

Caracterización citológica de la médula ósea durante el desarrollo fetal en la alpaca (*Vicugna pacos*)

Cytological characterization of the bone marrow during fetal development in the alpaca (*Vicugna pacos*)

Elvis Calderón F.¹, Juan Espinoza B.², Olga Li E.³, Manuel Barrios-Arpi^{4,5}

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo investigar la morfología y morfometría de las células progenitoras de la médula ósea a través del examen citológico durante el desarrollo fetal de la alpaca (*Vicugna pacos*). Se colectaron muestras de médula ósea provenientes de 18 fetos de alpacas clínicamente sanas y destinadas a beneficio en Pasco, Perú. Se seccionaron la octava y novena costillas tomando como referencia la unión costo-condral y se hicieron frotis con las muestras de médula ósea, que fueron coloreadas con la tinción Wright. Los porcentajes de celularidad para cada tercio de gestación fueron 16 ± 0.2 (n=3), 35 ± 0.16 (n=5) y 78 ± 0.12 (n=10), respectivamente, evidenciándose las primeras células hematopoyéticas a partir de los 201.5 días de edad. Mediante el conteo diferencial de 500 células se estableció la relación mielóide:eritroide, siendo de 0, 0.47 ± 0.27 y 0.69 ± 0.19 para el primer, segundo y tercer tercio de gestación, respectivamente. En el segundo tercio de gestación se detectó 10.17% de células eritroides, 5.03% de células mieloides y 84.80% de otros tipos celulares, mientras que en el último tercio fue de 39.99% de células eritroides, 26.99% de células mieloides y 33.21% de otros tipos celulares. En el examen morfométrico, las células hematopoyéticas revelaron características similares a las encontradas en otras especies.

Palabras clave: alpaca, feto, médula ósea, citología

¹ Clínica de Animales Menores, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

² Clínica de Animales Menores, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ Laboratorio de Patología Clínica y Biología Molecular, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁴ Laboratorio de Fisiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

⁵ E-mail: lbarriosa@unmsm.edu.pe

Recibido: 14 de abril de 2019

Aceptado para publicación: 2 de junio de 2020

Publicado: 11 de agosto de 2020

ABSTRACT

The present study aimed to investigate the morphology and morphometry of progenitor cells from the bone marrow through cytological examination during foetal development of the alpaca (*Vicugna pacos*). Bone marrow samples were collected from 18 culled and clinically healthy alpaca foetuses in Pasco, Peru. The eighth and ninth ribs were removed using the cost-chondral junction as reference and smears were made with the bone marrow samples, and then stained with Wright. The percentages of cellularity for each third of pregnancy were 16 ± 0.2 (n= 3), 35 ± 0.16 (n= 5) and 78 ± 0.12 (n=10), respectively, showing the first hematopoietic cells from 201.5 days old. Through the differential count of 500 cells, the myeloid: erythroid ratio was established, being 0.47 ± 0.27 and 0.69 ± 0.19 for the first, second and last third of pregnancy, respectively. In the second third of pregnancy 10.17% of erythroid cells, 5.03% of myeloid cells and 84.80% of other cell types were detected, while in the last third it was 39.99% of erythroid cells, 26.99% of myeloid cells and 33.21% of other cell types. In the morphometric examination, hematopoietic cells revealed characteristics like those found in other species.

Key words: alpaca, fetus, bone marrow, cytology

INTRODUCCIÓN

Los camélidos sudamericanos incluyen a la llama (*Lama glama*) y la alpaca (*Vicugna pacos*) como especies domésticas y al guanaco (*Lama guanicoe*) y la vicuña (*Vicugna vicugna*) como especies silvestres. Estos animales forman parte de la actividad pecuaria en las zonas altoandinas de Perú, Argentina, Chile y Bolivia (Mendoza *et al.*, 2013). Si bien los mecanismos de adaptación hematológicos a la altura han sido estudiados, especialmente en alpacas (Quispe, 2011), existe escasa información sobre el rol de la médula ósea en la hematopoyesis de estas especies, habiendo sido estudiada principalmente con fines diagnósticos y descriptivos en animales adultos o enfermos (Andreasen *et al.*, 1994; Tornquist, 2009).

La médula ósea se localiza en las cavidades de los cuerpos vertebrales, costillas, esternón, huesos del cráneo, pelvis y epífisis proximales del fémur y húmero (siendo los huesos largos los de mayor actividad hematopoyética) (Grindem *et al.*, 2002). En este órgano se producen los eritrocitos,

granulocitos, monocitos y plaquetas. Si bien en los vertebrados, luego del nacimiento, la médula ósea se comporta como un nicho hematopoyético, durante la embriogénesis las células precursoras de la hematopoyesis (CPH), emergen y migran a través de diferentes tejidos (Coskun y Hirschi, 2010). En el ratón, las primeras células sanguíneas observadas son unos eritroblastos grandes y nucleados en el saco vitelino extraembrionario en el día 8 del desarrollo gestacional (Palis *et al.*, 1999), en tanto que la placenta y la región aorta-gónadas-mesonefros (AGM) exhiben células con potencial hematopoyético en el día 10 (Gekas *et al.*, 2005). Así mismo, las CPH se encuentran en el hígado fetal en el día 11 (Morrison y Weissman, 1994), y finalmente las células ya desarrolladas, con morfología y funcionabilidad similares en adultos se encuentran en la médula ósea al día 16 del desarrollo fetal (Coskun *et al.*, 2014).

Andreasen *et al.* (1994) caracterizó citológicamente la médula ósea de siete llamas adultas aparentemente normales, encontrando entre 50 y 75% de células hematopoyéticas mediante aspirado de médula ósea, donde la morfología y maduración de las cé-

lulas eritroides fueron similares a la observada en camellos (Naziji y Maleki, 1998). Estas células fueron inicialmente redondas, para luego cambiar a una forma más elíptica, mientras se hacían menos policro-matófilas, en tanto que las células mieloides y megacariocitos tuvieron secuencias de morfología y maduración típicas. La relación mieloide-eritroide (M/E) promedio en la médula ósea de los camélidos adultos sanos es similar a la de otras especies (Harvey, 2010), habiéndose reportado de 0.9 a 2.9 en llamas y de 0.47 a 1.01 en alpacas (Tornquist, 2009).

El objetivo del presente estudio fue caracterizar citológicamente la médula ósea a través de la evaluación cualitativa (observacional) y cuantitativa (observacional y morfométrica) de las células precursoras hematopoyéticas durante el desarrollo fetal en la alpaca (*Vicugna pacos*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon 18 fetos, siendo 3, 5 y 10 tres fetos del primer, segundo y tercer tercio de la gestación, respectivamente. Los fetos fueron obtenidos de alpacas gestantes de descarte destinadas al beneficio en el matadero Municipal de Ninacaca, departamento de Cerro de Pasco, Perú, a 4140 msnm, entre febrero y marzo de 2017. La edad gestacional de los fetos se determinó mediante el diámetro biparietal (DBP), medido con un vernier Litz®, aplicando la fórmula de Gazitua *et al.* (2001): $\text{Edad gestacional} = (\text{DBP} - 0.11376) * 47.23287, r=0.98, p<0.001$, donde DBP: Diámetro biparietal fetal en centímetros, r: coeficiente de regresión, p: nivel de significancia.

Con el fin de garantizar que las muestras de médula ósea de los fetos procedan de hembras gestantes clínicamente sanas, se colectaron muestras de sangre periférica (3 ml) en el momento del sacrificio (vena yugular) en un tubo de muestra con EDTA, para realizar el hemograma correspondiente.

Los fetos fueron retirados de las bolsas amnióticas. Se palpó la zona costal, teniendo como puntos de referencia la 7°, 8° y 9° unión costocondral. El área justo por encima de la unión costocondral fue elegida para la extracción de 2 a 3 cm de las costillas 8° o 9°. Con una pinza hemostática se presionaron uno de los extremos del fragmento costal a fin de depositar una gota de médula ósea en una lámina portaobjetos y se procedió a realizar la extensión por la técnica de aplastamiento. Se prepararon tres láminas con muestras de médula ósea de cada feto de alpaca. Las láminas fueron teñidas con colorante Wright para la evaluación citológica.

Para la evaluación de la celularidad (composición celular de una muestra citológica), se determinó la cantidad de células por campo expresado en porcentaje. Para la determinación de la relación mieloide-eritroide (cociente entre el número total de células precursoras nucleadas mieloides y eritroides) se realizaron tres conteos diferenciales de 500 células por cada muestra de médula ósea de feto para clasificar y caracterizar las células precursoras hematopoyéticas. Las células precursoras eritroides incluyeron rubriblastos, prorrubricitos, rubricitos y metarrubricitos, y las mieloides incluyeron mieloblastos, promielocitos, mielocitos, metamielocitos, abastoados y segmentados. Otras células caracterizadas fueron las células precursoras trombocíticas (megacarioblastos, promegacariocitos y megacariocitos), osteoblastos, osteoclastos, células linfoides, macrófagos y mastocitos.

Se determinó el índice de maduración eritroide a partir de la sumatoria de células eritroides en fase de maduración dividido por la suma total de células eritroides en fase de proliferación. Así mismo, se determinó el índice de maduración mieloide a partir de la sumatoria de células mieloides en fase de maduración dividido por la suma total de células mieloides en fase proliferativa. Finalmente, se realizaron cinco mediciones de los diámetros longitudinal y transversal por cada una

de las células precursoras. Las mediciones fueron procesadas con el software de medición y microfotografía LAS X 3.0 (Leica, Alemania).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el desarrollo embrionario y fetal en mamíferos, las células precursoras hematopoyéticas emergen y luego migran a través de diferentes tejidos y órganos. Arias *et al.* (2011) describieron mediante evaluación histológica, agrupaciones de células correspondientes a nidos hematopoyéticos esplénicos en un feto de alpaca de 55 días de gestación. Además, se ha reportado la presencia de células hematopoyéticas en el timo de fetos de alpaca a partir de los 100 días de gestación (Montenegro, 2006). La médula ósea interviene activamente en la hematopoyesis a mediados de la gestación en la mayoría de los mamíferos (Coskun *et al.*, 2014). En el presente estudio, se evidenciaron células hematopoyéticas en médula ósea en los fetos de segundo (Cuadro 1) y último tercio de gestación (Cuadro 2) de características morfológicas y morfométricas (Figura 1, Cuadro 3) similares a las descritas en adultos a partir de un feto de 201.5 días de edad gestacional (perteneciente al segundo tercio de gestación).

Si bien no existe estudios sobre la ontogenia de la médula ósea en la alpaca, Tiedemann y van Ooyen (1978) reportaron que la médula ósea era funcional en fetos de gatos al día 35 de gestación; así mismo, Pessa-Morikawa *et al.* (2012) concluyeron que la médula ósea de fetos de bovinos presentaba un alto potencial progenitor de células hematopoyéticas entre los 180 y 255 días de gestación; mientras que Battista *et al.* (2014) demostraron en el día 100 de gestación de fetos de equino que el hígado y la médula ósea eran sitios activos de hematopoyesis, basados en marcadores moleculares de diferenciación para leucocitos y mensajeros de señal para diferenciación de células hemato-

poyéticas. Estas últimas son especies de gestación larga (bovinos: 9 meses; equinos: 11 meses) al igual que la alpaca en el presente estudio, lo cual explica la escasa celularidad observada en el primer tercio de gestación ($16 \pm 0.2\%$) (Cuadro 4), habiendo únicamente células indiferenciadas y algunos macrófagos (Cuadro 5), mientras que la celularidad aumentó a $35 \pm 0.16\%$ en el segundo tercio de gestación y a $78 \pm 0.12\%$ en el último tercio de gestación. Este último valor concuerda con reportes de animales jóvenes (Andreasen *et al.*, 1994).

Se pudo identificar células pertenecientes a la serie eritroide, siendo el rubriblasto (prorubricitos, rubricitos y metarubricitos) la primera célula identificable citológicamente (Figura 2). También se pudo identificar células mieloides como: mieloblastos, promielocitos y mielocitos, a partir de las cuales se clasificaron en basófilos, neutrófilos y eosinófilos de acuerdo con las características de sus gránulos citoplasmáticos (Figuras 3, 4 y 5). Por otro lado, en la serie trombocítica, los megacariocitos se identificaron como las células más grandes en el presente estudio y presentaron múltiples lobulaciones nucleares (Figura 6). Además, se pudo identificar células óseas como osteoblastos (Figura 7) y osteoclastos (Figura 8).

El porcentaje de macrófagos en el segundo y último tercio de gestación (2.54 ± 0.98 y $1.44 \pm 0.7\%$, respectivamente) pueden estar relacionados con el alto número de metarubricitos, ya que en cada isla eritroide conformada en su mayoría por metarubricitos y demás precursores eritroides, está presente un macrófago encargado de la fagocitosis de los núcleos extruidos para dar origen al eritrocito maduro. Además, las células linfoides se encontraron en bajo número en el recuento diferencial: 0.55 ± 1.52 y $1.36 \pm 0.63\%$ para el segundo y último tercio de gestación, respectivamente, con respecto a lo reportado por Andreasen *et al.* (1994), lo cual permite deducir que la médula ósea no interviene de forma primaria durante el desarrollo

Cuadro 1. Composición porcentual citológica de médula ósea de cinco fetos de alpaca (*Vicugna pacos*) en el segundo tercio de gestación

Tipo de célula	Promedio (%)	Desviación estándar
Rubroblasto	0.17	0.20
Prorubricito	0.32	0.58
Rubricito basofilo	1.19	2.89
Rubricito policromatófilo	2.78	2.55
Metarubricito	5.71	6.18
Total de células eritrocíticas	10.17	
Mieloblasto	0.10	0.06
Promielocito	0.14	0.06
Mielocito neutrófilo	0.34	1.21
Metamielocito neutrófilo	0.67	1.27
Abastonado neutrófilo	0.23	
Segmentado neutrófilo	1.84	2.24
Mielocito eosinófilo	0.22	0.08
Metamielocito eosinófilo	0.30	0.04
Abastonado eosinófilo	0.40	0.20
Segmentado eosinófilo	0.76	1.87
Mielocito basófilo	0.00	0.00
Metamielocito basófilo	0.04	0.06
Abastonado basófilo	0	0
Segmentado basófilo	0	0
Total de células granulocíticas	5.03	
Osteoblastos	55.50	8.00
Osteoclastos	2.30	0.74
Megacarioblasto	0.04	0.00
Promegacariocito	0	0.02
Megacariocito	0.08	0.02
Células linfoides	0.55	1.52
Mastocitos	0	
Macrófagos	2.54	0.98
Células indiferenciadas	23.80	15.58
Total de otras células	84.80	

Cuadro 2. Composición porcentual citológica de médula ósea de 10 fetos de alpaca (*Vicugna pacos*) en el último tercio de gestación

Tipo de célula	Promedio (%)	Desviación estándar
Rubroblasto	0.98	0.43
Prorubricito	1.54	0.79
Rubricito basófilo	4.94	1.02
Rubricito policromatófilo	8.71	3.34
Metarubricito	23.82	6.98
Total de células eritrocíticas	39.99	
Mieloblasto	0.59	0.42
Promielocito	0.82	0.55
Mielocito neutrófilo	1.16	0.52
Metamielocito neutrófilo	1.55	0.72
Abastonado neutrófilo	7.95	4.25
Segmentado neutrófilo	9.00	3.86
Mielocito eosinófilo	0.72	0.43
Metamielocito eosinófilo	0.69	0.43
Abastonado eosinófilo	1.66	0.66
Segmentado eosinófilo	2.16	0.75
Mielocito basófilo	0.16	0.12
Metamielocito basófilo	0.12	0.10
Abastonado basófilo	0.15	0.12
Segmentado basófilo	0.25	0.18
Total de células granulocíticas	26.99	
Osteoblastos	22.18	8.19
Osteoclastos	1.35	0.56
Megacarioblasto	0.18	0.06
Promegacariocito	0.21	0.10
Megacariocito	0.41	0.07
Células linfoides	1.36	0.63
Mastocitos	0.12	0.10
Macrófagos	1.44	0.70
Células indiferenciadas	5.96	3.95
Total de otras células	33.21	

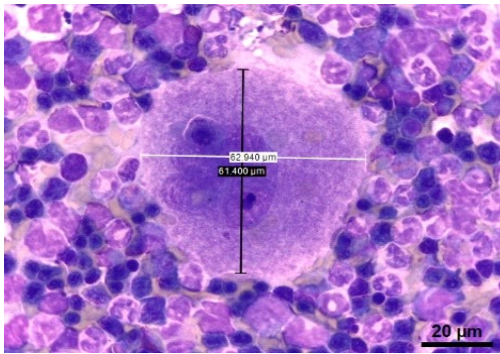


Figura 1. Morfometría de un megacariocito en médula ósea fetal de alpaca (*Vicugna pacos*) de 309 días (diámetro longitudinal: 61.4 μm , diámetro trasversal: 62.94 μm). Tinción Wright. 100x

fetal como tejido linfoide, sino que existen otros órganos como el timo e hígado que cumplen este rol desde los primeros estadios embrionarios (Montenegro, 2006; Arias *et al.*, 2011).

El elevado porcentaje de células indiferenciadas de las muestras de médula ósea con respecto a los reportes de otros autores (Andreasen *et al.*, 1994; Tornquist, 2009; Harvey, 2010), puede deberse a que se hicieron en animales adultos, los cuales presentan un desarrollo total de los componentes externos de la médula ósea. En el presente estudio, las estructuras que conforman la médula ósea fetal se encuentran aún en formación y, por eso, es fácil encontrar restos de células reticulares, vasculares y condrocíticas que pierden su forma característica al momento de realizar el frotis, impidiendo su reconocimiento.

Los índices de maduración mieloide (Cuadro 6) (metamielocitos, abastoados y segmentados) para el segundo y tercer tercio gestacional fueron de 9.4 y 6.8, respectivamente, muy diferente al valor expuesto por Martínez de Merlo (2008) de 4.4 ± 1.4 . Esto está relacionado con el 26.99% de células granulocíticas que componen el recuento di-

ferencial para el último tercio de gestación, valores bajos para el 63.22% para llamas adultas reportado por Andreasen *et al.* (1994) y de 37.9% en 24 caballos sanos indicado por Jain (1986). El bajo porcentaje de células granulocíticas en el último tercio de gestación del presente estudio está relacionado al alto porcentaje de células de la línea eritroide; posiblemente debido a la adaptación evolutiva de esta especie a las condiciones adversas de su entorno, que conlleva a priorizar el transporte de oxígeno mediante un aumento del recuento total de eritrocitos circulantes (Fowler, 2011).

El índice de maduración eritroide (metarubricitos) de 3.28 y 3.47 para el segundo y tercer tercio gestacional, respectivamente (Cuadro 6) se aproxima al valor de 5.2 ± 1.7 expuesto por Martínez de Merlo (2008). El porcentaje de metarubricitos en el último tercio de gestación ($23.82 \pm 6.98\%$) fue más alto que lo reportado en otros mamíferos (Jain, 1986). Esta característica podría estar relacionada a la rápida respuesta eritropoyética que presentan los camélidos sudamericanos frente a procesos anémicos y a la evidencia ocasional de metarubricitos en extendidos de sangre periférica en llamas (Smith *et al.*, 1991; Morin *et al.*, 1993).

La relación mieloide-eritroide en equinos varió entre 0.5 y 2.4. En bovinos, la relación M/E es baja (0.5-0.6), en cabras se reportaron valores similares y en ovejas es de 1. Los valores bajos en estos rumiantes se correlacionan con el bajo número de neutrófilos en sangre periférica comparado con otras especies y la velocidad a la que se agotan los neutrófilos durante procesos inflamatorios (Harvey, 2010; Weiss y Wardrop, 2011). En el presente estudio el elevado porcentaje de precursores eritroides en médula ósea y el bajo porcentaje de células granulocíticas dieron como resultado que la relación M/E promedio en el segundo y tercer tercio de gestación fuera de 0.47 ± 0.27 y 0.69 ± 0.19 , respectivamente (Cuadro 7), los cuales difieren estadísticamente bajo la prueba de Mann-Whitney, (Cuadro 8). Estos

Cuadro 3. Promedio (μm) de diámetros longitudinal (L) y trasversal (T) de los tipos de células observadas en muestras citológicas de médula ósea de 18 fetos de alpaca (*Vicugna pacos*) de diferentes edades gestacionales

Célula	Diámetro L	DE ¹ L	Diámetro T	DE ¹ T
Rubroblasto	18.25	1.94	16.64	1.12
Prorubricito	12.69	1.29	10.60	1.42
Rubricito basófilo	10.28	0.62	8.30	0.51
Rubricito policromatófilo	8.16	0.52	6.75	0.54
Metarubricito	5.13	0.53	4.46	0.56
Mieloblasto	16.38	0.96	12.20	0.44
Promielocito	16.37	1.01	15.39	1.80
Mielocito neutrófilo	12.47	1.06	11.28	0.85
Metamielocito neutrófilo	10.82	1.89	9.48	1.30
Abastonado neutrófilo	9.40	1.71	7.66	1.77
Segmentado neutrófilo	9.42	1.35	8.06	1.94
Mielocito eosinófilo	13.32	1.73	10.48	0.91
Metamielocito eosinófilo	11.23	2.03	9.74	1.58
Abastonado eosinófilo	10.79	2.34	9.27	1.55
Segmentado eosinófilo	9.50	1.08	8.04	1.73
Mielocito basófilo	13.78	2.18	11.06	2.25
Metamielocito basófilo	10.28	1.42	10.02	1.71
Abastonado basófilo	10.36	1.47	9.06	1.23
Segmentado basófilo	10.68	0.86	7.48	0.80
Megacarioblasto	48.32	6.39	38.66	3.09
Promegacariocito	64.95	4.51	53.55	6.74
Megacariocito	77.02	6.68	67.52	7.17
Osteoblastos	21.70	4.39	14.90	1.51
Osteoclastos	52.73	13.91	59.65	15.78
Células linfoides	9.88	1.69	7.82	2.51
Mastocitos	9.08	1.38	7.77	1.69
Macrófagos	15.63	2.31	14.29	1.51
Células indiferenciadas	9.83	3.75	8.36	2.60

DE: Desviación estándar

Cuadro 4. Porcentaje de celularidad de muestras de médula ósea de 18 fetos de alpaca (*Vicugna pacos*) según el tercio de gestación

Tercio de gestación	Feto	Edad (días)	Celularidad (%)
Primer	1	75.2	18
	2	86.7	15
	3	96.2	15
Segundo	4	121.5	20
	5	138.7	25
	6	141.0	25
	7	201.5	50
	8	219.2	55
Tercer	9	251.3	55
	10	253.9	70
	11	267.6	70
	12	278.7	75
	13	288.4	75
	14	289.6	85
	15	308.7	80
	16	311.3	90
	17	334.0	85
	18	337.1	95

Cuadro 5. Composición porcentual citológica de médula ósea de tres fetos¹ de alpaca (*Vicugna pacos*) en el primer tercio de gestación

	Promedio (%)	Desviación estándar
Macrófagos	3.04	1.27
Células indiferenciadas	96.96	2.78

¹ Edad gestacional: 75.2, 86.7 y 96.2 días. Solo se contaron 29, 37 y 55 células, debido a la escasa celularidad

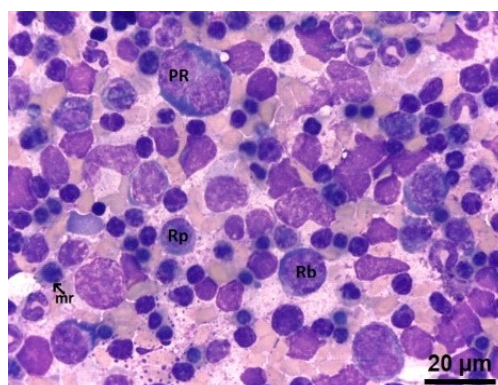


Figura 2. Células precursoras de la serie eritroide en médula ósea de feto de alpaca de 267.6 días: (PR) Prorubricito en mitosis. Nótese el citoplasma intensamente basófilo. (Rb) Rubricito basófilo. Nótese la disminución de la basofilia. (Rp) Rubricito policromatófilo. (Mr) Metarubricito. Nótese en las tres últimas células el núcleo con tendencia a volverse cada vez más picnótico. Tinción Wright.100x

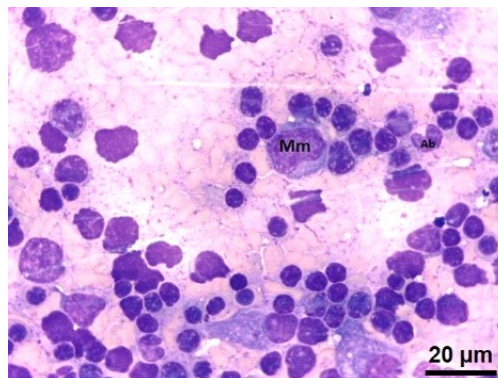


Figura 3. Células precursoras de la serie mieloide en médula ósea de feto de alpaca de 267.6 días: (Mm) Metamielocito neutrófilo. Nótese la ligera escotadura en el núcleo. (Ab) Abastonado neutrófilo. Tinción Wright.100x

valores se encuentran dentro del rango de 0.5 a 1.11 reportado para alpacas a 4200 msnm (Reynafarje *et al.*, 1968), mientras que en altitudes más bajas ha sido reportada con rangos de 0.9 a 2.9 en llamas sanas (Andrea-

Cuadro 6. Índice de maduración eritroide y mieloide (cociente de precursores en maduración entre los precursores en fase proliferativa) en fetos de alpaca (*Vicugna pacos*) en el segundo y último tercio de gestación

	Segundo tercio (%)	Tercer tercio (%)
Rubroblastos	1.72	2.46
Prorubricitos	3.18	3.84
Rubricitos basófilos	11.67	12.36
Rubricitos policromatófilos	27.30	21.79
Metarubricitos	56.13	59.56
Índice de maduración eritroide	3.28	3.47
Mieloblastos	1.93	2.18
Promielocitos	2.71	3.04
Mielocitos neutrófilos	6.80	4.32
Metamielocitos neutrófilos	13.27	5.76
Abastoados neutrófilos	4.60	29.47
Segmentados neutrófilos	36.60	33.33
Mielocitos eosinófilos	4.32	2.67
Metamielocitos eosinófilos	6.02	2.56
Abastoados eosinófilos	7.85	6.17
Segmentados eosinófilos	15.12	7.99
Mielocito basófilo	0.00	0.58
Metamielocito basófilo	0.78	0.44
Abastoadado basófilo	0	0.57
Segmentado basófilo	0	0.91
Índice de maduración mieloide	9.40	6.80

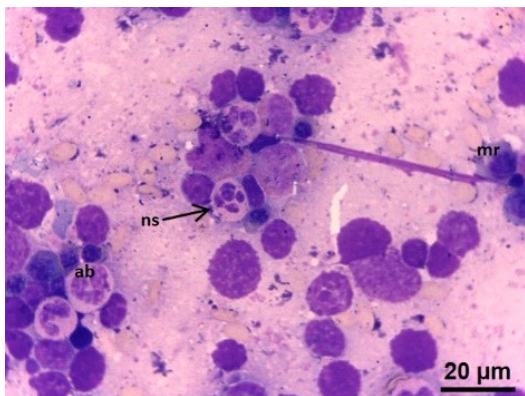


Figura 4. Médula ósea de feto de alpaca de 288.4 días. (ab) Abastoadado neutrófilo. (ns) neutrófilo segmentado. Tinción Wright. 100x

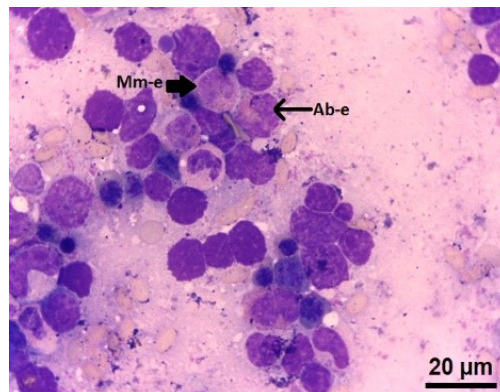


Figura 5. Médula ósea fetal de alpaca de 267.6 días. (Mm-e) Metamielocito eosinófilo. Nótese los gránulos eosinófilos en el citoplasma. (Ab-e) Abastoadado eosinófilo. Tinción Wright. 100x

Cuadro 7. Relación mieloide/eritroide (M/E) según el tercio de gestación en 18 fetos de alpaca (*Vicugna pacos*)

Tercio de gestación	Feto	Edad (días)	Relación mieloide/eritroide (M/E) ¹
Primer	1	75.2	0
	2	86.7	0
	3	96.2	0
Promedio			0
Segundo	4	121.4	0
	5	138.7	0
	6	141.0	0
	7	201.5	0.20
	8	219.2	0.73
Promedio			0.47 ± 0.27
Tercer	9	251.3	0.62
	10	253.9	0.58
	11	267.6	0.76
	12	278.7	0.44
	13	288.4	1.07
	14	289.6	0.83
	15	308.7	0.74
	16	311.3	0.77
	17	334.0	0.46
	18	337.1	0.60
Promedio			0.69 ± 0.19

¹ Dividiendo el porcentaje de células de línea granulocítica entre las células nucleadas de la línea eritroide, en un conteo de 500 células

sen *et al.*, 1994). De esta forma se puede sugerir que los cambios fisiológicos y anatómicos de adaptación a elevadas altitudes tienen influencia sobre los componentes celulares de la médula ósea en alpacas y, por consiguiente, durante su desarrollo fetal.

Cuadro 8. Estadísticos de la Prueba de Mann-Whitney aplicado a los valores de la relación mieloide/eritroide del segundo y tercer tercio de gestación en fetos de alpaca

U de mann-Whitney ¹	5
W de Wilcoxon	20
Z	-2.458
Sig. Asintótica (bilateral) (p)	0.014
Sig. Exacta (unilateral)	0.013 ²

¹Variable de agrupación: tercio de gestación

² No corregido para empates

La relación mieloide/eritroide difiere entre tercios de gestación

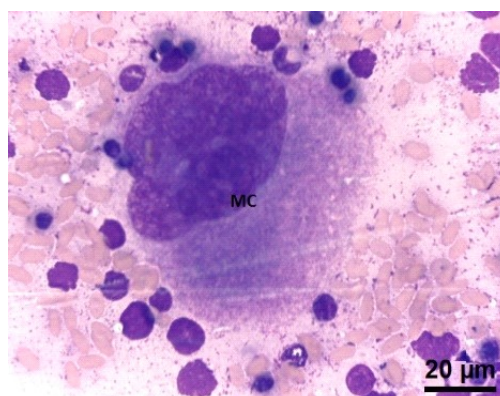


Figura 6. Médula ósea fetal de alpaca de 337.1 días. Célula precursora de serie trombocítica. (MC) Megacariocito. Nótese el núcleo lobulado y su gran tamaño. Tinción Wright. 100x

CONCLUSIONES

- Los componentes celulares pertenecientes a las líneas hematopoyéticas en fetos de alpaca son morfológicamente y

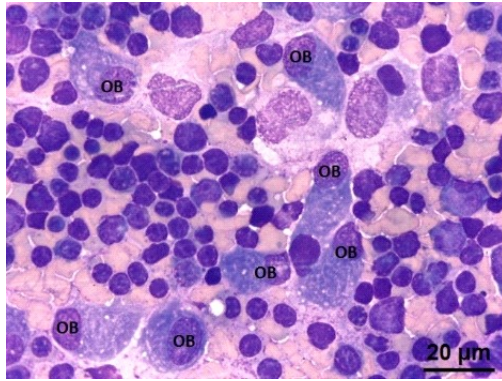


Figura 7. Médula ósea de un feto de alpaca de 334 días. (OB) Osteoblasto, célula con baja relación núcleo citoplasma. Evidentes nucléolos y citoplasma basófilo. Tinción Wright. 100x

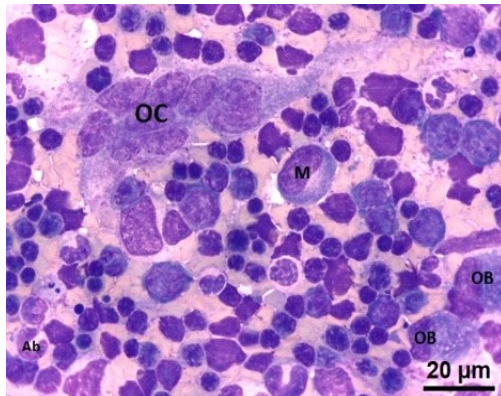


Figura 8. Médula ósea de un feto de alpaca de 334 días. (OC) Osteoclasto, célula muy grande multinucleada con citoplasma basófilo. (OB) Osteoblastos, (M) Mielocito neutrófilo, (Ab), Abastonado neutrófilo. Tinción Wright. 100x

morfométricamente similares a otros mamíferos domésticos a partir de los 201.5 días de edad gestacional.

- Los componentes celulares eritroides nucleados en última fase de maduración en la médula ósea durante el último ter-

cio gestacional de la alpaca son porcentualmente más elevados que en otros mamíferos domésticos.

- Los componentes celulares granulocíticos en la médula ósea de los fetos de alpaca son porcentualmente menores que en otros mamíferos domésticos.
- La relación mieloide/eritroide en la médula ósea de fetos de alpaca en el segundo y tercer tercio gestacional difiere estadísticamente.
- La médula ósea no tiene un rol primario como órgano linfóide durante el desarrollo fetal en la alpaca.

LITERATURA CITADA

1. **Andreasen CB, Gerros TC, Lassen ED. 1994.** Evaluation of bone marrow cytology and stainable iron content in healthy adult llamas. *Vet Clin Pathol* 23: 38-42. doi: 10.1111/j.1939-165x.1994.tb00671.x
2. **Arias W, Sandoval N, Chavera A, Manchego A. 2011.** Caracterización de la citoarquitectura esplénica fetal de alpacas (*Lama pacos*). *Rev Inv Vet Perú* 22: 81-88. doi: 10.15381/rivep.v22i2.273
3. **Battista JM, Tallmadge RL, Stokol T, Felipe MJB. 2014.** Hematopoiesis in the equine fetal liver suggest immune preparedness. *Inmunogenetics* 66: 635-649. doi: 10.1007/s00251-014-0799-9
4. **Coskun S, Chao H, Vasavada H, Heydari K, Gonzales N, Xin Zhou, Crombrughe B, Hirschi K. 2014.** Development of the fetal bone marrow niche and regulation of HSC quiescence and homing ability by emerging osteolineage cells. *Cell Reports* 9: 581-590. doi: 10.1016/j.celrep.2014.09.013
5. **Coskun S, Hirschi KK. 2010.** Establishment and regulation of the HSC niche: Roles of osteoblastic and vascular compartments. *Birth Defects Res C Embryo Today* 90: 229-242. doi: 10.1002/bdrc.20194

6. **Fowler M. 2011.** Medicine and surgery of camelids. 3th ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 630 p.
7. **Gazitua FJ, Corradini P, Ferrando G, Raggi LA, Parraguez VH. 2001.** Prediction of gestacional age by ultrasonic fetometry in llamas (*Lama glama*) and alpaca (*Lama pacos*). Anim Reprod Sci 66: 81-92. doi: 10.1016/S0378-4320(01)00083-5
8. **Gekas C, Dieterlen-Levre F, Orkin SH, Mikkola HK. 2005.** The placenta is a niche for hematopoietic stem cells. Dev. Cell 8: 365-375. doi: 10.1016/j.devcel.2004.12.016
9. **Grindem CB, Neel JA, Juopperi TA. 2002.** Cytology of bone marrow. Vet Clin North Am Small Anim Pract 32: 1313-1374. doi: 10.1016/s0195-5616(02)-00052-9
10. **Harvey JW. 2010.** Bone marrow examination. In: Harvey JW. Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals. Philadelphia, USA: Saunders. p 83-161.
11. **Jain N. 1986.** Veterinary hematology. Schalm's. 4th ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger. 1221 p.
12. **Martínez de Merlo EM. 2008.** Atlas de citología clínica del perro y del gato. Zaragoza: Servet. 408 p.
13. **Mendoza G, Echevarría L, Llerena C, Castro A, Domínguez M, Gómez S, Ghezzi M, et al. 2013.** Comparación morfológica entre el útero fetal y el útero adulto de la alpaca (*Vicugna pacos*) y la llama (*Lama glama*). Salud Tecnol Vet 1: 1-6. doi: 10.20453/stv.v1i1.103
14. **Montenegro JI. 2006.** Caracterización histológica del timo en fetos de alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 65 p.
15. **Morin DE, Garry FB, Weiser MG. 1993.** Hematologic responses in llamas with experimentally-induced iron deficiency anemia. Vet Clin Pathol 22: 81-88. doi: 10.1111/j.1939-165X.1993.tb00657.x
16. **Morrison SJ, Weissman IL. 1994.** The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. Immunity 1: 661-673. doi: 10.1016/1074-7613(94)-90037-x
17. **Naziji S, Maleki K. 1998.** Biochemical analysis of serum and cerebrospinal fluid in clinically normal adult camels (*Camelus dromedarius*). Res Vet Sci 65: 83-84. doi: 10.1016/S0034-5288(98)-90032-7
18. **Palis J, Robertson S, Kennedy M, Wall C, Keller G. 1999.** Development of erythroid and myeloid progenitors in the yolk sac and embryo proper of the mouse. Development 126: 5073-5084.
19. **Pessa-Morikawa T, Niku M, Livanainen A. 2012.** Fetal bovine bone marrow is a rich source of CD34+ hematopoietic progenitors with myelo-monocytic colony-forming activity. Dev Comp Immunol 36: 572-577. doi: 10.1016/j.dci.2011.09.014
20. **Quispe E. 2011.** Adaptaciones hematológicas de los camélidos sudamericanos que viven en zonas de elevadas altitudes. Rev Complutense Cienc Vet 5: 1-26.
21. **Reynafarje HC, Faura J, Paredes A, Villavicencio D. 1968.** Erythrokinetics in high-altitude-adapted animals (llama, alpaca, and vicuña). J Appl Physiol 24: 93-97. doi: 10.1152/jappl.1968.24.1.93
22. **Smith BB, Reed PJ, Pearson EG, Long P, Lassen ED, Watrous WJ, Lovelady S, et al. 1991.** Erythrocyte dyscrasia, anemia, and hypothyroidism in chronically underweight llamas. J Am Vet Med Assoc 198: 81-88.
23. **Tiedemann K, van Ooyen B. 1978.** Prenatal hematopoiesis and blood characteristics of the cat. Anat Embryol 153: 243-267.
24. **Tornquist SJ. 2009.** Clinical pathology of llamas and alpacas. Vet Clin North Am Food Anim Pract 25: 311-322. doi: 10.1016/j.cvfa.2009.03.004
25. **Weiss DJ, Wardrop KJ. 2011.** Schalm's veterinary hematology. 6th ed. Iowa: John Wiley. 1232 p.