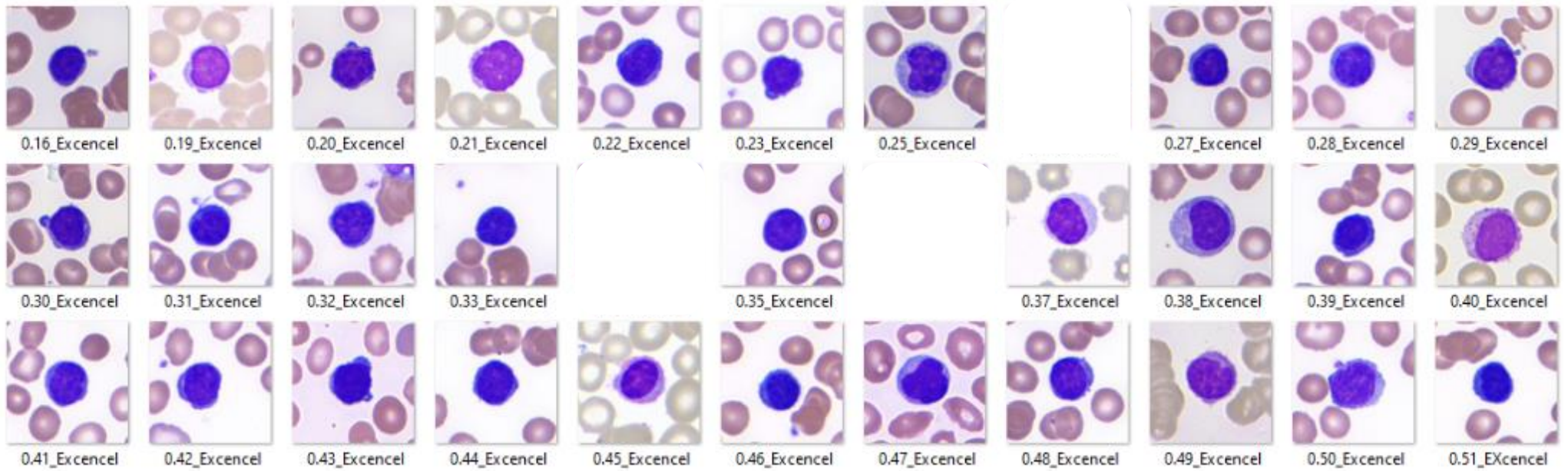
Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del diámetro promedio del núcleo, tomadas del software VisionHema





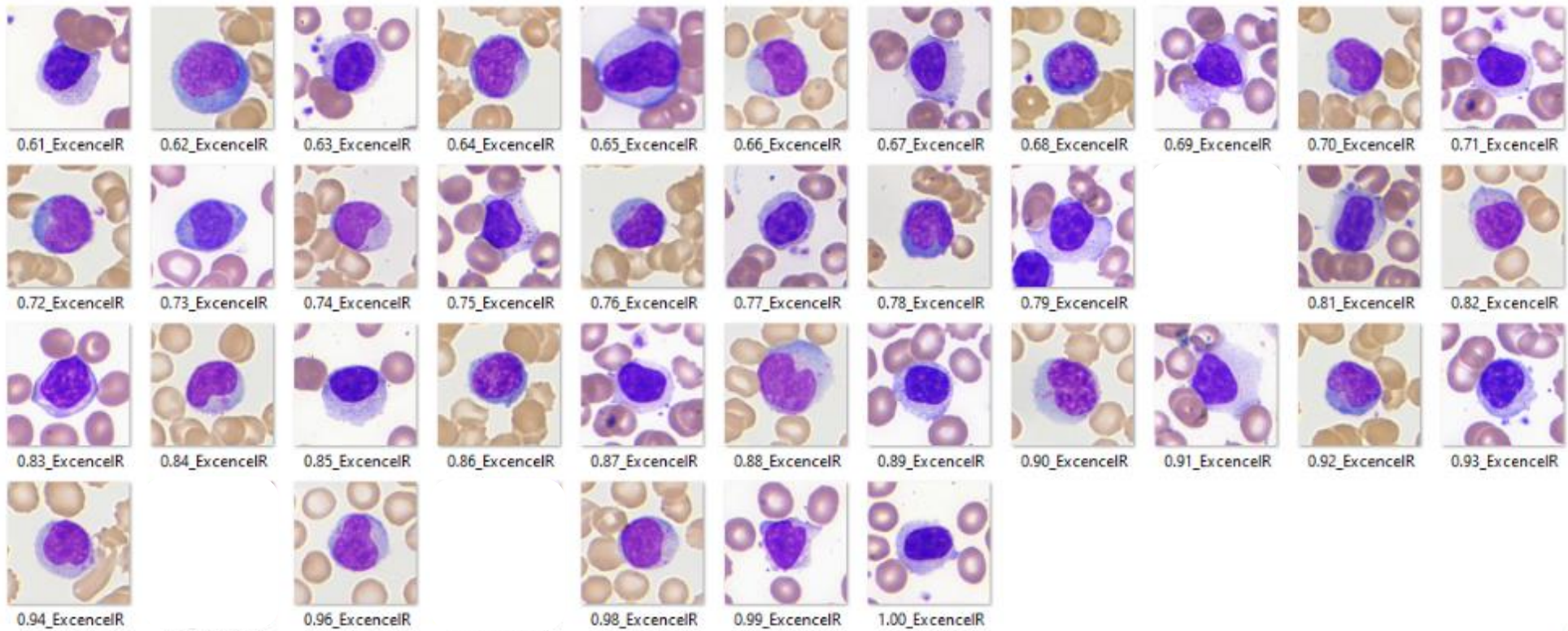
## Anexo U

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico de la Excentricidad de la célula, tomadas del software VisionHema



**Anexo V**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la Excentricidad de la célula, tomadas del software VisionHema

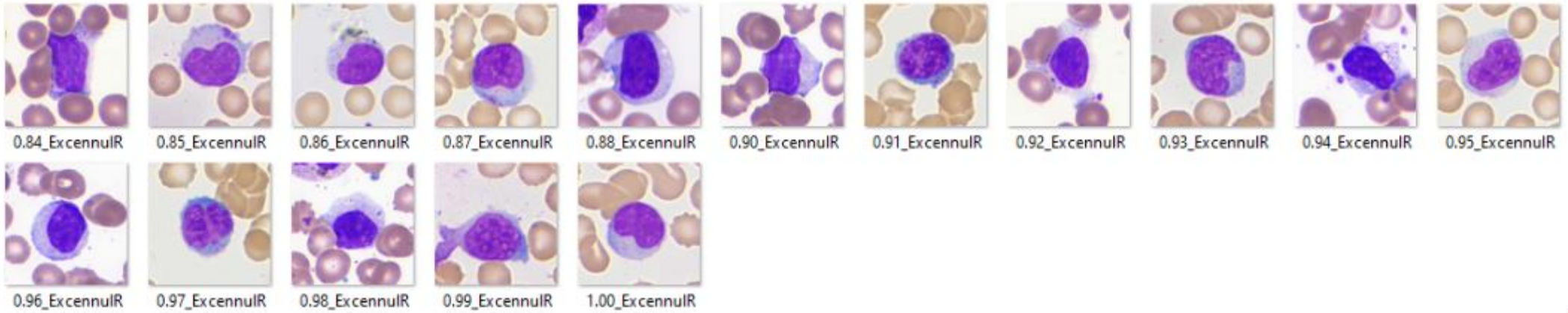






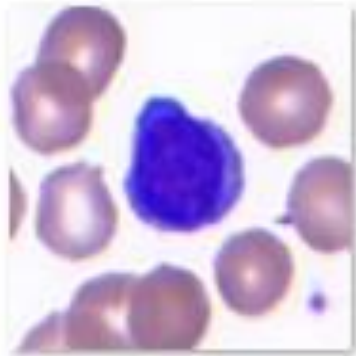
**Anexo X**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la Excentricidad del núcleo, tomadas del software VisionHema.

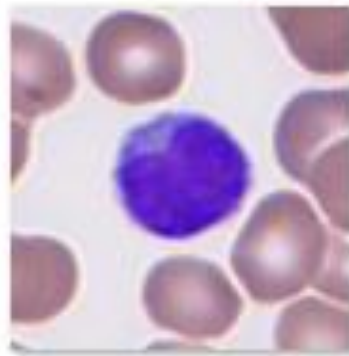


**Anexo Y**

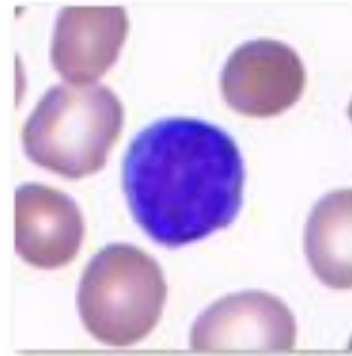
Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del factor forma de la célula, tomadas del software VisionHema



1.05\_ffcélulaLN



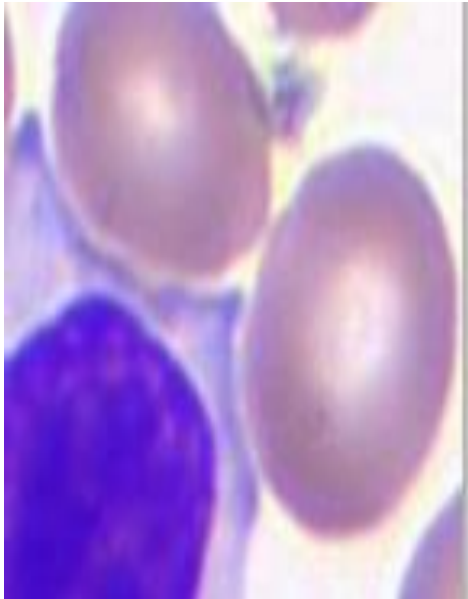
1.58\_ffcélulaLN



1.86\_ffcélulaLN

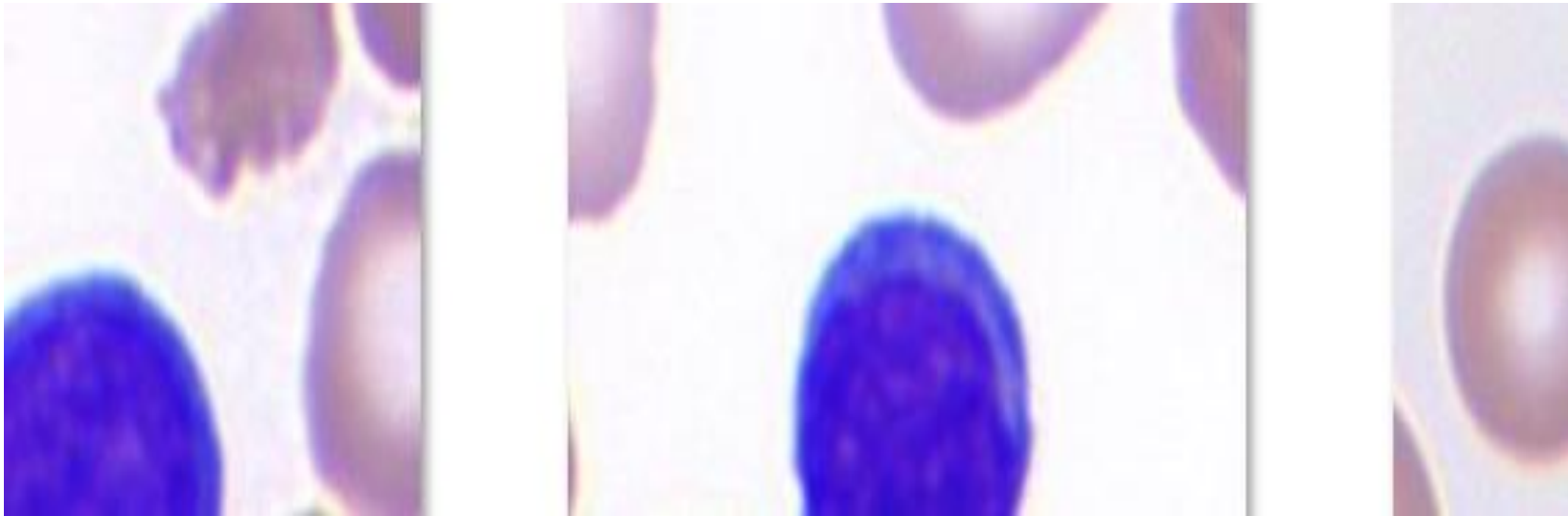
**Anexo Z**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del factor forma de la célula, tomadas del software VisionHema



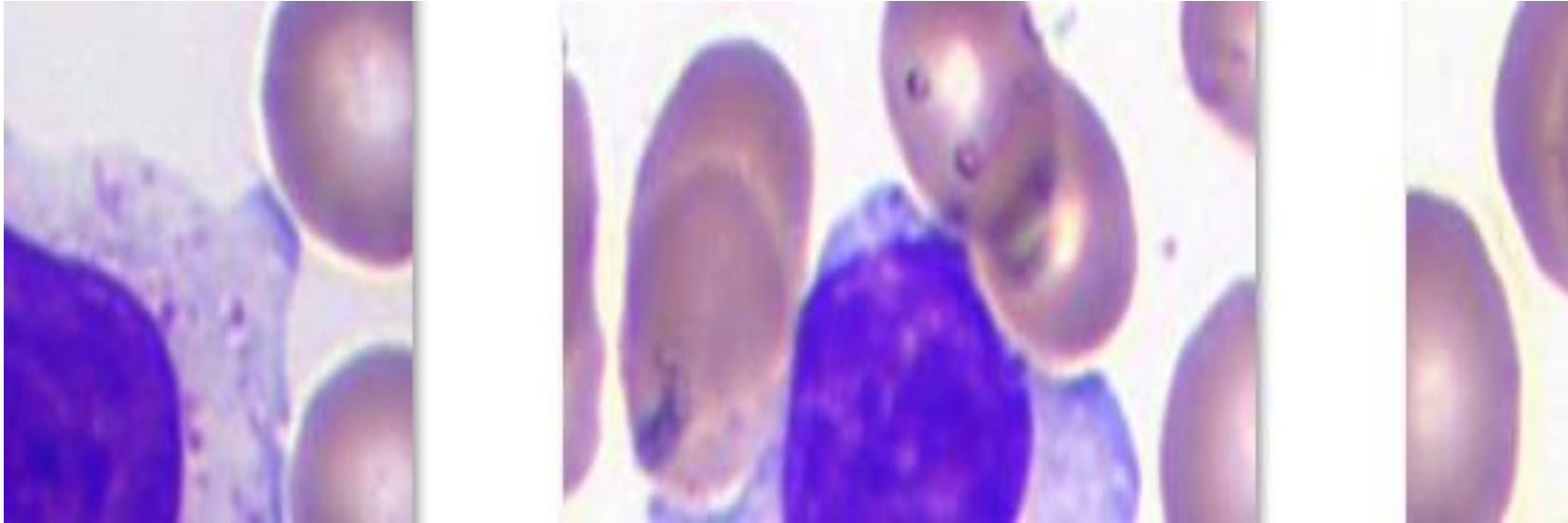
**Anexo A 1**

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del factor forma del núcleo, tomadas del software VisionHema



**Anexo B 1**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del factor forma del núcleo, tomadas del software VisionHema





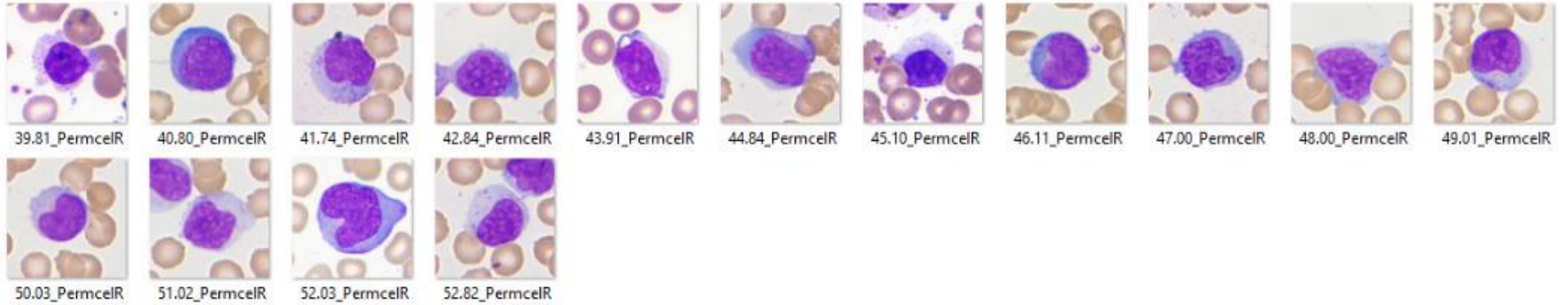
**Anexo C 1**

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico del perímetro celular, tomadas del software VisionHema



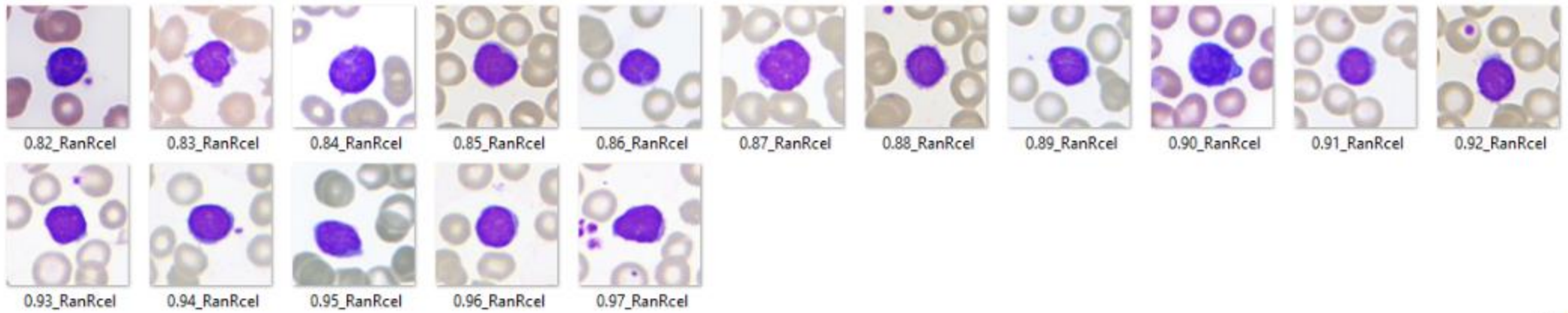
**Anexo D 1**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico del perímetro celular, tomadas del software VisionHema



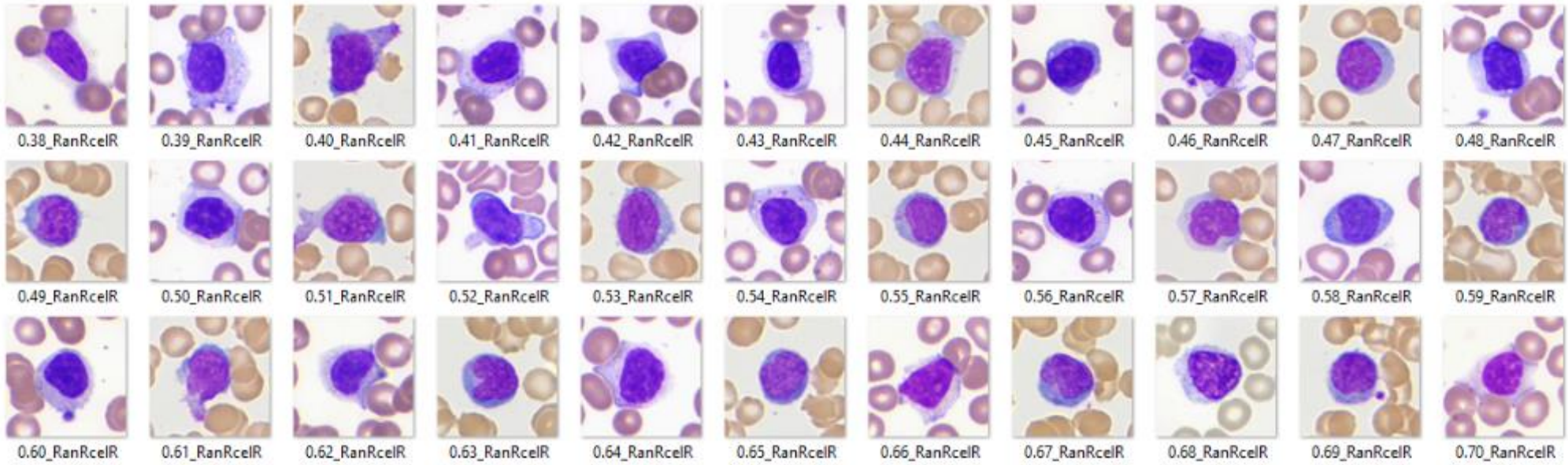
**Anexo E 1**

Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico de la Relación área nuclear/ área celular, tomadas del software VisionHema



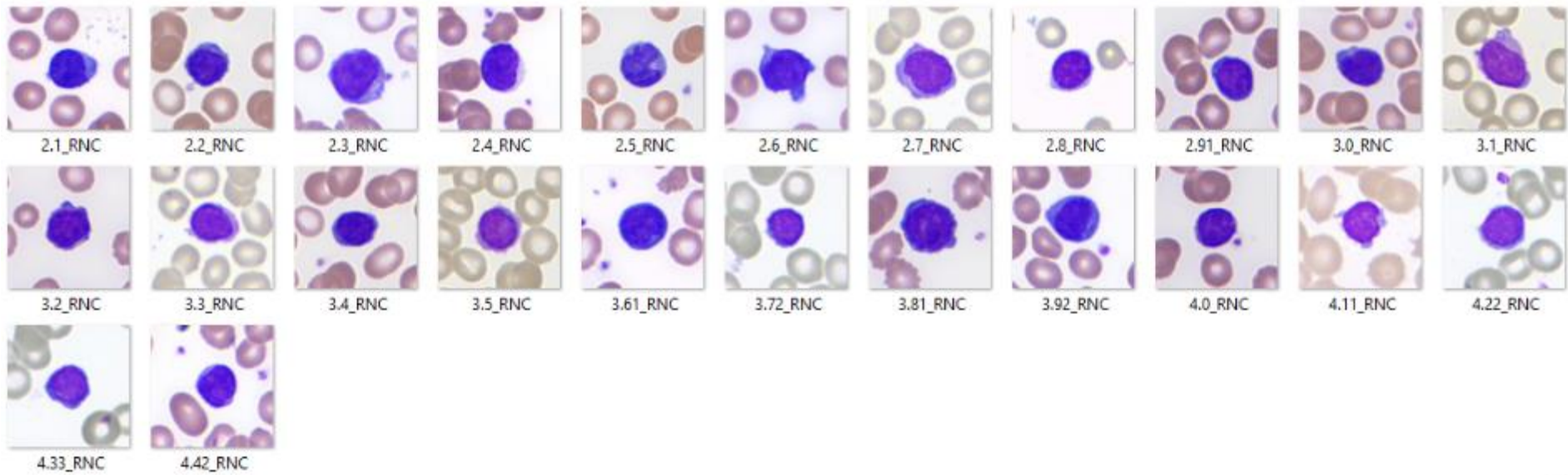
**Anexo F 1**

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la Relación área nuclear/ área celular, tomadas del software VisionHema



## Anexo G 1

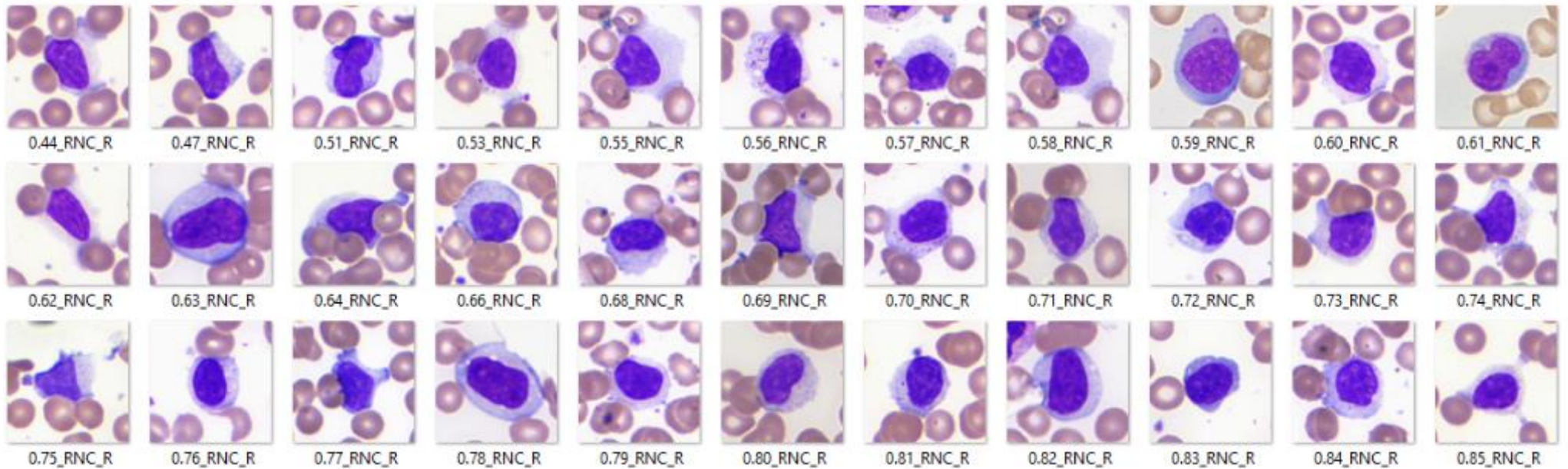
Imágenes de linfocitos normales con su respectivo valor numérico de la Relación núcleo/citoplasma, tomadas del software VisionHema





## Anexo H 1

Imágenes de linfocitos reactivos con su respectivo valor numérico de la Relación núcleo/citoplasma, tomadas del software VisionHema



## Anexo I 1

Base de datos de los descriptores geométricos y colorimétricos para linfocitos normales.

	Objeto	Área celular, $\mu\text{m}^2$	Diámetro pr	Factor de forma	Excentricid.	Área del Nú	Diámetro pr	Brillo del nú	Densidad ó	Conteo de :	Factor de fc	Excentricid.	Área del cit	Brillo de cit	Densidad ó	Relación: A	Relación Nucleo/Citoplasma	Perímetro celular
Normal 1	LN1	85.07	9.96	2.11	0.59	56.21	8.41	61.68	0.62	1	1.08	0.61	32.16	189.31	0.13	0.66	1.75	32.69
	LN2	68.6	9.06	1.96	0.52	52.8	8.36	65.66	0.59	1	1.04	0.39	16.95	173.34	0.17	0.77	2.79	29.35
	LN3	93.16	10.84	1.63	0.63	75.68	9.97	89.64	0.46	1	1.04	0.35	21.81	170.02	0.18	0.61	3.47	34.21
	LN4	86.16	10.12	1.95	0.44	64	9.05	67.18	0.58	1	1.03	0.28	25.76	213.16	0.08	0.74	2.48	32.90
	LN5	79.2	8.58	2.2	0.3	61.38	9.16	69.54	0.56	1	1.06	0.34	20.33	232.96	0.04	0.78	3.02	31.54
	LN6	89.92	10.44	1.85	0.42	63.62	8.9	76.66	0.53	1	1.06	0.47	30.52	201.3	0.1	0.71	2.08	33.61
	LN7	81.99	10.29	1.05	0.57	56.73	8.99	64.18	0.61	1	1.05	0.64	81.99	99.44	0.41	0.69	0.69	32.09
	LN8	78.69	9.58	1.98	0.35	64.68	8.94	73.76	0.54	1	1.03	0.27	15.54	187.31	0.14	0.82	4.16	31.44
	LN9	76.47	9.72	1.8	0.48	61.87	8.79	72.36	0.55	2	1.16	0.43	16.65	166.82	0.14	0.61	3.28	30.99
	LN10	109.37	12.64	2.05	0.5	75.51	10.28	86.92	0.47	1	1.08	0.4	38.42	178.02	0.16	0.69	1.97	37.06
	LN11	103.11	11.77	2.25	0.56	62.65	9.18	79	0.51	1	1.09	0.72	42.42	162.28	0.15	0.61	1.48	35.99
	LN12	165.02	13.9	1.97	0.9	66.23	9.12	82.34	0.49	1	1.09	0.71	103.13	159.54	0.2	0.4	0.64	45.53
	LN13	84.6	10.25	1.06	0.45	56.07	8.35	72.5	0.55	1	1.14	0.41	84.6	111.79	0.36	0.66	0.66	32.60
	LN14	77.32	9.72	2.85	0.53	52.84	7.81	71.96	0.55	1	1.06	0.53	24.48	187.11	0.13	0.68	2.16	31.16
	LN15	76.97	5.79	1.86	0.41	64.17	8.89	78.61	0.52	1	1.03	0.34	16.2	207.13	0.09	0.83	3.96	31.09
	LN16	84.81	4.17	2.08	0.52	62.51	8.85	76.32	0.52	1	1.04	0.6	26.06	184.88	0.14	0.74	2.4	32.64
	LN17	87.25	10.91	2.03	0.53	67.11	8.44	74.17	0.54	1	1.15	0.59	24.36	180.47	0.15	0.77	2.76	33.10
	LN18	80.08	9.99	1.76	0.39	58.89	8.57	68.2	0.58	1	1.03	0.41	25.25	207.3	0.09	0.74	2.33	31.71
	LN19	89.72	10.35	1.07	0.42	57.89	8.53	70.67	0.56	1	1.1	0.51	89.72	114.74	0.35	0.65	0.65	33.57
	LN20	77.5	9.99	2.87	0.38	51.18	8.11	60.64	0.63	1	1.03	0.44	26.32	209.86	0.09	0.66	1.94	31.20
	LN21	81.25	10.29	2.17	0.21	52.29	7.85	72.16	0.55	1	1.13	0.59	31.65	175.85	0.16	0.64	1.65	31.95
Normal 2	LN22	105.61	12.03	2.67	0.56	59.35	8.9	68.4	0.58	1	1.04	0.45	46.26	171.38	0.17	0.56	1.28	36.42
	LN23	77.3	10.14	2.11	0.45	54.7	8.47	59.57	0.64	1	1.04	0.47	25.71	206.65	0.09	0.71	2.13	31.16
	LN24	69.7	9.89	2.7	0.56	44.44	7.81	55.15	0.67	1	1.04	0.62	25.26	207.28	0.09	0.64	1.76	29.59
	LN25	78.15	10.26	2.77	0.46	51.24	7.96	62.42	0.61	1	1.05	0.43	26.91	169.75	0.12	0.66	1.9	31.33
	LN26	62.4	9.07	2.81	0.64	41.7	7.59	55.01	0.67	1	1.04	0.63	20.7	201.82	0.1	0.67	2.01	28.00
	LN27	77.87	3.61	1.94	0.6	54.52	8.25	65.08	0.59	1	1.04	0.44	25.95	181.17	0.14	0.7	2.1	31.27
	LN28	87.18	10.05	2.14	0.64	56.32	8.89	60.82	0.62	1	1.08	0.59	33.77	194.01	0.11	0.65	1.67	33.09
	LN29	80.19	10.01	2.74	0.51	53.74	8.29	62.11	0.62	1	1.04	0.5	26.45	209.06	0.09	0.67	2.03	31.74
	LN30	91.64	10.84	2.28	0.4	65.35	9.01	74.72	0.53	1	1.03	0.46	29.46	207.11	0.08	0.71	2.22	33.93
	LN31	93.19	10.68	2.02	0.57	61.99	9.02	73.77	0.53	1	1.08	0.5	34.41	178.99	0.15	0.67	1.8	34.21
	LN32	77.09	10.07	2.07	0.64	55.38	8.44	63.33	0.6	1	1.06	0.55	24.56	199.08	0.1	0.72	2.26	31.12
	LN33	125.92	13.54	2.12	0.98	54.96	8.44	68.18	0.52	1	1.11	0.98	72.59	159.28	0.2	0.44	0.76	39.22

## Anexo J 1

Base de datos de los descriptores geométricos y colorimétricos para linfocitos reactivos.

	Objeto	Área celular, $\mu\text{m}^2$	Diámetro p	Factor de fc	Excentricid	Área del N	Diámetro p	Brillo del n	Densidad c	Conteo de s	Factor de fc	Excentricid	Área del cit	Brillo de cit	Densidad c	Relación: $\frac{A}{A_c}$	Relación Nucleo/Citoplasma
Reactivo 1	LR1	154.59	6.45	3.29	0.63	72.6	9.5	72.03	0.54	1	1.15	0.91	82.19	161.86	0.18	0.47	0.88
	LR2	138.14	14.64	2.65	0.55	65.24	9.37	65.15	0.58	1	1.06	0.65	72.9	155.48	0.2	0.47	0.89
	LR3	151.97	5.74	2.99	0.85	71.19	9.7	66.27	0.57	1	1.11	0.76	80.78	162.71	0.17	0.47	0.88
	LR4	152.11	6.81	2.88	0.23	69.1	9.15	68.82	0.55	1	1.04	0.43	83.01	160.77	0.19	0.45	0.83
	LR5	131.86	5.66	1.73	0.61	64.73	9.17	67.63	0.56	1	1.05	0.74	70.73	167.22	0.16	0.49	0.92
	LR6	129.73	12.65	2.78	1	66.77	9.16	65.75	0.58	1	1.04	0.61	62.97	162.75	0.18	0.51	1.06
	LR7	117.42	11.89	2.66	0.44	70.85	9.99	65.14	0.57	1	1.05	0.54	46.57	150.98	0.2	0.6	1.52
	LR8	180.56	14.49	3.13	0.82	67.09	9.34	69.54	0.55	1	1.06	0.66	113.47	159.63	0.19	0.37	0.59
	LR9	108.9	11.85	1.81	0.58	60.24	8.81	63.66	0.59	1	1.13	0.74	53.02	161.59	0.18	0.55	1.14
	LR10	125.64	13.48	1.95	0.49	68.81	9.2	68.15	0.56	1	1.07	0.7	60.63	162.23	0.18	0.55	1.14
	LR11	157.5	4.72	2.55	0	70.42	3.16	68.82	0.55	1	1.08	0	87.09	157.26	0.19	0.45	0.81
Reactivo 2	LR12	106.92	6.82	2.2	0.46	84.32	10.36	118.08	0.33	1	1.11	0.45	25.06	173.04	0.16	0.79	3.36
	LR13	76.11	3.87	1.7	0.41	65.73	8.76	108.43	0.37	1	1.46	0.58	13.53	154.7	0.21	0.86	4.86
	LR14	130.98	13.07	2.82	0.51	72.08	8.94	103.48	0.39	1	1.29	0.63	58.99	171.48	0.17	0.55	1.22
Reactivo 3	LR15	137.29	4.84	2.91	0.72	71.16	10.23	101.79	0.4	1	1.17	0.8	67.67	184.14	0.14	0.52	1.05
	LR16	118.87	12.34	1.87	0.73	69.37	9.71	105.81	0.38	1	1.07	0.56	52.69	160.78	0.2	0.58	1.32
	LR17	84.35	4.08	1.63	0.97	74.78	9.54	86.47	0.47	1	1.05	0.6	13.12	147.62	0.24	0.89	5.7
Reactivo 4	LR18	134.68	12.46	2.75	0.97	75.07	10	71.41	0.54	1	1.05	0.64	59.61	160.84	0.18	0.56	1.26
	LR19	145.24	6.77	2.87	0.63	71.99	9.31	73.05	0.53	1	1.04	0.62	73.26	162.13	0.18	0.5	0.98
	LR20	120.12	4.71	2.06	0.42	71.92	9.71	72.83	0.53	1	1.08	0.55	51.48	172.06	0.16	0.6	1.4
	LR21	121.38	4.55	2.72	0.43	69.32	9.17	68.19	0.56	1	1.07	0.7	52.06	167.78	0.17	0.57	1.33
	LR22	169.87	5.19	2.91	0.6	78.53	3.88	70.47	0.54	1	1.26	0.97	91.36	160.23	0.19	0.46	0.86
	LR23	147.01	5.84	2.68	0.47	74.04	4.51	71.01	0.55	3	1.24	0.27	72.97	166.58	0.17	0.5	1.01
	LR24	136.85	13.52	2.82	0.61	76.15	9.87	70.94	0.54	1	1.04	0.54	60.7	169.98	0.16	0.56	1.25
	LR25	135.08	13.2	2.6	0.55	72.03	9.73	69.57	0.55	1	1.04	0.56	63.05	165.2	0.17	0.53	1.14
	LR26	142.99	5.86	2.1	0.66	70.21	9.75	74.84	0.52	1	1.11	0.66	78.66	165.08	0.17	0.49	0.89
	LR27	139.12	5.52	2.23	0.61	75.4	9.52	78.22	0.5	1	1.06	0.6	66.62	167.24	0.17	0.54	1.13
	LR28	148.35	10	4.14	0.87	65.66	3.05	69.09	0.55	1	1.43	0.72	83.2	173.22	0.15	0.44	0.79



### Anexo K 1

Imagen del monitor del Software Vision Hema

