

Utilidad del extendido de sangre periférica: las plaquetas*

Germán Campuzano Maya¹

*“La sangre es pura y elocuente”
(Maxwell Myer Wintrobe, 1901-1986)*

Resumen: a pesar de los grandes avances tecnológicos relacionados con el hemograma, y en particular los derivados de los autoanalizadores de hematología, cada vez más sofisticados y completos, el extendido de sangre periférica continúa siendo el “estándar de oro” del diagnóstico hematológico. De acuerdo con las buenas prácticas de hematología, el extendido de sangre periférica está indicado en todos los hemogramas que muestren alguna desviación en los recuentos directos, indirectos o calculados, o cuando se sospeche clínicamente una enfermedad de origen hematológico o de origen no hematológico con manifestaciones hematológicas, aun con parámetros entre los rangos esperados. En el extendido de sangre periférica es posible observar alteraciones relacionadas con la morfología de los eritrocitos, leucocitos y las plaquetas. En este módulo se analizarán los aspectos más importantes de la morfología de las plaquetas, en particular: 1) el recuento de plaquetas que define los conceptos de trombocitopenia y trombocitosis, 2) las variaciones en el tamaño, la morfología y los gránulos citoplasmáticos y su relación con las enfermedades plaquetarias asociadas, 3) los nuevos parámetros plaquetarios derivados de la incorporación de los autoanalizadores de hematología a los laboratorios clínicos, especialmente el volumen medio plaquetario y el ancho de distribución de las plaquetas y su relación con los aspectos morfológicos evidenciables en el extendido de sangre periférica, y 4) se aborda el problema de los resultados falsos bajos (seudotrombocitopenia) o altos (trombocitosis) y se dan pautas para su adecuado estudio sistemático cuando se presentan estos resultados. Este módulo, dedicado al análisis de la morfología de las plaquetas en el extendido de sangre periférica, provee al profesional de laboratorio elementos que le permiten identificar adecuadamente las diferentes alteraciones de estas células, en tanto que al médico le proporciona información para que relacione los hallazgos, tanto cuantitativos como morfológicos, con la clínica.

Palabras claves: extendido de sangre periférica, morfología plaquetaria, clínica.

Campuzano-Maya G. Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: las plaquetas. *Medicina & Laboratorio* 2008, 14: 511-531.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 71. Editora Médica Colombiana S.A., 2008©.

Recibido el 19 de agosto, 2008; aceptado el 5 de septiembre 2008.

*. Parte 3 de 3

1. Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Profesor *Ad Honorem*, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Médico Director, Laboratorio Clínico Hematológico S.A. Medellín, Colombia. Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. E-mail: gcampuzano@hematologico.com

Como se expresó en dos módulos anteriores, en los cuales se analizó la utilidad clínica del extendido de sangre periférica en las alteraciones de los eritrocitos [1] y de los leucocitos [2], a pesar del descomunal desarrollo de los autoanalizadores de hematología y de los grandes avances en el campo del laboratorio clínico en general y de la hematología en particular, el extendido de sangre periférica continúa como el “estándar de oro” en el diagnóstico hematológico. De acuerdo con la clasificación de los hemogramas, según la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [3], que coincide con los estándares internacionales [4] y que es acogida, aunque parcialmente, por el Ministerio de Protección Social de Colombia [5], el estudio del extendido de la sangre periférica hace parte integral de los hemogramas tipo I, II, III y IV y depende de los hallazgos de los respectivos autoanalizadores y de las necesidades del médico solicitante, en los hemogramas tipo V y VI [6]. Muchas enfermedades tienen manifestaciones hematológicas que en el hemograma se expresan como cambios cuantitativos, que pueden ser determinados por los métodos convencionales para hacer el hemograma ya sea de forma manual o con la ayuda de los autoanalizadores, cada vez más utilizados en los laboratorios clínicos, o como cambios cualitativos, solos o asociados con los primeros, que solamente pueden ser definidos mediante un adecuado estudio del extendido de sangre periférica [6-10].

Con este módulo, producto de una amplia revisión bibliográfica, se concluye una serie de módulos que sobre el hemograma se presentó en números anteriores de MEDICINA & LABORATORIO [6, 11], sobre todo con relación a la utilidad clínica del extendido de sangre periférica [1, 2] y tiene como finalidad presentar a los profesionales del laboratorio clínico las variables que deben asegurar para que el hemograma logre su objetivo como prueba de laboratorio, y a los médicos las posibilidades de aplicación en la clínica que el hemograma le aporta en su diario quehacer. En esta entrega se revisarán las variaciones más importantes, cuantitativas y cualitativas, relacionadas con las plaquetas.

Megacariopoyesis

La megacariopoyesis es el proceso por medio del cual los megacariocitos, que se derivan de células madre hematopoyéticas pluripotentes [12], cuya función principal es la producción de plaquetas (trombopoyesis), las cuales son críticas para una adecuada hemostasia en la vasculatura sanguínea periférica [13]. Un adulto normal, de 70 kilogramos de peso, produce alrededor de 100.000 millones de plaquetas (10^{11}) por día y este número puede elevarse hasta 20 veces en caso de necesidad [14].

El megacariocito

El megacariocito, se deriva de las células madre hematopoyéticas primitivas, con un diámetro de 50 a 100 μm , constituyéndose en la célula más grande del organismo, es multilobulada y su núcleo es poliploide [12]. A diferencia de los otros precursores hematopoyéticos, como los proeritroblastos, los promegacariocitos (megacarioblastos), los precursores de los megacariocitos, se diferencian por sucesivas replicaciones del ADN sin dividirse en células hijas, con lo cual el número de cromosomas presentes en el núcleo se duplica en cada ciclo. Este fenómeno se llama endomitosis, y origina células con 2, 4, 8, 16, 32 y excepcionalmente 64 veces más ADN que una célula somática (llamadas 2N, 4N, 8N, etc). Al mismo tiempo que aumenta el tamaño del núcleo, se incrementa la cantidad de citoplasma y la capacidad de producir plaquetas. Por su gran núcleo, estas células se conocen como megacariocitos. Los megacariocitos 8N y mayores se diferencian, adquiriendo un gran número de gránulos azurófilos, y son los que originan las plaquetas. Durante la vida, un megacariocito maduro puede producir hasta 10.000 plaquetas [12]. En la **figura 1** se esquematiza el proceso de la trombopoyesis y en las **figuras 2** y **3** se muestran dos megacariocitos típicos.

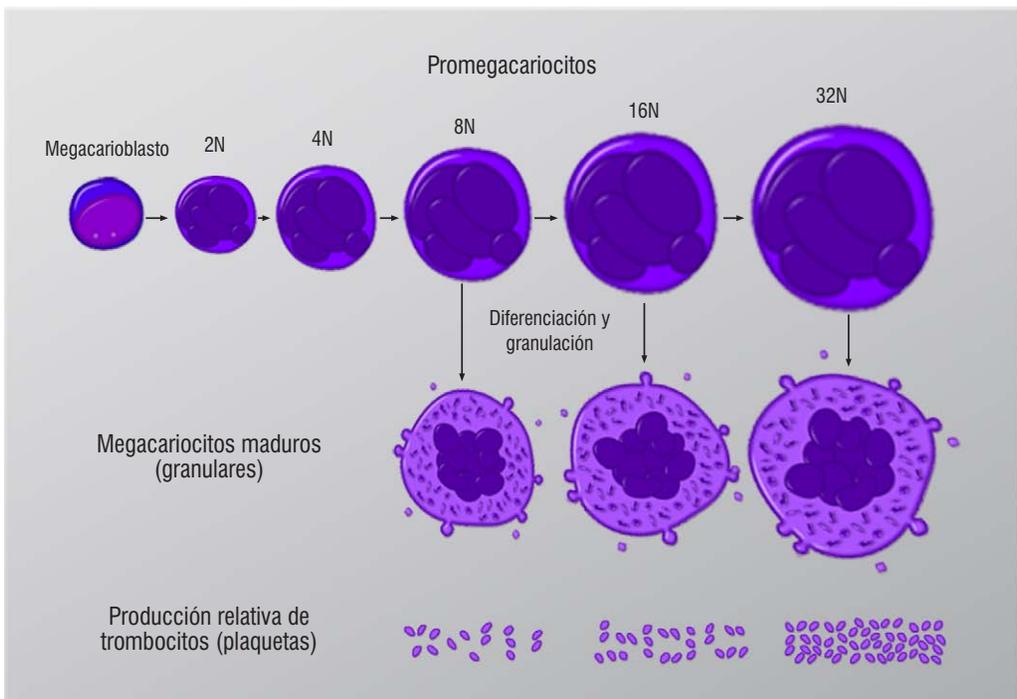


Figura 1. Trombopoyesis normal.

La plaqueta

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados, no células como erróneamente se hace referencia a ellas con frecuencia, que se producen como consecuencia de la ruptura y liberación del citoplasma de los megacariocitos de la médula ósea [15]. Las plaquetas circulan en la sangre en forma de disco biconvexo (discocitos) de aproximadamente $3\ \mu\text{m}$ de diámetro, un volumen (volumen medio plaquetario) de $8,3$ a $11,6\ \text{fL}$ y $10\ \text{pg}$ de peso [15]. Tienen una vida media en la sangre de 7 a 10 días y su concentración oscila entre 150.000 y 450.000 por μL [15]. En su citoplasma contienen glucógeno que les suministra energía, y ribosomas en las plaque-

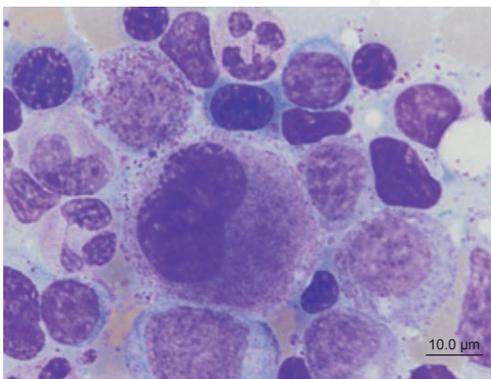


Figura 2. Megacariocito normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X .

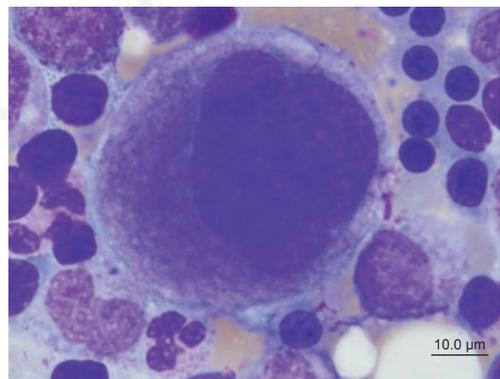


Figura 3. Megacariocito normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X .

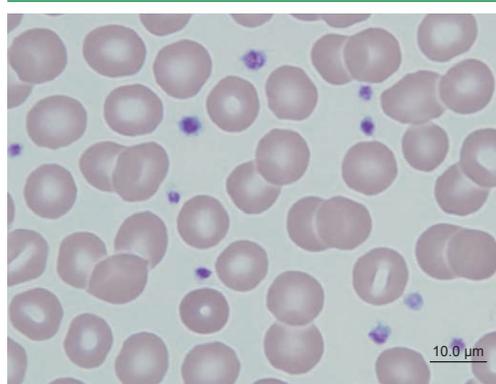


Figura 4. Sangre periférica de un individuo normal en donde se observan, además de los eritrocitos normales, varias plaquetas normales. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalyzer de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

mento (1.000X), se observan 10 a 14 plaquetas por campo, de color rosado característico [16], como se observa en la **figura 4**. Sin embargo, esta estimación semicuantitativa no puede sustituir el recuento directo de plaquetas, bien sea en cámara de Neubauer o mejor mediante el empleo de un autoanalyzer de hematología. Con la incorporación, cada vez mayor, a los laboratorios clínicos de estos instrumentos, las plaquetas y los parámetros con ellas relacionadas hacen parte integral de los hemogramas, al menos los considerados de alta tecnología como los tipo V y VI, de acuerdo con los criterios de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [3]. En la **tabla 1** se presentan los nuevos parámetros, de utilidad clínica, y sus respectivos valores de referencia, derivado del análisis de 17.191 trombogramas, realizados con un autoanalyzer de hematología de última generación, el XE-2100 de Sysmex®, mediante el método de Bhattacharya [18], para definir los valores de referencia de un laboratorio clínico privado de Medellín, Colombia, como se analizarán oportunamente.

Las plaquetas en el extendido de sangre periférica

Así como el estudio del extendido de sangre periférica tiene indicaciones y aplicaciones clínicas en relación con los eritrocitos [1] y los leucocitos [2], como se ha revisado ampliamente en los dos módulos anteriores, en el caso de las plaquetas el extendido de sangre periférica es indispensable en todos los casos en los cuales el autoanalyzer de hematología informe trom-

Tabla 1. Valores de referencia para el trombograma*

Parámetro	Valores de referencia
Recuento de plaquetas	150 a 450 mil por μ L
Volumen medio plaquetario	8,3 a 11,6 fL
Ancho de distribución de las plaquetas, desviación estándar	9 a 17 fL
Plaquetas reticuladas o inmaduras	1 a 6,5%

* Observación: los valores aquí consignados son los valores de referencia de los parámetros plaquetarios (trombograma) del hemograma tipo VI, utilizando un autoanalyzer de hematología XE-2100 de Sysmex®, en el Laboratorio Clínico Hematológico, en Medellín, Colombia, derivados del análisis de 17.191 trombogramas de acuerdo con el método de Bhattacharya [18]. Estos valores sólo pueden ser utilizados como ejemplo, cada laboratorio clínico debe definir sus respectivos valores de referencia de acuerdo con las características de la población a la que atiende, acorde con el instrumento y la tecnología utilizada.

bocitopenia, trombocitosis, desviaciones en cualquiera de los parámetros plaquetarios y alarmas relacionadas con las plaquetas como presencia de macrotrombocitos y agregados de plaquetas, entre otros. También se debe hacer estudio de plaquetas en el extendido de sangre periférica cuando hay otras alteraciones, sobre todo, en los componentes eritrocitarios como microcitosis y fragmentación de eritrocitos [19] y leucocitosis [20-22], por ejemplo. Y algo de vital importancia: descartar en todos los casos una seudotrombocitopenia o una seudotrombocitosis que pueden tener nefastas consecuencias para el paciente y los sistemas de salud si no se detectan oportunamente como se analizará más adelante.

Seudotrombocitopenia

Es el término utilizado para indicar una falsa disminución en el recuento de plaquetas. Antes de definir que un paciente tiene trombocitopenia, en todos los casos, se debe seguir un protocolo que la verifique o excluya, partiendo del extendido de sangre periférica. La seudotrombocitopenia es una alteración *in vitro*, que se presenta en la población general, en una proporción de una por cada 1.000 individuos [23] y hasta en el 1,9% de los pacientes graves [24]. Es importante enfatizar que hasta el 15,3% de los pacientes ambulatorios con recuentos plaquetarios bajos tienen una pseudotrombocitopenia, razón más para sospecharla y descartarla en todos los casos, antes de informar los resultados de laboratorio [25]. La seudotrombocitopenia usualmente se presenta por fenómenos que induce el ácido etilendiaminetetracético, más conocido como EDTA, el anticoagulante más utilizado para los hemogramas electrónicos [26, 27]. Desde el punto de vista del laboratorio clínico, la seudotrombocitopenia se puede presentar por satelitismo plaquetario, agregados plaquetarios o por la presencia de macrotrombocitos en la muestra, como se analizará en los subtítulos siguientes.

Satelitismo plaquetario

En el satelitismo plaquetario, las plaquetas se adhieren a otras células circulantes, en particular a los polimorfonucleares neutrófilos [28] como se observa en las **figuras 5 y 6**, a los monocitos [29] como se observa en la **figura 7**, y a los linfocitos [30] como se observa en la **figura 8**. Además, en nuestro medio las hemos encontrado adheridas a polimorfonucleares basófilos como se observa en la **figura 9** y a otras plaquetas, usualmente a plaquetas más grandes que las que se adhieren, como se observa en la **figura 10**.

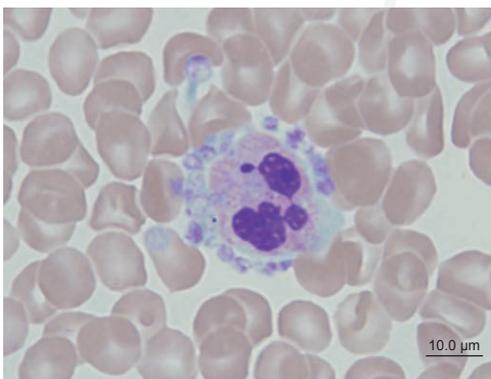


Figura 5. Satelitismo plaquetario alrededor de un polimorfonuclear neutrófilo por EDTA. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

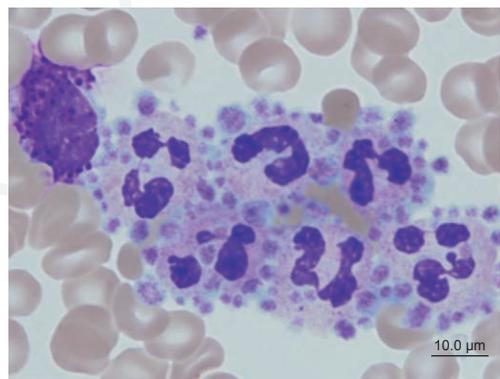


Figura 6. Satelitismo plaquetario alrededor de un grupo de polimorfonucleares neutrófilos por EDTA. Además del satelitismo plaquetario, se presenta un fenómeno de autoaglutinación de neutrófilos por EDTA. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

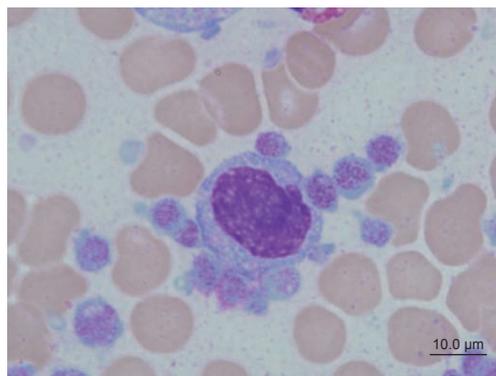


Figura 7. Satelitismo plaquetario alrededor de un monocito en un paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanálizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

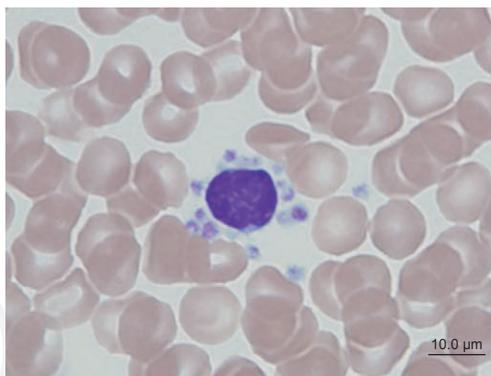


Figura 8. Satelitismo plaquetario alrededor de un linfocito en un paciente con diagnóstico de un linfoma no Hodgkin. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanálizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

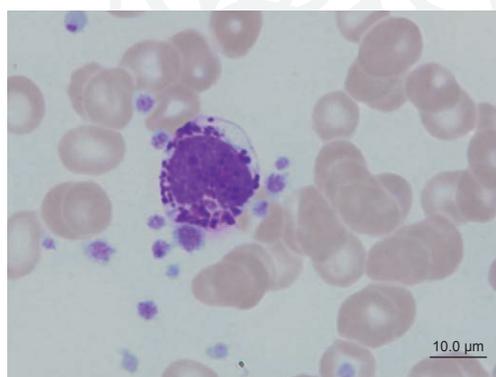


Figura 9. Satelitismo plaquetario alrededor de un polimorfonuclear basófilo en un paciente con diagnóstico de un síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanálizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.



Figura 10. Satelitismo plaquetario alrededor de un megatrombocito por EDTA. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanálizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Agregados plaquetarios

Son fenómenos que inducen la formación de agregados plaquetarios [31], como se observa en la **figura 11**.

Etiología de la seudotrombocitopenia

A pesar de que la mayoría de los casos de seudotrombocitopenia, ya sea por satelitismo plaquetario y por la formación de agregados plaquetarios, se explica por la presencia de anticuerpos contra el EDTA, también se puede presentar como una manifestación paraclínica en una serie de enfermedades, que el médico no debe ignorar, como las que se relacionan en la **tabla 2**.

Otras causas de seudotrombocitopenia

Presencia de macrotrombocitos

Además de la seudotrombocitopenia relacionada con el EDTA o con fenómenos autoinmunes que inducen satelitismo plaquetario o por la formación de agregados plaquetarios, los contadores

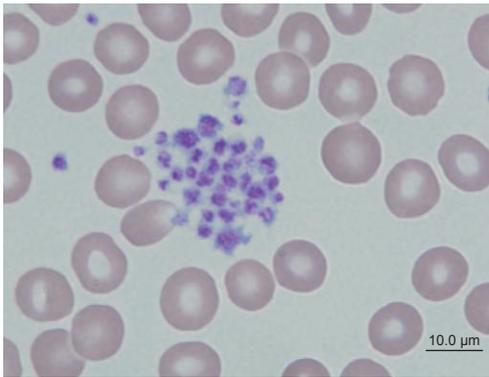


Figura 11. Agregados plaquetarios por EDTA. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

de células pueden “ser engañados” cuando las plaquetas por su tamaño, únicas cuando son grandes o varias cuando siendo normales se agrupan dos o tres plaquetas para formar “una célula más grande”, interpretando incorrectamente estas plaquetas como eritrocitos, como sucede en los casos en donde hay aglutinación de plaquetas [48] en los casos de agregación plaquetaria, previamente analizados, o cuando las plaquetas son grandes, como sucede en el síndrome de Bernard-Soulier [49, 50] y en las otras formas de macrotrombocitopenias hereditarias [51, 52], entre otras situaciones que usualmente se resuelven cuando se observan las plaquetas en el extendido de sangre periférica. En las **figuras 12 a 15** se muestran algunos ejemplos de seudotrombocitopenia por este mecanismo. Es importante anotar que los autoanalizadores de última generación, que cuentan plaquetas por láser, usualmente no se confunden con eritrocitos.

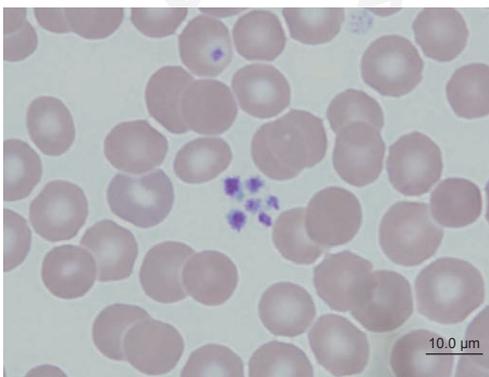


Figura 12. Seudotrombocitopenia por EDTA. Obsérvese la acumulación de varias plaquetas que terminan teniendo un tamaño similar al de un eritrocito, que el autoanalizador de hematología cuando las cuenta por impedancia las malinterpreta como eritrocitos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Tabla 2. Principales entidades clínicas, ordenadas alfabéticamente, en donde se ha observado seudotrombocitopenia por satelitismo plaquetario o formación de agregados plaquetarios

Cirrosis hepática [32]
Crioaglutininas [33]
Criofibrinogenemia [34]
Enfermedades mieloproliferativas [35]
Gestación [36, 37]
Infecciones severas [38]
Linfomas no Hodgkin, especialmente los del manto [39]
Lupus eritematoso diseminado [40]
Mieloma múltiple [41]
Mononucleosis infecciosa [42]
Nefritis por IgA [43]
Reacciones medicamentosas [44]
Síndrome antifosfolípido [45]
Timoma y plasmocitoma [46]
Vasculitis [47]

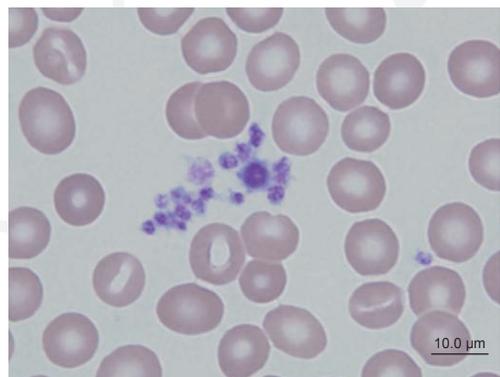


Figura 13. Seudotrombocitopenia por EDTA. Como en el caso anterior, la acumulación de varios grupos de plaquetas que cuando se separan parcialmente terminan teniendo un tamaño similar al de un eritrocito, que el autoanalizador de hematología cuando las cuenta por impedancia las malinterpreta como eritrocitos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

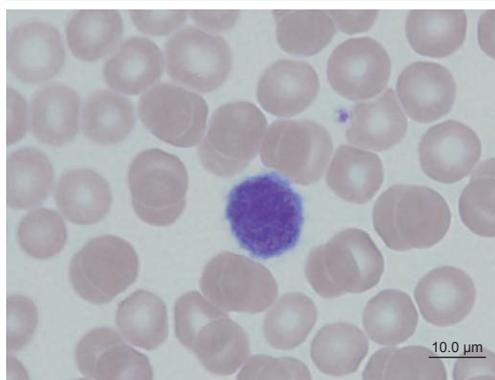


Figura 14. Macrotrombocito en paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática, que el autoanizador de hematología por impedancia puede interpretar como eritrocitos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

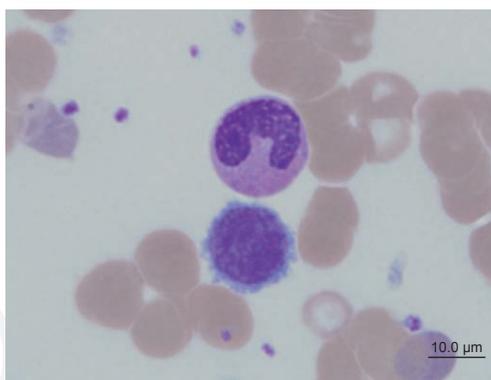


Figura 15. Macrotrombocito en el extendido de sangre periférica de una paciente con diagnóstico de síndrome dismielopoietico que el autoanizador de hematología por impedancia puede malinterpretar como un eritrocito. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Consecuencias de una seudotrombocitopenia no identificada

Como se ha expresado, la seudotrombocitopenia es un fenómeno *in vitro* que se presenta sólo con los autoanalizadores de hematología [26]. Una seudotrombocitopenia que se deje pasar como una trombocitopenia verdadera puede confundirse con una púrpura trombocitopénica idiopática y el paciente ser sometido a tratamiento que incluye esteroides, citostáticos o esplenectomía [26, 53], transfusiones plaquetarias innecesarias [54] u otros procedimientos de alto riesgo para el paciente [55], como se ha informado en la literatura médica. En la **figura 16** se propone un algoritmo para el estudio de seudotrombocitopenia [56].

Seudotrombocitosis

Contrario a la seudotrombocitopenia, seudotrombocitosis es el término utilizado para indicar un falso aumento en el recuento de plaquetas. Como en el caso anterior, antes de definir que un paciente tiene trombocitosis, en todos los casos se deben hacer los procedimientos que la verifiquen o la excluyan en el extendido de sangre periférica. A diferencia de la seudotrombocitopenia que es más un fenómeno *in vitro*, la seudotrombocitosis usualmente se presenta asociada con una enfermedad y así se ha informado en pacientes con crioglobulinemia [21, 57-61], en pacientes con neoplasias asociadas con fragmentación de células, en particular en algunas leucemias a partir del momento en que se inicia la quimioterapia, como parte del síndrome de lisis tumoral [62], en pacientes con leucemia de células peludas [20], en pacientes con quemaduras severas, en los cuales se presenta un cuadro de coagulación intravascular diseminada con microesferocitos que el autoanizador de hematología interpreta falsamente como plaquetas [63], en pacientes con inclusiones citoplasmáticas que pueden inducir un fenómeno de crioglobulinemia [64] y en pacientes con fragmentación de eritrocitos como sucede en la coagulación intravascular diseminada [19].

Variaciones en el recuento de las plaquetas

Independiente del método utilizado, el recuento de plaquetas define los conceptos más importantes en las enfermedades plaquetarias: la trombocitopenia y la trombocitosis, como se analizará a continuación.

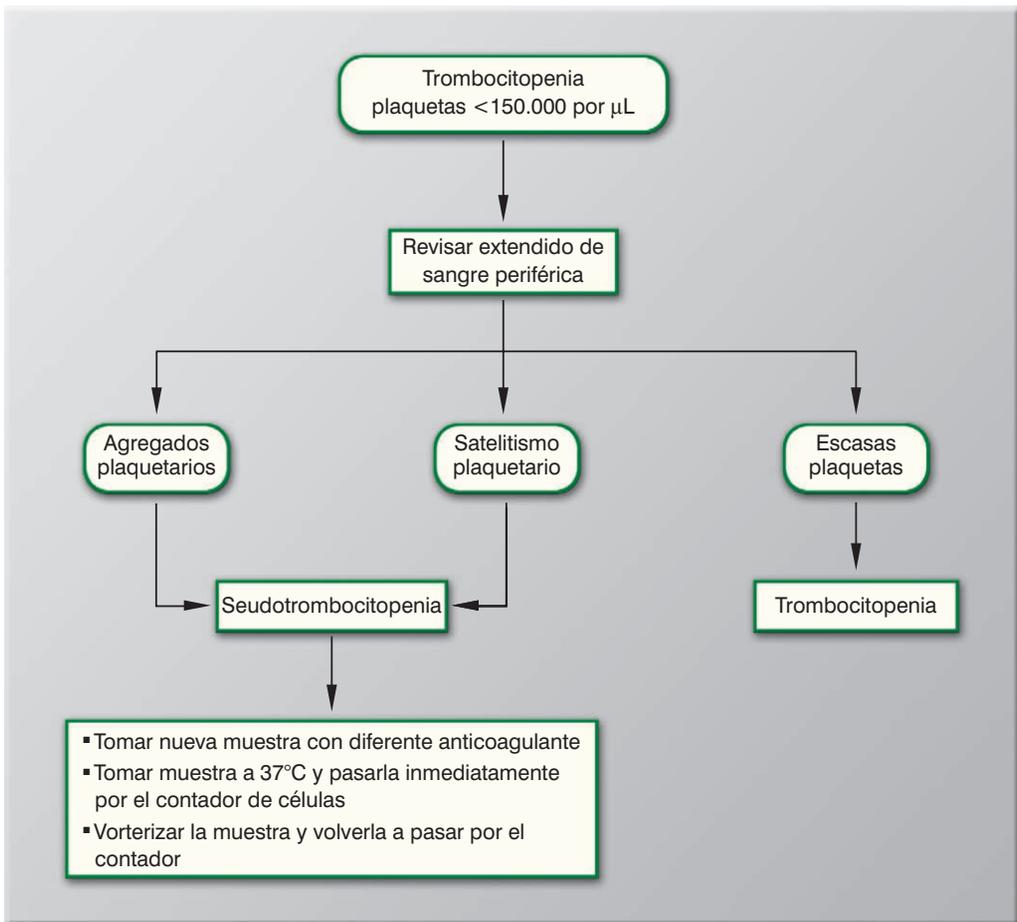


Figura 16. Algoritmo para el estudio de la seudotrombocitopenia. Tomado de **Campuzano-Maya G.** Evaluación del paciente con trombocitopenia. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 411-435 [56].

Trombocitopenia

Es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo (150.000 por μL) esperado, en el recuento de plaquetas [65]. En la **figura 17** se presenta un extendido de sangre periférica de un paciente con una severa trombocitopenia (5.000 por μL) en donde no se visualizan las plaquetas. Son muchas las causas de trombocitopenia, pero vale la pena enfatizar una recientemente descrita, la trombocitopenia mediada inmunológicamente por la infección por *Helicobacter pylori*, que explica hasta el 84% de las trombocitopenias inmunológicas en Colombia y hasta el 54% en el mundo, como lo demuestra el seguimiento de más de 1.500 pacientes en donde la erradicación de la infección, puede revertir la trombocitopenia, con curación definitiva de la enfermedad [66]. Las causas íntimas por las cuales se presenta trombocitopenia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [67] o revisiones especializadas [53, 68-70]. Como en las otras alteraciones cuantitativas del hemograma, en todos los casos en donde hay trombocitopenia, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de las plaquetas en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [65].

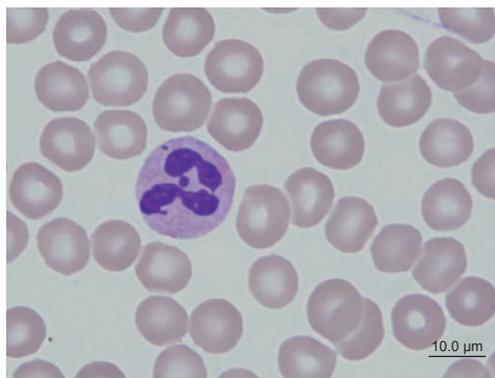


Figura 17. Extendido de sangre periférica de una paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática con un recuento de 5.000 plaquetas por μL . Obsérvese la ausencia total de plaquetas en el extendido. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Trombocitosis

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo (450.000 por μL) esperado, en el recuento de plaquetas [65]. Como en el caso anterior, antes de definir que un paciente tiene trombocitosis se deben hacer los procedimientos que la verifiquen en el extendido de sangre periférica [71]. El recuento de plaquetas no tiene diferencia por género, edad ni grupo étnico [65]. Las causas íntimas por las cuales se presenta trombocitosis son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [71] o revisiones especializadas [72, 73]. Como en las otras alteraciones cuantitativas del hemograma, en todos los casos en donde hay trombocitosis, sola o asociada con otras alteraciones del hemograma, es necesario complementar el estudio con la observación

directa de las plaquetas en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [65]. En las **figuras 18 y 19** se muestra en extendido de sangre periférica de una trombocitosis reactiva y una trombocitosis neoplásica, respectivamente.

Variaciones morfológicas de las plaquetas

Desde el punto de vista práctico, se presentan tres posibilidades: variaciones en el tamaño, variaciones en la forma y variaciones en el contenido citoplasmático. Algunas de las variaciones morfológicas de las plaquetas se correlacionan con los nuevos parámetros derivados de los autoanalizadores de hematología de última generación.

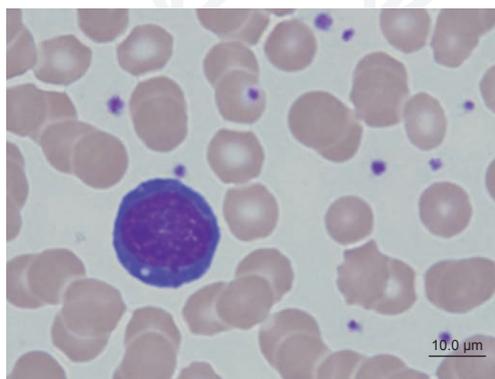


Figura 18. Trombocitosis reactiva en un paciente con un cuadro infeccioso de tipo viral. Recuento de plaquetas 580.000 por μL , volumen medio plaquetario 9 fL, ancho de distribución de las plaquetas 9,8 fL. Además del aumento en el recuento de plaquetas, se observa en extendido de sangre periférica un linfocito reactivo. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

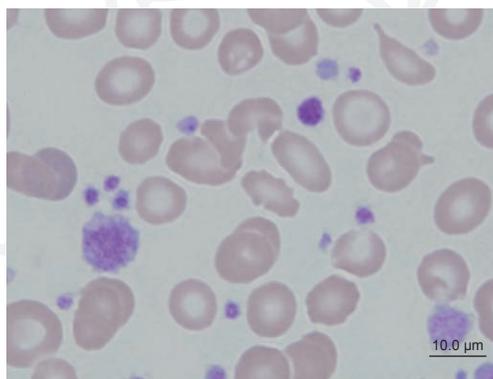


Figura 19. Trombocitosis en un paciente con diagnóstico de un síndrome dismielopoyético. Recuento de plaquetas 750.000 por μL , volumen medio plaquetario 12 fL, ancho de distribución de las plaquetas 13,1 fL. Además de los parámetros cuantitativos, en el extendido de sangre periférica se observa una marcada anisocitosis plaquetaria con presencia de megatrombocitos y cambios en la coloración de las plaquetas. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Variaciones en el tamaño de las plaquetas

Tradicionalmente, el tamaño de las plaquetas puede ser evaluado comparándolas con los eritrocitos o, idealmente, midiéndolas con un micrómetro ocular cuando se hace por métodos manuales [65]. Cuando se dispone de un autoanizador de hematología, especialmente cuando se tiene un instrumento de última generación, el tamaño de la plaqueta se determina electrónicamente bajo el parámetro volumen medio plaquetario, que similar al volumen corpuscular medio de los eritrocitos, determina en femtolitros (fL) el tamaño promedio de las plaquetas [11, 74]. Cuando se estudian las plaquetas con la ayuda de los autoanizadores de hematología se observa que el tamaño de las plaquetas en individuos normales varía inversamente con el recuento de plaquetas [75], pero esta variación no es suficiente para ser detectada en el extendido de sangre periférica [76]. Con la incorporación de nuevos parámetros plaquetarios a la actividad médica, el extendido de sangre periférica cobra mayor importancia como un estudio complementario en caso de alteraciones cuantitativas de estos parámetros, de las alarmas incorporadas a los instrumentos y de la clínica por la cual se solicita un estudio plaquetario en particular. Las plaquetas grandes, de más de 4 μm de diámetro, se denominan megatrombocitos [76] y pueden llegar a tener un tamaño similar al de un linfocito o un eritrocito como se observa en la **figura 20**. Desde el punto de vista práctico, las variaciones en el tamaño de las plaquetas se miden objetivamente con el volumen medio plaquetario, parámetro exclusivo de los autoanizadores de hematología y se verifica con el extendido de sangre periférica [77]. De acuerdo con el volumen medio plaquetario, similar a la clasificación morfológica de las anemias que las define de acuerdo con el volumen corpuscular medio de los eritrocitos en microcíticas, normocíticas y macrocíticas, en el caso de las plaquetas, y en particular en las trombocitopenias, de acuerdo con el volumen medio plaquetario se pueden agrupar en microtrombocíticas, normotrombocíticas y macrotrombocíticas si están por debajo, en el rango o por encima del valor de referencia [78], respectivamente.

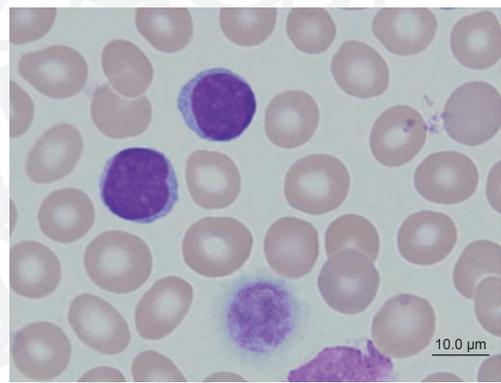


Figura 20. Megatrombocito, plaqueta del tamaño de un linfocito pequeño o de un eritrocito, en extendido de sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia linfocítica crónica. Este tipo de plaqueta usualmente es contado por el autoanizador de hematología como un eritrocito, por lo cual se presenta seudotrombocitopenia y falso aumento de eritrocitos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Alteraciones plaquetarias con microtrombocitos

Corresponden a un grupo de enfermedades muy raras que están caracterizadas por la presencia en sangre periférica de plaquetas pequeñas (con un volumen medio plaquetario por debajo de 6,9 fL) también denominadas microtrombocitos, con o sin alteraciones en el recuento de las plaquetas. De éstas la más representativa es el síndrome de Wiskott-Aldrich que será analizado a continuación.

Síndrome de Wiskott-Aldrich

Es un raro desorden hereditario ligado al cromosoma X [79] producido por una mutación en el gen WASP localizado en el brazo corto del cromosoma X, que codifica para una proteína de 502 aminoácidos llamada WAS [79, 80]. Esta proteína intracelular se expresa sólo en células hematopoyéticas y es un miembro de una familia de proteínas que participan en la transduc-

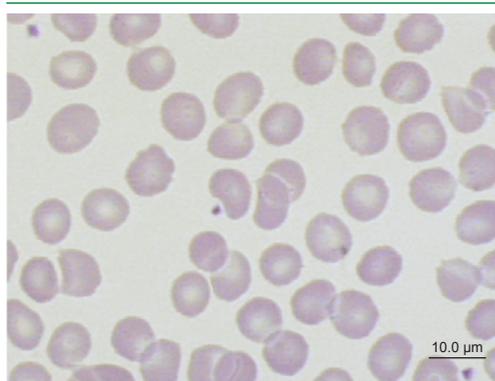


Figura 21. Extendido de sangre periférica de un paciente con síndrome de Wiskott-Aldrich, en donde se evidencian la trombocitopenia y los microtrombocitos característicos de este síndrome. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

ción de señales desde receptores celulares en la membrana celular hacia el citoesqueleto de actina [81]. Desde el punto de vista clínico, el síndrome de Wiskott-Aldrich se caracteriza por la tríada: trombocitopenia, inmunodeficiencia y eczema, que se manifiesta por hemorragias y aumento en la susceptibilidad a las infecciones bacterianas y virales [82]. La importancia de diagnosticarlo lo más temprano posible radica en el hecho de que la enfermedad con frecuencia es fatal antes de los 10 años, debido a infecciones, sangrado o neoplasia linfoproliferativa [83] y que estos pacientes se pueden beneficiar de un trasplante de médula ósea [84]. Además de la tríada antes citada, el daño inmune también puede manifestarse como hemólisis autoinmune, vasculitis, enfermedad inflamatoria intestinal y alergia a leche de vaca

y otros alimentos [80, 85]. El recuento de plaquetas en estos pacientes oscila entre 20.000 y 100.000 por μL , pero la característica más llamativa es el tamaño de las plaquetas que fluctúa entre 3 fL y 5 fL (valor de referencia: 6,9 a 10,5 fL) [82, 86], como se observa en la **figura 21**. De manera interesante, las plaquetas producidas *in vitro* por megacariocitos de pacientes con síndrome de Wiskott-Aldrich, tienen tamaño normal y arquitectura anormal [87] y es posible que las anomalías estructurales conlleven a una remoción de las plaquetas por parte del bazo, ya que la esplenectomía usualmente corrige tanto la trombocitopenia como el volumen medio plaquetario en estos pacientes [80].

Otras formas de trombocitopenia microtrombocítica

Además del síndrome de Wiskott-Aldrich, otras enfermedades más raras y aún no informadas en el medio, son la trombocitopenia ligada al cromosoma X (variante del síndrome de Wiskott-Aldrich), una forma de trombocitopenia hereditaria ligada al cromosoma X en forma recesiva que se ha descrito en varios grupos familiares y se manifiesta por síntomas de atopía y anomalías en el laboratorio, como disminución del volumen medio plaquetario y aumento de los anticuerpos antiplaquetarios del tipo IgG, que sugirieron que esta entidad está relacionada con el síndrome de Wiskott-Aldrich [88]. Además de la variante del síndrome de Wiskott-Aldrich previamente descrita, en algunas familias se han reportado otros casos de microtrombocitopenia ligada al cromosoma X con parámetros plaquetarios normales [89] o elevación del volumen medio plaquetario [90]. Algunos representan síndromes clínicos diferentes, tales como la trombocitopenia con talasemia ligada al cromosoma X [91] y la pseudoobstrucción intestinal idiopática crónica [83].

Alteraciones plaquetarias con normotrombocitos

En la mayoría de los trastornos plaquetarios, el tamaño y sus variaciones y la forma de las plaquetas son normales, clasificándose, de esta manera, casi todas las trombocitopenias y trombocitosis en este grupo morfológico.

Alteraciones plaquetarias con macrotrombocitos

Como en el caso de las trombocitopenias con plaquetas pequeñas, este grupo de enfermedades muy raras están caracterizadas por la presencia en sangre periférica de plaquetas grandes (con un volumen medio plaquetario por encima de 11,6 fL) también denominadas macrotrom-

bocitos, con o sin alteraciones en el recuento de las plaquetas. De estas la más representativa es el síndrome de Bernard-Soulier que será analizado a continuación.

Síndrome de Bernard-Soulier

El síndrome de Bernard-Soulier, también conocido como distrofia trombocitaria-hemorrágica congénita, es un desorden de la función plaquetaria caracterizado por trombocitopenia, plaquetas gigantes y tiempo de sangría prolongado [92] que se presenta como resultado de una anomalía molecular que afecta las plaquetas [93] e induce una disfunción plaquetaria por falta de interacción de las plaquetas con el factor von Willebrand [94]. El síndrome de Bernard-Soulier es una enfermedad extremadamente rara, con una prevalencia de 1 por millón y es frecuente encontrar consanguinidad, debido a que se hereda en forma autosómica recesiva [95]. A nivel molecular, la causa predominante de las diversas mutaciones, como la delección de dinucleótidos, es que altera la lectura estructural de las regiones que decodifican la glicoproteína, produciendo de esta manera proteínas anormales, responsables de las manifestaciones del daño funcional de las plaquetas y hasta el momento se han descrito más de 30 mutaciones relacionadas con el síndrome de Bernard-Soulier [96]. Los estudios de sobrevivencia plaquetaria sugieren que en el síndrome de Bernard-Soulier la vida media de las plaquetas está acortada [93], hallazgo que podría explicar la elevación del índice de plaquetas inmaduras que se observa en estos pacientes (observación personal). Y, finalmente, desde el punto de vista de su diagnóstico, en el extendido de sangre periférica, del 30% al 80% de las plaquetas de un paciente con síndrome de Bernard-Soulier característicamente tiene más de 3,5 μm de diámetro y ocasionalmente pueden llegar a tener 20 μm a 30 μm de diámetro, más grandes que los eritrocitos y los leucocitos [49]. El tiempo de sangría característicamente está por encima de 20 minutos [49], en los estudios de agregación plaquetaria no responde a la ristocetina [49] y, en contraste con la enfermedad de von Willebrand, no corrige con la adición de plasma [97]. En las **figuras 22 y 23** se muestran plaquetas en el extendido de sangre periférica de pacientes con síndrome de Bernard-Soulier. Es importante aclarar el diagnóstico del síndrome de Bernard-Soulier debido a que fácilmente puede ser mal interpretado como una púrpura trombocitopénica idiopática [98], con nefastas consecuencias.

Otras formas de trombocitopenia macrotrombocítica

Plaquetas similares a las descritas en el síndrome de Bernard-Soulier, sobre todo en relación con su morfología, se pueden observar en otros síndromes mucho más raros como la trombo-

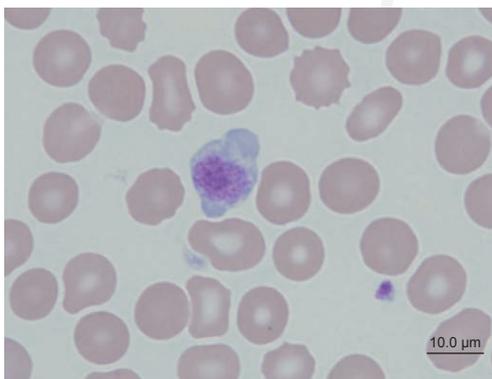


Figura 22. Extendido de sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier. Se observa una plaqueta más grande que los eritrocitos. Coloración de Wright utilizando un extensor y colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

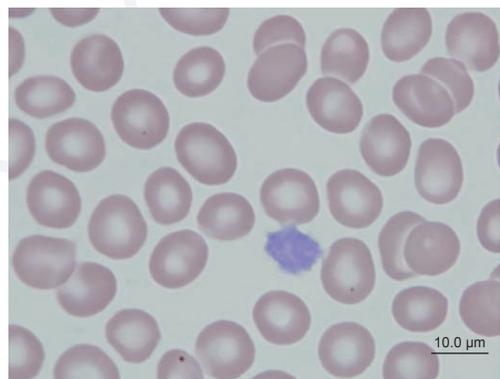


Figura 23. Extendido de sangre periférica de una paciente con diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier. Se observa un megatrombocito característico de este síndrome. Coloración de Wright utilizando un extensor y colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

citopenia macrotrombocítica del Mediterráneo [51], la anomalía de May-Hegglin [99] como se observa en la **figura 24**, el síndrome de Fechtner [100], el síndrome de Sebastian [101], el síndrome de Epstein [102], el síndrome de plaqueta gris [103] como se observa en la **figura 25**, la trombocitopenia París-Trousseau [104], el síndrome plaquetario Montreal [105], el síndrome de plaquetas en “queso suizo” [106], entre otras, aún no informados en nuestro medio, que fueron ampliamente analizados en un módulo anterior de Medicina & Laboratorio [53]. La macrotrombocitopenia también puede ser de origen adquirido tras administrar, en la hiperalimentación basada en emulsiones de lípidos derivados de soya, grandes cargas venosas de fitoesteroles (esteroles de origen vegetal) [107].

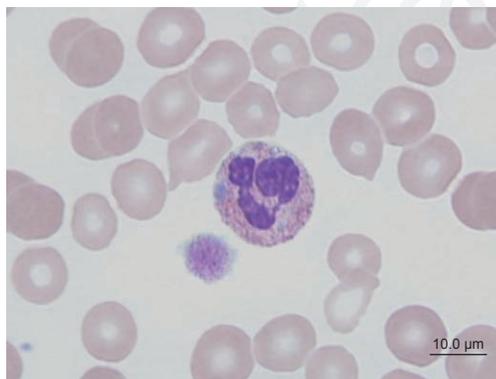


Figura 24. Extendido de sangre periférica de un paciente con diagnóstico de anomalía de May-Hegglin. Aparte del megatrombocito, se observa una inclusión citoplasmática en el polimorfonuclear neutrófilo. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

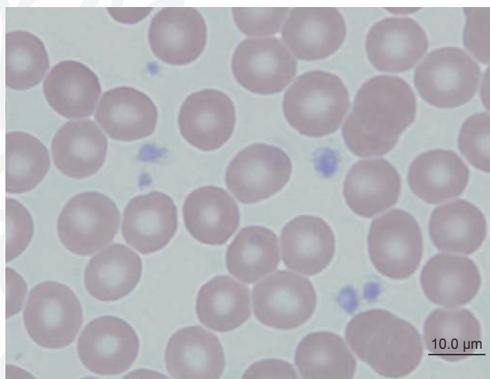


Figura 25. Síndrome de plaqueta gris. Obsérvese como las plaquetas casi que pasan desapercibidas por su falta de gránulos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Variaciones en la forma de las plaquetas

Como en el caso de los eritrocitos, la morfología plaquetaria puede modificarse dando origen a anisocitosis y poiquilocitosis plaquetaria que se correlacionan con el volumen medio plaquetario y el ancho de distribución de las plaquetas y la morfología de las plaquetas en los extendidos de sangre periférica, como se analizará a continuación.

Anisocitosis plaquetaria

Similar al ancho de distribución de los eritrocitos, que determina el grado de anisocitosis (diferencias en los tamaños), el ancho de distribución de las plaquetas determina el grado de anisocitosis de las plaquetas y define los conceptos de homogeneidad plaquetaria y heterogeneidad plaquetaria de acuerdo con los valores de referencia para la población sujeta a la prueba [11], como se ha establecido en la **tabla 1**. Desde el punto de vista semiológico, las variaciones en el tamaño de las plaquetas se expresan con el término de anisocitosis plaquetaria, que en los autoanalizadores de hematología aparece como el ancho de distribución de las plaquetas, parámetro exclusivo de los autoanalizadores de hematología de última generación que va demostrando ser de utilidad en el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias de origen inmunológico [108] y en las trombocitosis especialmente cuando están relacionadas con enfermedades mieloproliferativas, el cual se encuentra francamente elevado [109]. En los casos de anisocitosis plaquetaria, en la sangre periférica se observan plaquetas de diferentes tamaños: desde normales hasta plaquetas

del tamaño de un eritrocito, como se observa en la **figura 26**.

Poiquilocitosis plaquetaria

Desde el punto de vista semiológico, las variaciones en la forma de las plaquetas se expresan como poiquilocitosis plaquetaria y así como los autoanalizadores de hematología son altamente eficientes para detectar la anisocitosis plaquetaria, éstos dejan mucho que desear con respecto a la poiquilocitosis, que se debe hacer mediante observación microscópica, pues de lo contrario muchos casos nunca se diagnosticarían. La poiquilocitosis plaquetaria es altamente sospechosa de un proceso mieloproliferativo [110], especialmente cuando está acompañada de otras alteraciones cuantitativas o cualitativas del hemograma. En la **figura 27** se muestra el aspecto característico de una enfermedad mieloproliferativa con poiquilocitosis plaquetaria y en la **figura 28** un caso de poiquilocitosis plaquetaria en un paciente con diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier.

Variaciones en el contenido citoplasmático de las plaquetas

Cuando las plaquetas pierden o no tienen los gránulos α se observan pálidas o “grises” dando el cuadro clínico conocido como síndrome de plaqueta gris [103, 111]. En el síndrome de plaqueta gris los polimorfonucleares neutrófilos se observan marcadamente hipogranulares [112], hallazgo que puede ser útil para afianzar el diagnóstico. Además, ocasionalmente el EDTA inhibe la coloración de las plaquetas en el extendido de sangre periférica [113], situación que puede llevar a un falso diagnóstico de un síndrome de plaqueta gris.

Plaquetas agranulares se pueden observar en pacientes con flebotomías traumáticas debido a que durante el procedimiento se pueden degranular las plaquetas como respuesta al trauma

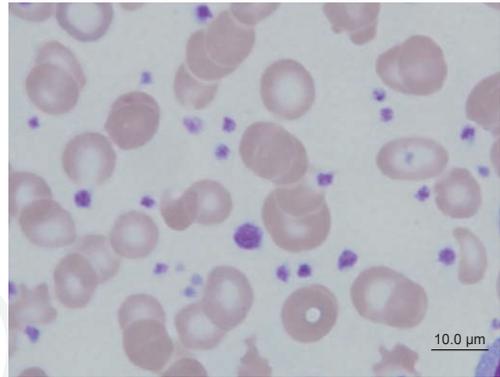


Figura 26. Extendido de sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome dismielopoyético, en donde se evidencia una marcada anisocitosis plaquetaria con plaquetas grandes, normales y pequeñas. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.



Figura 27. Extendido de sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome dismielopoyético, en donde se evidencia la presencia de poiquilocitosis plaquetaria característica de los procesos mieloproliferativos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

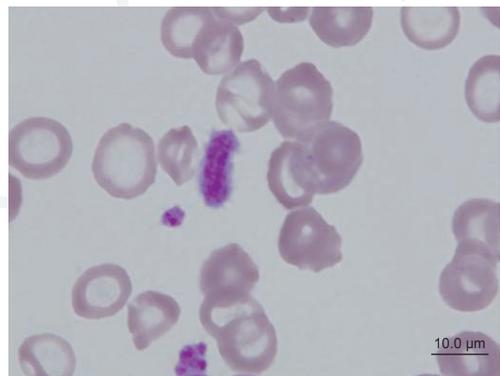


Figura 28. Extendido de sangre periférica de una paciente con diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier, en donde se observa poiquilocitosis plaquetaria representada en un macrotrombocito en forma de “cigarro” y una plaqueta de tamaño normal pero pobre en gránulos. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

de la flebotomía, situación que se ha observado en pacientes con síndrome de Bernard-Soulier [114]. También se puede presentar por EDTA [115] y, como en el caso de las pseudotrombocitopenias, otra muestra con citrato o heparina aclara el diagnóstico [10]. Los pacientes con enfermedades cardiovasculares, en particular con *bypass* cardiopulmonar pueden liberar los gránulos α en la circulación y mostrar en los extendidos de sangre periférica plaquetas agranulares [10]. Las plaquetas en la anomalía de May-Hegglin, además de ser grandes, pueden tener formas anormales, como en forma de cigarro [116]. También se ha encontrado plaquetas parasitadas por *Plasmodium vivax* [117]. En las **figuras 29** y **30** se muestran algunos ejemplos de variaciones en el contenido citoplasmático de las plaquetas.

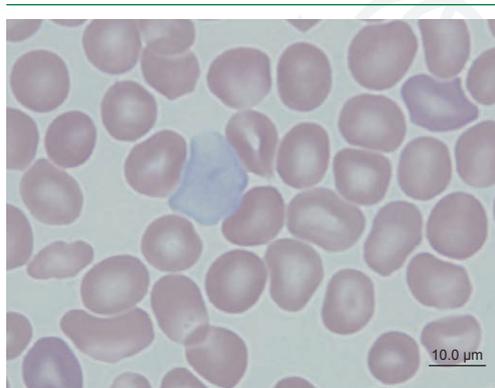


Figura 29. Megatrombocito irregular y agranular en la sangre periférica de una paciente con diagnóstico de anemia perniciosa. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

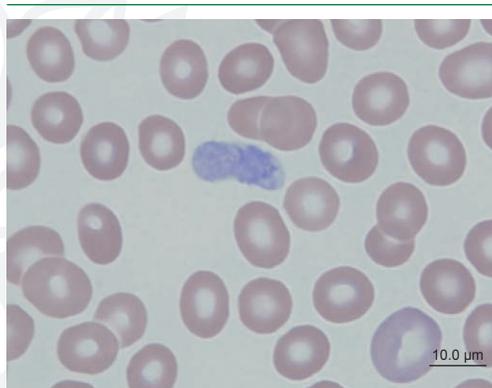


Figura 30. Megatrombocito agranular en forma de cigarro en el extendido de sangre periférica de una paciente con diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha N de Sysmex®, 1.000X.

Agradecimientos

Al personal técnico del Laboratorio Clínico Hematológico S.A., en particular a las bacteriólogas Gloria Elcy Escobar Gallo y Luz Marina Valencia Zuluaga, quienes colaboraron en la identificación de las placas de donde proceden la mayoría de los microfotografías que documentan este módulo y a Víctor Daniel Calvo Betancur por su apoyo en los análisis estadísticos.

Summary: Despite the huge technological advances associated with the cell blood count, in particular those derived from the hematology autoanalyzers, each generation more complete and sophisticated, the blood smear continues as the “gold standard” for the diagnosis in hematology. According to the good practices in hematology, the blood smear is indicated in all hemograms that show a deviation in the direct, indirect or calculated counts, or when there is a hematological or non-hematological entity suspected to be causing hematological manifestations, regardless of the presence of normal parameters according to the age and gender. When observing a blood smear, abnormalities associated with the erythrocytes, leukocytes and platelets can be detected. The present module will analyze the most important aspects of: 1) platelet count, that defines the presence of thrombocytopenia and thrombocytosis; 2) variations in the size, morphology and cytoplasmic granules, and their relationship with platelet diseases, 3) the new platelet parameters provided by automated analyzers, such as mean platelet volume and platelet distribution width, and their association with morphologic findings in the blood smear, and 4) pseudo-

thrombocytopenia and pseudothrombocytosis are also discussed and guidelines are provided for the appropriate interpretation of these results. This module, dedicated to the analysis of platelet morphology in the blood smear, provides the laboratory technologist with the tools necessary to adequately identify the different findings, as well as the physician with the information to associate such findings, quantitative and morphologic, with the clinical entities.

Key words: Blood smear, platelet morphology, clinic.

Campuzano-Maya G. Clinical utility of the blood smear: platelets. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 511-531.

Module 1 (Clinic and laboratory), number 71. Editora Médica Colombiana S.A., 2008®.

Received on August 19, 2008; accepted on September 5, 2008.

Bibliografía

- Campuzano-Maya G.** Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los eritrocitos. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 311-357.
- Campuzano-Maya G.** Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los leucocitos. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 411-455.
- Sociedad Colombiana de Patología Clínica.** Manual de Codificación, Nomenclatura, Nivelación y Valores de Exámenes de laboratorio Clínico. Medellín, Colombia: Edimeco S.A.; 2008: 1-100.
- College of American Pathologists.** Workload Recording Method & Personnel Management Manual. 1992
- República de Colombia, Ministerio de Protección Social.** Resolución 1896 de 2001 por la cual se sustituye integralmente la Clasificación Única de Procedimientos en Salud.
- Campuzano-Maya G.** ¿Cómo obtener un extendido de sangre periférica de óptima calidad? *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 125-145.
- Bessis M.** Blood smears reinterpreted. New York, USA: Springer-Verlag; 1977: 1-265.
- Perkins SL.** Examination of the blood and bone marrow. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia, PA, USA; Lipincott Williams & Wilkins. 2004: 1-25.
- Bain BJ.** Blood cell morphology in health and disease. In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, eds. *Dacie and Lewis practical haematology*. 5th ed. Philadelphia, PA, USA; Churchill Livingstone. 2006: 79-113.
- Bain BJ.** Blood cells. A practical guide. 4th ed. Malden, Massachusetts USA: Blackwell Publishing; 2006.
- Campuzano-Maya G.** Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Medicina & Laboratorio* 2007; 133: 511-550.
- Schulze H, Shivdasani RA.** Mechanisms of thrombopoiesis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1717-1724.
- Szalai G, LaRue AC, Watson DK.** Molecular mechanisms of megakaryopoiesis. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 2460-2476.
- Kaushansky K.** Historical review: megakaryopoiesis and thrombopoiesis. *Blood* 2008; 111: 981-986.
- Pang L, Weiss MJ, Poncz M.** Megakaryocyte biology and related disorders. *J Clin Invest* 2005; 115: 3332-3338.
- Kaushansky K, Roth GJ.** Megakaryocytes and platelets. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Philadelphia; Lipincott Williams & Wilkins. 2004: 605-650.
- George JN.** Platelets. *Lancet* 2000; 355: 1531-1539.
- Bhattacharya CG.** A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics* 1967; 23: 115-135.
- Savage RA, Lucas FV, Hoffman GC.** Spurious thrombocytosis caused by red blood cell fragmentation. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 144.
- Ballard HS, Sidhu G.** Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in hairy cell leukemia: ultrastructural characterization. *Arch Intern Med* 1981; 141: 942-944.
- Patel KJ, Hughes CG, Parapia IA.** Pseudoleukocytosis and pseudothrombocytosis due to cryoglobulinaemia. *J Clin Pathol* 1987; 40: 120-121.

22. **Pewarchuk W, VanderBoom J, Blajchman MA.** Pseudopolycythemia, pseudothrombocytopenia, and pseudoleukopenia due to overfilling of blood collection vacuum tubes. *Arch Pathol Lab Med* 1992; 116: 90-92.
23. **Easton JA, Fessas C.** The incidence of Döhle bodies in various diseases and their association with thrombocytopenia. *Br J Haematol* 1966; 12: 54-60.
24. **García-Suárez J, Merino JL, Rodríguez M, Velasco A, Moreno MC.** Pseudotrombocitopenia: incidencia, causas y métodos de detección. *Sangre (Barc)* 1991; 36: 197-200.
25. **Silvestri F, Virgolini L, Savignano C, Zaja F, Velisig M, Baccarani M.** Incidence and diagnosis of EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a consecutive outpatient population referred for isolated thrombocytopenia. *Vox Sang* 1995; 68: 35-39.
26. **Payne BA, Pierre RV.** Pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact with potentially serious consequences. *Mayo Clin Proc* 1984; 59: 123-125.
27. **Berkman N, Michaeli Y, Or R, Eldor A.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia: a clinical study of 18 patients and a review of the literature. *Am J Hematol* 1991; 36: 195-201.
28. **Skinnider LF, Musclow CE, Kahn W.** Platelet satellitism--an ultrastructural study. *Am J Hematol* 1978; 4: 179-185.
29. **Cohen AM, Lewinski UH, Klein B, Djaldetti M.** Satellitism of platelets to monocytes. *Acta Haematol* 1980; 64: 61-64.
30. **Español I, Muñoz-Díaz E, Domingo-Claros A.** The irreplaceable image: Platelet satellitism to granulated lymphocytes. *Haematologica* 2000; 85: 1322.
31. **Savage RA.** Pseudoleukocytosis due to EDTA-induced platelet clumping. *Am J Clin Pathol* 1984; 81: 317-322.
32. **Matarazzo M, Conturso V, Di Martino M, Chiu-razzi F, Guida G, Morante R.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a case of liver cirrhosis. *Panminerva Med* 2000; 42: 155-157.
33. **Isobe T, Fujita T, Kinoshita S, Terao C, Yamaguchi N.** Pseudothrombocytopenia with cold-type platelet agglutinins. *Jpn J Med* 1983; 22: 9-13.
34. **McGregor DH, Davis JW, Liu PI, Gates E, Poin-dexter AR.** Platelet satellitism: experimental studies. *Lab Invest* 1980; 42: 343-355.
35. **D'Onofrio G, Mancini S, Starti S, Landolfi R, Mango G.** Platelet clumping without pseudothrombocytopenia: a laboratory artifact in myeloproliferative disorders. *Haematologica* 1985; 70: 461-462.
36. **Solanki DL, Blackburn BC.** Spurious thrombocytopenia during pregnancy. *Obstet Gynecol* 1985; 65: 14S-17S.
37. **Schrezenmeier H, Muller H, Günsilius E, Heim-pel H, Seifried E.** Anticoagulant-induced pseudothrombocytopenia and pseudoleucocytosis. *Thromb Haemost* 1995; 73: 506-513.
38. **Mori M, Kudo H, Yoshitake S, Ito K, Shinguu C, Noguchi T.** Transient EDTA-dependent pseudothrombocytopenia in a patient with sepsis. *Intensive Care Med* 2000; 26: 218-220.
39. **Cesca C, Ben-Ezra J, Riley RS.** Platelet satellitism as presenting finding in mantle cell lymphoma. A case report. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 567-570.
40. **Hosseinzadeh M, Kumar PV, Rahemi M.** Platelet satellitism in lupus erythematosus resolving after treatment. *Acta Haematol* 2006; 115: 131-132.
41. **Reed BW, Go RS.** Pseudothrombocytopenia associated with multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 869.
42. **Hsieh AT, Chao TY, Chen YC.** Pseudothrombocytopenia associated with infectious mononucleosis. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: e17-18.
43. **Imai H, Nakamoto Y, Miki K, Miyakuni T, Miura AB.** Pseudothrombocytopenia and IgA-related platelet agglutinin in a patient with IgA nephritis. *Nephron* 1983; 34: 154-158.
44. **Kozak M, Dovc T, Rozman P, Blinc A.** A case of pseudothrombocytopenia after infusion of abciximab in vivo and anticoagulant-independent platelet clumping after rechallenge with abciximab in vitro. *Wien Klin Wochenschr* 2000; 112: 138-141.
45. **Bizzaro N, Brandalise M.** EDTA-dependent pseudothrombocytopenia. Association with antiplatelet and antiphospholipid antibodies. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 103-107.
46. **Bizzaro N, Fiorin F.** Coexistence of erythrocyte agglutination and EDTA-dependent platelet clumping in a patient with thymoma and plasmocytoma. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 159-162.
47. **Lazo-Langner A, Piedras J, Romero-Lagarza P, Lome-Maldonado C, Sanchez-Guerrero J, Lopez-Karpovitch X.** Platelet satellitism, spurious neutropenia, and cutaneous vasculitis: casual or causal association? *Am J Hematol* 2002; 70: 246-249.
48. **Onder O, Weinstein A, Hoyer LW.** Pseudothrombocytopenia caused by platelet agglutinins that are reactive in blood anticoagulated with chelating agents. *Blood* 1980; 56: 177-182.
49. **López JA, Andrews RK, Afshar-Kharghan V, Berndt MC.** Bernard-Soulier syndrome. *Blood* 1998; 91: 4397-4418.

50. **Hatzipantelis ES, Tsantali H, Athanassiou-Metaxa M, Avramidou K, Zambul D, Gombakis N.** Hereditary giant platelet disorder presented as pseudothrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2001; 67: 330-331.
51. **Behrens WE.** Mediterranean macrothrombocytopenia. *Blood* 1975; 46: 199-208.
52. **Mhawech P, Saleem A.** Inherited giant platelet disorders. Classification and literature review. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 176-190.
53. **Campuzano-Maya G.** Trombocitopenia: más importante que encontrarla es saber porqué se presenta. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 111-125.
54. **Lau LG, Chng WJ, Liu TC.** Transfusion medicine illustrated. Unnecessary transfusions due to pseudothrombocytopenia. *Transfusion* 2004; 44: 801.
55. **Kocum TH, Katircibasi TM, Sezgin AT, Atalay H.** An unusual cause of mismanagement in an acute myocardial infarction case: pseudothrombocytopenia. *Am J Emerg Med* 2008; 26: 740 e741-742.
56. **Campuzano-Maya G.** Evaluación del paciente con trombocitopenia. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 411-435.
57. **Di Giovanni S, De Matteis MA, Ciocca D, Cirella MP, Nanni Costa MP.** Pseudothrombocytosis and pseudoleukocytosis in a case of essential mixed cryoglobulinemia (type II). *Clin Exp Rheumatol* 1986; 4: 143-145.
58. **Zandecki M, Dupriez B, Fenaux P, Jude B, Watel A, Dracon M, et al.** Cytological and ultrastructural assessment of free crystals or precipitates associated with pseudoleukocytosis and pseudothrombocytosis in cryoglobulinemia. *Nouv Rev Fr Hematol* 1989; 31: 397-402.
59. **Pérez-Vila ME, Pedro C, Mellibovsky L, Woessner S, Serrano S, Florensa L.** Spurious thrombocytosis associated with cryoglobulinaemia: a case report. *Haematologica* 2002; 87: ELT39.
60. **Fohlen-Walter A, Jacob C, Lecompte T, Lesesve JF.** Laboratory identification of cryoglobulinemia from automated blood cell counts, fresh blood samples, and blood films. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 606-614.
61. **Hutchinson CV, Stelfox P, Rees-Unwin KS.** Needle-like cryoglobulin crystals presenting as spurious thrombocytosis. *Br J Haematol* 2006; 135: 280.
62. **Hagino T, Kaito K, Asai O, Dobashi N, Yano S, Takei Y, et al.** [Pseudoleukocytosis and pseudothrombocytosis caused by fragmentation of leukemic cells in tumor lysis syndrome]. *Rinsho Ketsueki* 2007; 48: 1559-1562.
63. **Lawrence C, Atac B.** Hematologic changes in massive burn injury. *Crit Care Med* 1992; 20: 1284-1288.
64. **Maitra A, Ward PC, Kroft SH, Levinson BS, Jamal S, Fishleder AJ, et al.** Cytoplasmic inclusions in leukocytes. An unusual manifestation of cryoglobulinemia. *Am J Clin Pathol* 2000; 113: 107-112.
65. **Bain BJ.** Quantitative changes in blood cells. In: Bain BJ, ed. *Blood cells. A practical guide.* 4th ed ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Publishing. 2006: 217-262.
66. **Campuzano-Maya G.** Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America. *Helicobacter* 2007; 12: 265-273.
67. **George JN, Rizvi MA.** Thrombocytopenia. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, eds. *William's haematology.* 6th ed ed. New York; McGraw-Hill Book Company. 2001: 1495-1539.
68. **Campuzano-Maya G.** Estudio del paciente con trombocitopenia. *Laboratorio Al Día* 1995; 5: 325-350.
69. **George JN, Woolf SH, Raskob GE, Wasser JS, Aledort LM, Ballem PJ, et al.** Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. *Blood* 1996; 88: 3-40.
70. **Sekhon SS, Roy V.** Thrombocytopenia in adults: a practical approach to evaluation and management. *South Med J* 2006; 99: 491-498; quiz 499-500, 533.
71. **Levine SP.** Thrombocytosis. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, eds. *Wintrobe's clinical hematology.* 11th ed. Philadelphia, PA, USA; Lipincott Williams & Wilkins. 2004: 1591-1601.
72. **Heath HW, Pearson HA.** Thrombocytosis in pediatric outpatients. *J Pediatr* 1989; 114: 805-807.
73. **Campuzano-Maya G.** Trombocitosis. *Medicina & Laboratorio* 1997; 7: 367-375.
74. **Bessman JD, Gilmer PR, Gardner FH.** Use of mean platelet volume improves detection of platelet disorders. *Blood Cells* 1985; 11: 127-135.
75. **Bessman JD, Williams LJ, Gilmer PR, Jr.** Mean platelet volume. The inverse relation of platelet size and count in normal subjects, and an artifact of other particles. *Am J Clin Pathol* 1981; 76: 289-293.
76. **Bain BJ.** Morphology of blood cells. In: Bain BJ, ed. *Blood cells. A practical guide.* 4th ed ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Publishing. 2006: 61-174.

77. **Vukelja SJ, Krishnan J, Diehl LF.** Mean platelet volume improves upon the megathrombocyte index but cannot replace the blood film examination in the evaluation of thrombocytopenia. *Am J Hematol* 1993; 44: 89-94.
78. **Bessman JD, Gilmer PR, Jr., Gardner FH.** Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 322-326.
79. **Derry JM, Kerns JA, Weinberg KI, Ochs HD, Volpini V, Estivill X, et al.** WASP gene mutations in Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 1127-1135.
80. **Ochs HD, Notarangelo LD.** Structure and function of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Curr Opin Hematol* 2005; 12: 284-291.
81. **Thrasher AJ, Burns S, Lorenzi R, Jones GE.** The Wiskott-Aldrich syndrome: disordered actin dynamics in haematopoietic cells. *Immunol Rev* 2000; 178: 118-128.
82. **Ochs HD, Thrasher AJ.** The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 725-738; quiz 739.
83. **FitzPatrick DR, Strain L, Thomas AE, Barr DG, Todd A, Smith NM, et al.** Neurogenic chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction, patent ductus arteriosus, and thrombocytopenia segregating as an X linked recessive disorder. *J Med Genet* 1997; 34: 666-669.
84. **Notarangelo LD, Miao CH, Ochs HD.** Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Opin Hematol* 2008; 15: 30-36.
85. **Sullivan KE, Mullen CA, Blaese RM, Winkelstein JA.** A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Pediatr* 1994; 125: 876-885.
86. **Campuzano-Maya G.** Semiología del hemograma. *Laboratorio Al Día* 1995; 5: 161-174.
87. **Haddad E, Cramer E, Riviere C, Rameau P, Louache F, Guichard J, et al.** The thrombocytopenia of Wiskott Aldrich syndrome is not related to a defect in proplatelet formation. *Blood* 1999; 94: 509-518.
88. **Qasim W, Gilmour KC, Heath S, Ashton E, Cranstont T, Thomas A, et al.** Protein assays for diagnosis of Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2001; 113: 861-865.
89. **Knox-Macaulay HH, Bashawri L, Davies KE.** X linked recessive thrombocytopenia. *J Med Genet* 1993; 30: 968-969.
90. **Freson K, Devriendt K, Matthijs G, Van Hoof A, De Vos R, Thys C, et al.** Platelet characteristics in patients with X-linked macrothrombocytopenia because of a novel GATA1 mutation. *Blood* 2001; 98: 85-92.
91. **Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, Klauck SM, Wiemann S, Mason PJ, et al.** X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* 1998; 19: 32-38.
92. **Bernard J, Soulier J.** Sur une nouvelle variété de dystrophie thrombocytaire-hémorragique congénitale. *Semin Hop Paris* 1948; 24: 3217.
93. **Grøttum KA, Solum NO.** Congenital thrombocytopenia with giant platelets: a defect in the platelet membrane. *Br J Haematol* 1969; 16: 277-290.
94. **Caen JP, Nurden AT, Jeanneau C, Michel H, Tobelem G, Levy-Toledano S, et al.** Bernard-Soulier syndrome: a new platelet glycoprotein abnormality. Its relationship with platelet adhesion to subendothelium and with the factor VIII von Willebrand protein. *J Lab Clin Med* 1976; 87: 586-596.
95. **Bernard J.** History of congenital hemorrhagic thrombocytopathic dystrophy. *Blood Cells* 1983; 9: 179-193.
96. **Kunishima S, Kamiya T, Saito H.** Genetic abnormalities of Bernard-Soulier syndrome. *Int J Hematol* 2002; 76: 319-327.
97. **Nichols WL, Kaese SE, Gastineau DA, Otteman LA, Bowie EJ.** Bernard-Soulier syndrome: whole blood diagnostic assays of platelets. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 522-530.
98. **Kunishima S, Yamada T, Hamaguchi M, Saito H.** Bernard-Soulier syndrome due to GPIX W127X mutation in Japan is frequently misdiagnosed as idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol* 2006; 83: 366-367.
99. **Noris P, Spedini P, Belletti S, Magrini U, Balduini CL.** Thrombocytopenia, giant platelets, and leukocyte inclusion bodies (May-Hegglin anomaly): clinical and laboratory findings. *Am J Med* 1998; 104: 355-360.
100. **McBane RD, Elliott MA, White JG, Charlesworth JE, Costopoulos MG, Owen WG, et al.** Fechtner syndrome: physiologic analysis of macrothrombocytopenia. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000; 11: 243-247.
101. **Redman R, Shunkwiler SM, Harris NS, Kedar A, Clapp WL.** Sebastian syndrome with abnormal platelet response to ristocetin. *Lab Hematol* 2008; 14: 19-23.
102. **Standen GR, Saunders J, Michael J, Bloom AL.** Epstein's syndrome: case report and survey of the literature. *Postgrad Med J* 1987; 63: 573-575.
103. **Nurden AT, Nurden P.** The gray platelet syndrome: clinical spectrum of the disease. *Blood Rev* 2007; 21: 21-36.
104. **Favier R, Jondeau K, Boutard P, Grossfeld P, Reiner P, Jones C, et al.** Paris-Trousseau syndrome :

- clinical, hematological, molecular data of ten new cases. *Thromb Haemost* 2003; 90: 893-897.
105. **Okita JR, Frojmovic MM, Kristopeit S, Wong T, Kunicki TJ.** Montreal platelet syndrome: a defect in calcium-activated neutral proteinase (calpain). *Blood* 1989; 74: 715-721.
 106. **Smith TP, Dodds WJ, Tartaglia AP.** Thrombasthenic-thrombopathic thrombocytopenia with giant, "swiss-cheese" platelets. A case report. *Ann Intern Med* 1973; 79: 828-834.
 107. **Rees DC, Iolascon A, Carella M, O'Marcaigh A S, Kendra JR, Jowitt SN, et al.** Stomatocytic haemolysis and macrothrombocytopenia (Mediterranean stomatocytosis/macrothrombocytopenia) is the haematological presentation of phytosterolaemia. *Br J Haematol* 2005; 130: 297-309.
 108. **Ntaios G, Papadopoulos A, Chatzinikolaou A, Saouli Z, Karalazou P, Kaiafa G, et al.** Increased values of mean platelet volume and platelet size deviation width may provide a safe positive diagnosis of idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta Haematol* 2008; 119: 173-177.
 109. **Bessman JD.** Platelet size in thrombocytosis. *Acta Haematol* 1984; 71: 144.
 110. **Small BM, Bettigole RE.** Diagnosis of myeloproliferative disease by analysis of the platelet volume distribution. *Am J Clin Pathol* 1981; 76: 685-691.
 111. **Biddle DA, Neto TG, Nguyen AN.** Platelet storage pool deficiency of alpha and delta granules. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 1125-1126.
 112. **Drouin A, Favier R, Masse JM, Debili N, Schmitt A, Elbim C, et al.** Newly recognized cellular abnormalities in the gray platelet syndrome. *Blood* 2001; 98: 1382-1391.
 113. **Stavem P, Berg K.** A macromolecular serum component acting on platelets in the presence of EDTA-platelet stain preventing factor? *Scand J Haematol* 1973; 10: 202-208.
 114. **Mattson JC, Peterson DM, McCarron S, Stathopoulos N.** The Bernard-Soulier platelet: II. A comparative study of changes in platelet morphology and cytoskeletal architecture following contact activation. *Scan Electron Microsc* 1984: 1941-1950.
 115. **Cockbill SR, Burmester HB, Heptinstall S.** Pseudo grey platelet syndrome--grey platelets due to degranulation in blood collected into EDTA. *Eur J Haematol* 1988; 41: 326-333.
 116. **Gokalp A, Oguz A, Turkay S, Icagasioglu D, Canturk NZ.** May-Hegglin anomaly (a presentation of a family). *Turk J Pediatr* 1989; 31: 167-171.
 117. **Fajardo LF, Rao S.** Platelet enlargement in malaria. *Mil Med* 1971; 136: 463-464.