

Utilidad del extendido de sangre periférica: los leucocitos*

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 de hematología. 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 de una enfermedad de origen hematológico o de origen no hematológico con manifestaciones hematológicas, aun con parámetros entre rangos esperados para la edad y el género. 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 1) del recuento total de leucocitos que define los conceptos leucocitosis y leucopenia, 2) del recuento diferencial de leucocitos que define los conceptos de neutrofilia, neutropenia, agranulocitosis, eosinofilia, eosinopenia, basofilia, basopenia, linfocitosis, linfocitopenia, monocitosis y monocitopenia y 3) los hallazgos más representativos de la morfología de los glóbulos blancos como la agregación de leucocitos, las desviaciones derecha e izquierda, la anomalía de Pelger-Huët, la anomalía de May-Hegglin, los cuerpos de Döhle, el síndrome de Chédiak-Higashi, la anomalía de Alder-Reilly, los cuerpos de Auer y los cuerpos de Barr, entre otros. Se definen los aspectos morfológicos de las diferentes series que conforman los leucocitos circulantes y se relacionan con los aspectos clínicos más relevantes. Este módulo, provee al profesional de laboratorio elementos que le permiten identificar adecuadamente las diferentes alteraciones de los leucocitos, en tanto que al médico le proporciona información para que relacione los hallazgos morfológicos de estas células con la clínica.

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

Campuzano-Maya, G. Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los leucocitos. *Medicina & Laboratorio* 2008, 14: 411-455.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 70. Editora Médica Colombiana S.A., 2008®.

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

*. Parte 2 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 el módulo anterior [1], 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 estudio del 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 [2], que coincide con los estándares internacionales [3] y que es acogida, aunque parcialmente, por el Ministerio de Protección Social de Colombia [4], 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 de hematología y de las necesidades del médico solicitante, en los hemogramas tipo V y VI [5]. Muchas enfermedades tienen manifestaciones hematológicas que en el hemograma se expresan como cambios cuantitativos, que pueden ser determinados por los métodos convencionales para hacer la prueba, ya sea de forma manual o con la ayuda de los autoanalizadores de hematología o como cambios cualitativos, solos o asociados con los primeros, que solamente pueden ser definidos mediante un adecuado estudio del extendido de sangre periférica [5-10].

Con este módulo se complementa parcialmente una serie de módulos que sobre el hemograma se presentó en números anteriores de MEDICINA & LABORATORIO [5, 11], sobre todo con relación a la utilidad clínica del extendido de sangre periférica [1] 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 aportan en su diario quehacer. En esta entrega se revisarán las variaciones más importantes, cuantitativas y cualitativas, relacionadas con los leucocitos, dejando para un próximo módulo los aspectos relacionados con las plaquetas.

Los leucocitos

La parte del hemograma que estudia las alteraciones de los leucocitos es el leucograma. El leucograma se refiere al análisis cuantitativo y cualitativo de los leucocitos en sangre periférica. El leucograma, como prueba independiente o como parte integral del hemograma, tiene dos componentes: uno cuantitativo, que corresponde al recuento total de leucocitos y al recuento diferencial de leucocitos; y, otro cualitativo, que corresponde al estudio morfológico de los leucocitos, que en la práctica hace parte integral del recuento diferencial de leucocitos, sobre todo en los hemogramas tipo I a IV, el cual es obligatorio hacerlo por métodos manuales y cuando hay alarmas o recuentos anormales en los hemogramas tipo V y VI [11].

Recuento total de leucocitos

El recuento total de leucocitos define algunos de los conceptos claves en el análisis del hemograma y en la aplicación de la prueba en la práctica médica. El recuento de leucocitos puede variar de acuerdo con la edad, el género y la raza [12, 13]. En la **tabla 1** se presentan las variaciones del recuento total y diferencial de leucocitos, derivado del análisis de 18.063 leucogramas, realizados con un autoanalizador de hematología XE-2100 de Sysmex®, mediante el método de Bhattacharya [14], para definir los valores de referencia de un laboratorio clínico privado de Medellín, Colombia. El recuento total de leucocitos define los conceptos semiológicos de leucocitosis y leucopenia. El recuento total de leucocitos con métodos manuales tiene un coeficiente de variación (inexactitud) que oscila entre el 6,5%, para los recuentos normales o altos, a 15%, para los recuentos bajos, en tanto que con los autoanalizadores de hematología oscila entre 1% y 3%, respectivamente [15, 16].

Leucocitosis

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo esperado para la edad, el estado fisiológico y el origen étnico, del recuento total de leucocitos [17]. La leucoci-

Tabla 1. Valores de referencia para el leucograma por μL^*

Edad	Leucocitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Linfocitos	Monocitos
Recién nacido	9.000 a 30.000	6.000 a 26.000	20 a 850	0 a 640	2.000 a 11.000	400 a 3.100
12 horas	13.000 a 38.000	6.000 a 28.000	20 a 950	0 a 500	2.000 a 11.000	400 a 3.600
24 horas	9.400 a 34.000	5.000 a 21.000	50 a 1.000	0 a 300	2.000 a 11.500	200 a 3.100
1 semana	5.000 a 21.000	1.500 a 10.000	70 a 1.100	0 a 250	2.000 a 17.000	300 a 2.700
1 mes	5.000 a 19.500	1.000 a 9.000	70 a 900	0 a 200	2.500 a 16.500	150 a 2.000
6 meses	6.000 a 17.500	1.000 a 8.500	70 a 750	0 a 200	4.000 a 16.500	100 a 1.300
1 año	6.000 a 17.500	1.500 a 8.500	50 a 700	0 a 200	4.000 a 10.500	50 a 1.100
1 a 4 años	4.500 a 13.000	1.200 a 9.000	30 a 550	0 a 150	2.000 a 9.000	50 a 950
5 a 6 años	4.500 a 13.000	1.200 a 9.000	30 a 550	0 a 150	1.500 a 6.000	50 a 950
7 a 14 años	4.000 a 12.000	1.200 a 9.000	30 a 550	0 a 150	1.500 a 6.000	50 a 950
5 a 14 años	4.000 a 12.000	1.500 a 8.000	30 a 550	0 a 150	1.500 a 6.000	50 a 950
15 a 99 años	4.000 a 11.000	1.500 a 8.000	30 a 550	0 a 150	1.000 a 4.000	50 a 900

* Observación: los valores aquí consignados son los valores de referencia del hemograma tipo VI en el Laboratorio Clínico Hematológico, en Medellín, Colombia, derivados del análisis de 18.063 leucogramas de acuerdo con el método de Bhattacharya [14]. 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 con la tecnología utilizada.

tosis usualmente se hace a expensas de los polimorfonucleares neutrófilos (neutrofilia), aunque también se puede presentar por aumento de linfocitos (linfocitosis), polimorfonucleares eosinófilos (eosinofilia) o monocitos (monocitosis); además, puede ser a expensas de células inmaduras como sucede en las leucemias [17]. En todos los casos en donde se encuentre leucocitosis, el estudio se debe completar con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17]. Es importante no olvidar que puede haber seudoleucocitosis cuando hay crioglobulina o criofibrinógeno [18], agregados de plaquetas [19] y cuando hay eritroblastos: las dos primeras con los autoanalizadores de hematología y la última con los recuentos manuales o con los autoanalizadores de hematología de las primeras generaciones, situación que no se presenta en los autoanalizadores de hematología de última generación, cuando se les incorpora el módulo de recuento de eritroblastos, como sucede con el XE-2100 de Sysmex® [20], entre otros.

Leucopenia

Es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo esperado para la edad, el estado fisiológico y el origen étnico, en el recuento total de leucocitos [17]. Como en el caso de la leucocitosis, la leucopenia usualmente se hace a expensas de los polimorfonucleares neutrófilos (neutropenia), aunque también se puede presentar por disminución de linfocitos (linfocitopenia) o la combinación de ambos [17]. En todos los casos en donde hay leucopenia, es necesario que el estudio se complete con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17]. Además, como en el caso anterior, se puede presentar seudoleucopenia con neutropenia en individuos con fenómenos de aglutinación al frío [21] o tras la administración de gammaglobulina que induce un aumento en la agregación de los granulocitos [22].

Recuento diferencial de leucocitos

En la sangre circulan cinco tipos de células que se originan de tres series hematopoyéticas a saber: de la serie granulocítica, los polimorfonucleares neutrófilos, los polimorfonucleares eosinófilos y los polimorfonucleares basófilos, de la serie linfocítica, los linfocitos y de la serie mono-

cítica, los monocitos. Independiente de la técnica utilizada para hacer el recuento diferencial de leucocitos, ya sea por métodos manuales o electrónicos, el observador debe estar en condiciones de identificar tanto las formas normales como las formas inmaduras y las anomalías que puedan presentarse en estas células, como se analizará en el curso de este módulo. Cuando en el recuento diferencial de leucocitos por métodos electrónicos como los realizados con los autoanalizadores de hematología de última generación, como el XE-2100 de Sysmex® [23] y el Sapphire de la línea Cell-Dyn de Abbott Diagnostics® [24], el instrumento analiza más de 50.000 células por estudio, en el recuento diferencial de leucocitos manual sólo se analizan entre 100 y 200 células [25] y algunos van más allá, estudiando escasamente 50 células, aumentando el coeficiente de variación.

Es importante recordar que el recuento diferencial de leucocitos por métodos manuales, además de las relacionadas con los problemas de preparación y coloración de los extendidos como claramente está referenciado en la literatura médica [8, 26] como se analizó ampliamente en un módulo anterior [5], tiene otras fuentes de error como la distribución de las células en el extendido de sangre periférica, el reconocimiento de las células y los errores estadísticos de la muestra, debido a que sólo se analizan 100 células; problemas que se resuelven con los recuentos diferenciales de leucocitos de los autoanalizadores de hematología, sobre todo los de últimas generaciones, por el gran número de células que analizan, la tecnología utilizada (usualmente láser) y el software instalado en estos instrumentos, con coeficientes de variación por debajo del 5% [27-30].

Recuento diferencial de leucocitos por método manual

Cuando el hemograma es manual, como en los tipos I y II, semimanual, como el tipo III, y cuando es de tres partes, como el tipo IV de acuerdo con la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [2], en todos los casos se debe hacer recuento diferencial de leucocitos por método manual, siguiendo las técnicas establecidas en los procedimientos de laboratorio clínico para tal fin [25, 31, 32]. Para tener un buen recuento diferencial de leucocitos por el método manual, es indispensable: (1) hacer un buen extendido de sangre periférica como se analizó en un módulo anterior [5]; (2) seguir los procedimientos al “pie de la letra” definidos en los manuales de procedimientos [25, 32], que debe seguir el laboratorio clínico dentro de las buenas prácticas; y (3) que el personal que haga el recuento esté debidamente capacitado para identificar todas las células normales y, más importante, las anormales [31].

Recuento diferencial de leucocitos por métodos electrónicos

Cuando el hemograma es electrónico, en particular los que entregan un diferencial de cinco partes, como los hemogramas tipo V y VI de la clasificación de la Sociedad Colombiana de Patología Clínica [2], en donde el recuento que hace

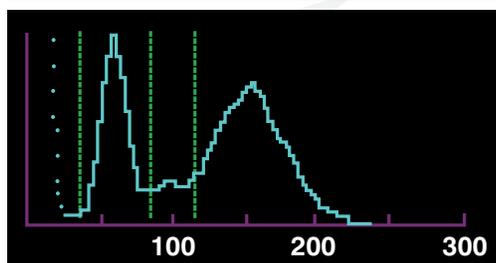


Figura 1. Histograma de leucocitos de tres partes. En la primera parte a la izquierda, se separan los restos celulares de los linfocitos; en la parte central se separan los linfocitos de una población mezclada, consistente en su mayoría de monocitos y eosinófilos; y en la tercera parte se separan los granulocitos de la población central.

el instrumento se logra mediante alta tecnología incorporada a los autoanalizadores de hematología y al gran número de células analizadas, el estudio de las alarmas, más que el recuento diferencial de leucocitos, se debe hacer en todos los casos en donde éstas se presenten siguiendo estrictamente los protocolos preestablecidos para estos casos de acuerdo con las diferentes casas comerciales [33]. El recuento diferencial de leucocitos por métodos electrónicos, como los que se logran con los autoanalizadores de hematología de última generación, tiene una mayor sensibilidad y especificidad para detectar alteraciones en esta parte del hemograma

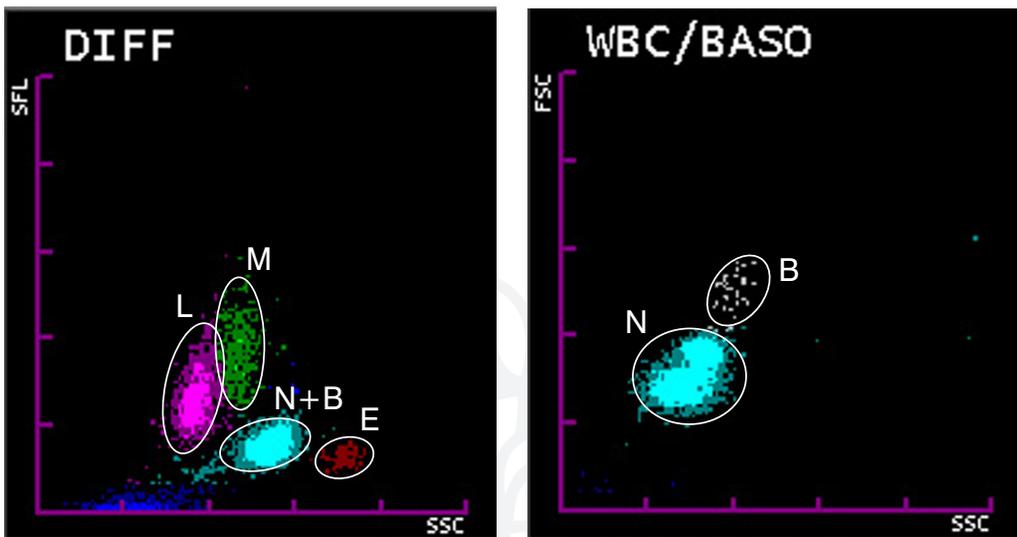


Figura 2. Citograma de leucocitos de un paciente con recuento diferencial de leucocitos normal. En el panel de la izquierda, el citograma muestra cuatro poblaciones de leucocitos: linfocitos (L), monocitos (M), neutrófilos y basófilos (N + B) y eosinófilos (E). En el panel de la derecha, el citograma complementario muestra dos poblaciones: neutrófilos (N) y basófilos (B). Sysmex® XE-2100.

que los métodos manuales, como contundentemente lo han demostrado varios estudios [23]. En la **figura 1** se muestra un histograma de un recuento diferencial de leucocitos de tres partes y en la **figura 2** los citogramas que permiten tener un recuento diferencial de leucocitos de cinco partes con uno de los autoanalizadores de hematología de última generación, disponible en el mercado nacional.

El recuento diferencial de leucocitos se expresa en valores absolutos, esto es en células por unidad de volumen (por μL), y no en valores relativos o porcentaje de células, como frecuentemente lo hacen muchos laboratorios clínicos. De acuerdo con los valores esperados, que varían con la edad y el grupo étnico, éstos deben ser ajustados por cada laboratorio clínico, como se presenta en la **tabla 1**, previamente citada. Independiente de los valores ajustados para cada caso en particular, el recuento diferencial de leucocitos permite establecer algunos conceptos básicos de gran valor en la interpretación de la prueba y en la clínica, como se analizará a continuación.

Alteraciones cuantitativas derivadas del recuento diferencial de leucocitos

Del recuento diferencial de leucocitos se derivan conceptos médicos como neutrofilia, neutropenia, agranulocitosis, eosinofilia, eosinopenia, basofilia, basopenia, monocitosis, monocitopenia, linfocitosis y linfocitopenia, entre otros.

Neutrofilia

Es el término utilizado para indicar, con relación al valor máximo esperado para la edad, el género, el estado fisiológico y el origen étnico, el aumento en el recuento absoluto de los polimorfonucleares neutrófilos [17]. Fisiológicamente, los neutrófilos se encuentran elevados en niños recién nacidos, en las mujeres en edad reproductiva, durante los ciclos menstruales y en el embarazo, particularmente alrededor del trabajo de parto y los primeros días posparto [17]. La neutrofilia usualmente se presenta por redistribución de las células, con paso del *pool* marginal a la circulación, tras un estímulo como el estrés (ejercicio, epinefrina, etc.), infecciones bacterianas

o inflamación, o por salida de polimorfonucleares neutrófilos de la medula ósea [17]. Las causas íntimas por las cuales se presenta neutrofilia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas, por cierto muy extensas, que traen los textos clásicos de hematología [17, 34] o revisiones especializadas [35]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay neutrofilia, sobre todo en los hemogramas tipo V y VI, en donde el recuento diferencial de leucocitos manual o la observación del extendido de sangre periférica es opcional, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Neutropenia

Es el término utilizado para indicar, con relación al valor mínimo esperado para la edad, el género, el estado fisiológico y el origen étnico, la disminución en el recuento absoluto de los polimorfonucleares neutrófilos [17]. Con relación a la neutropenia es muy importante recordar que los valores de referencia en el recuento absoluto de leucocitos y sobre todo de los neutrófilos en los individuos negros es muy diferente al del resto de la población [36, 37], por lo que más bien debería llamarse pseudoneutropenia étnica [38], cuando en los caucásicos el límite por debajo del cual se define la neutropenia es de 1.800 neutrófilos por μL , en individuos de raza negra este nivel se ubica en 1.400 neutrófilos por μL y en algunos individuos puede estar alrededor de los 1.000 neutrófilos por μL [38-41], situación que si no se tiene en cuenta, como frecuentemente sucede en el medio, puede generar malos diagnósticos, tratamientos innecesarios y costos inútiles. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay neutropenia, el estudio se debe completar con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

De acuerdo con el recuento absoluto de neutrófilos, la neutropenia se clasifica en media, cuando el recuento absoluto de neutrófilos está entre 1.000 y 1.500 células por μL ; moderada, cuando el recuento absoluto de neutrófilos está entre 500 y 1.000 células por μL ; y severa, cuando el recuento absoluto de neutrófilos está por debajo de 500 células por μL [42]. Además, el término de agranulocitosis se utiliza para definir la ausencia de polimorfonucleares neutrófilos en el recuento diferencial de leucocitos [42] y para algunos autores cuando el recuento absoluto de polimorfonucleares neutrófilos está por debajo de 500 por μL [43]. La agranulocitosis es la forma más severa de neutropenia y se caracteriza por una altísima tasa de mortalidad, mortalidad que puede llegar hasta el 24% [44-49]. Las causas íntimas por las cuales se presenta neutropenia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas, por cierto muy extensas, que traen los textos clásicos de hematología [17, 34, 42] o revisiones especializadas [35, 50, 51]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay neutropenia, sobre todo en los hemogramas tipo V y VI, en donde el recuento diferencial de leucocitos manual o la observación del extendido de sangre periférica es opcional, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea. Ante la presencia de neutropenia debe tenerse en cuenta la posibilidad de una falsa disminución de los neutrófilos por aglutinación de los granulocitos [21].

Eosinofilia

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo esperado para la edad y el estado fisiológico, en el recuento absoluto de los polimorfonucleares eosinófilos [17]. El recuento de eosinófilos no varía con el origen étnico, como previamente se había insinuado para los indios y los negros [17]. La eosinofilia, de acuerdo con el recuento de eosinófilos, inde-

pendiente de las variaciones que puedan presentarse localmente con los valores de referencia, la eosinofilia puede subdividirse en tres grupos: media o mínima, cuando el recuento de eosinófilos está entre 350 y 1.500 por μL ; moderada, cuando en recuento de eosinófilos está entre 1.501 y 5.000 por μL ; y marcada o severa, cuando en recuento de eosinófilos está por encima de 5.001 por μL [52-54]. En nuestro medio, la causa más frecuente de eosinofilia, usualmente mínima, son las enfermedades parasitarias seguida de las enfermedades alérgicas, que ocupan el primer lugar en los países desarrollados [53]. Las causas íntimas por las cuales se presenta eosinofilia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17, 52] o revisiones especializadas [53-56]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en los cuales se encuentra eosinofilia, sobre todo en los hemogramas tipo V y VI, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Eosinopenia

Es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo esperado para la edad, en el recuento absoluto de los polimorfonucleares eosinófilos [17, 52]. Los eosinófilos disminuyen fisiológicamente durante la gestación y especialmente durante el trabajo de parto, aun con fenómenos de degranulación [57]. La eosinopenia es una alteración muy rara y cuando está presente usualmente pasa desapercibida cuando el recuento diferencial de leucocitos se hace manualmente sobre 100 leucocitos [17]. La eosinopenia se ha informado en pacientes con síndrome de Down [58], en pacientes con timoma y aplasia pura de eosinófilos [59], destrucción autoinmune de eosinófilos y basófilos [60] y en pacientes portadores del virus linfotrópico tipo I (HTLV-I) [61]. Las causas íntimas por las cuales se presenta eosinopenia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17, 52] o revisiones especializadas [62]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay eosinopenia, sobre todo de los hemogramas tipo V y VI, es necesario completar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Basofilia

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo esperado para la edad, en el recuento absoluto de los polimorfonucleares basófilos [17]. La presencia de basofilia en sangre periférica es altamente sugestiva de una enfermedad mieloproliferativa [17, 63]. Las causas íntimas por las cuales se presenta eosinofilia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17, 64] o revisiones especializadas [63, 65]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay basofilia, sobre todo de los hemogramas tipo V y VI, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Basopenia

Es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo esperado, en el recuento absoluto de los polimorfonucleares basófilos [17]. Como en el caso de la eosinopenia, la basopenia no se detecta en el recuento diferencial de leucocitos cuando se hace por métodos manuales y por los métodos electrónicos de las primeras generaciones, en particular en los diferenciales de tres partes, en donde el diferencial se hace por impedancia [17], siendo detectable, en teoría, sólo por los autoanalizadores de hematología de última generación como específica-

mente los detectan el XE-2100 de Sysmex® [23] y el Sapphire de la línea Cell-Dyn® de Abbott Diagnostics [24], entre otros. La basopenia es un indicador de ovulación: cae con la ovulación y se eleva en la fase luteínica [66] y es un hallazgo relativamente frecuente en la urticaria [67-69]. Las causas íntimas por las cuales se presenta basopenia son diversas y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17, 64] o revisiones especializadas [64]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay basopenia, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Linfocitosis

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo esperado para la edad, en el recuento absoluto de los linfocitos [17]. El recuento de linfocitos no tiene diferencia por género ni por el grupo étnico [17]. Las causas íntimas por las cuales se presenta linfocitosis son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17] o revisiones especializadas [70]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay linfocitosis, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Linfocitopenia

La linfopenia o más correctamente, la linfocitopenia, es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo esperado para la edad, en el recuento absoluto de los linfocitos [17]. En los niños, en particular en los recién nacidos, en donde el recuento de linfocitos es relativamente alto, un recuento por debajo de 2.800 por μL es altamente sospechoso de una inmunodeficiencia combinada severa [71]. No hay que olvidar que la leucopenia es un hallazgo importante en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana y este puede ser el primer signo de la infección [72]. La linfocitopenia, sola o asociada con alteraciones en los recuentos de los polimorfonucleares neutrófilos, es un hallazgo muy frecuente y como en los casos anteriores, las causas íntimas por las cuales se presenta son múltiples y para conocerlas es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17] o revisiones especializadas [73]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay linfocitopenia, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Monocitosis

Es el término utilizado para indicar el aumento, con relación al valor máximo esperado para la edad, en el recuento absoluto de monocitos [17]. El recuento de monocitos tampoco tiene diferencia por género ni por el grupo étnico [17]. Los monocitos están elevados en neonatos y en mujeres gestantes, en donde se elevan paralelos con los polimorfonucleares neutrófilos [17]. Las causas íntimas por las cuales se presenta monocitosis son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17] o revisiones especializadas [74]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay monocitosis, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Monocitopenia

Es el término utilizado para indicar la disminución, con relación al valor mínimo esperado para la edad, en el recuento absoluto de monocitos [17]. Usualmente, la monocitopenia acompaña a otras alteraciones del sistema hematopoyético. Los monocitos disminuyen en pacientes que reciben corticosteroides y en pacientes con infecciones agudas, cuando hay endotoxinas [17]. Las causas íntimas por las cuales se presenta monocitopenia son múltiples y para ello es preferible consultar las tablas que traen los textos clásicos de hematología [17]. Como en las otras alteraciones cuantitativas de los leucocitos, en todos los casos en donde hay monocitopenia, sola o asociada con otras alteraciones, es necesario complementar el estudio con la observación directa de los leucocitos en extendidos de sangre periférica a cargo de profesionales debidamente entrenados en morfología sanguínea [17].

Alteraciones cualitativas en la morfología de los leucocitos

Se refiere a los hallazgos que se derivan de la observación directa de las células en extendidos de sangre periférica. Pueden ser congénitos o adquiridos, pueden comprometer una o varias series, se pueden observar células maduras o inmaduras, pueden ser sintomáticas o asintomáticas, entre otras características que se analizarán a continuación. Para comprender e identificar oportunamente las alteraciones morfológicas de los leucocitos es indispensable conocer los aspectos básicos de la leucopoyesis y las características más relevantes de la morfología de los leucocitos, incluidos los precursores que normalmente no circulan en sangre periférica.

Leucopoyesis

El término de leucopoyesis se refiere al proceso de la producción de los leucocitos a partir de las células madres hematopoyéticas pluripotentes de la médula ósea.

Granulocitopoyesis

La granulocitopoyesis da como resultado la formación de los granulocitos o polimorfonucleares en sus tres formas: neutrófilos, eosinófilos y basófilos. Como se esquematiza en la **figura 3**, la granulocitopoyesis se lleva a cabo en la médula ósea a partir de una célula madre pluripotencial. Desde el punto de vista de las diferentes etapas por las cuales debe pasar una célula madre desde que recibe la "orden de producción" de un polimorfonuclear, las células se dividen en dos grandes compartimentos: (1) el proliferativo, que va desde el mieloblasto hasta la etapa final del mielocito y (2) el de maduración y almacenamiento, que va desde el metamielocito hasta el polimorfonuclear neutrófilo, eosinófilo o basófilo. Las células primitivas, o células madre, son pocas en número pero gracias a los procesos de mitosis a repetición logran producir un buen número de células antes de llegar a metamielocitos a partir de los cuales no se pueden multiplicar más. Es importante conocer con detalle cada uno de estos precursores debido a que en cualquier momento pueden encontrarse en los extendidos de sangre periférica y si no se conocen es posible que pase desapercibido el diagnóstico, que como en el caso de las leucemias puede tener consecuencias nefastas.

Mieloblasto

Es la célula más inmadura identificable de la serie mieloide, con un diámetro que varía entre 10 y 18 μm [75]. Su citoplasma característicamente es azul intenso, a menudo con una zona más clara a nivel de la región perinuclear, es agranular o puede exhibir escasos gránulos azurófilos según el grado de desarrollo de la célula; su núcleo, redondo u ovalado, ocupa cerca de las tres cuartas a cuatro quintas partes de la célula, con la cromatina dispuesta en forma de finas fibras de aspecto reticular uniforme que se colorea de intenso rojo púrpura con los colorantes de Romanovsky, como la coloración de Wright [75]. El núcleo puede llegar a tener hasta seis nucléolos, siendo lo usual entre dos y cinco, de tamaño mediano, bien definidos y con un borde de cromatina

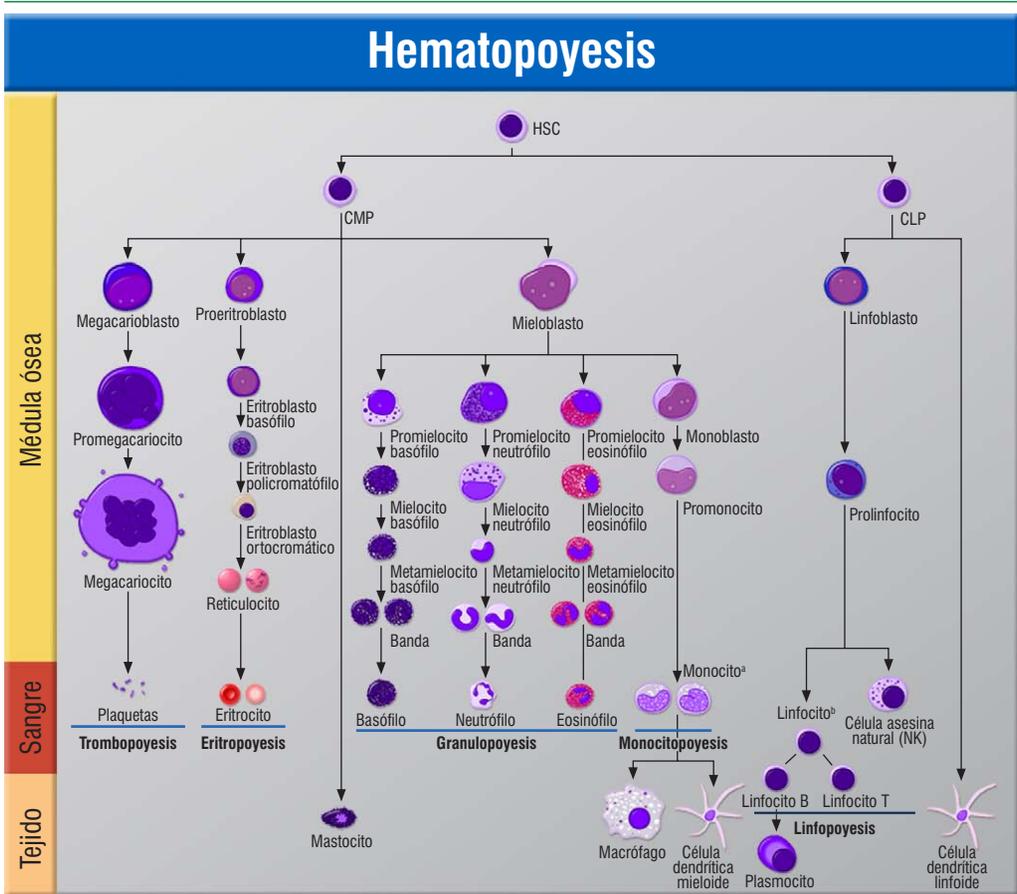


Figura 3. Hematopoyesis normal. Hematopoyesis en los diferentes compartimentos: médula ósea, sangre periférica y tejido hematopoyético. Convenciones: HSC: célula madre hematopoyética; CMP: célula progenitora mieloides común; CLP: célula progenitora linfoides común.

^a Otras células se derivan del monocito: osteoclasto, microglía (sistema nervioso central), célula de Langerhans (epidermis), célula de Kupffer (hígado). ^b Los linfocitos T y B no se diferencian morfológicamente a menos que se utilicen coloraciones específicas.

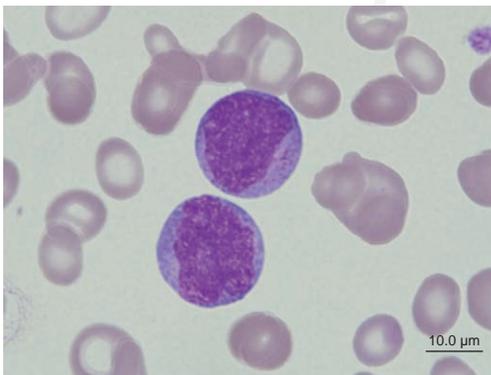


Figura 4. Mieloblasto en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de una leucemia mieloides crónica en crisis blástica. Coloración de Wright utilizando un extensor y colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

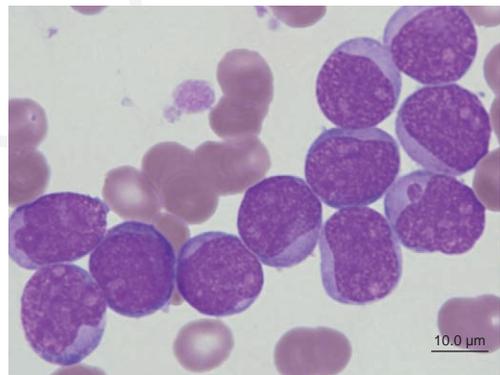


Figura 5. Mieloblastos en la médula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloides aguda. Extendido sobre laminilla coloreado manualmente con coloración de Wright. 1.000X.

tina bien marcado [75]. En las **figuras 4 y 5** se presentan algunos mieloblastos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Normalmente, sólo se observan mieloblastos en la médula ósea en un porcentaje que oscila entre el 0,1% y el 3,5% de los precursores leucocitarios [76, 77]. Cuando en la sangre periférica hay mieloblastos, sobre todo si el número de células circulantes es importante, lo más seguro es que se esté frente a un diagnóstico de una leucemia aguda, que en este caso corresponde a una leucemia mieloblástica aguda de la cual hay, de acuerdo con la clasificación FAB (franco-americano-británica), dos formas: la M1 y la M2 [78, 79]. También se observan mieloblastos en la sangre periférica de pacientes con leucemia mieloide crónica, sobre todo cuando hay crisis blástica [80], leucemias mielomonocíticas [81], leucemia oligoblástica (anemia refractaria con exceso de mieloblastos) [82], síndrome mielodisplásico [83] y en pacientes con infiltración a la médula ósea por una neoplasia (mieloptosis) [84].

Promielocito

Esta célula es la de mayor tamaño entre los precursores de los granulocitos con un diámetro que varía entre 12 y 20 μm [75]. Morfológicamente, aparte de mayor tamaño, es muy semejante a su precursor, el mieloblasto, salvo que en su citoplasma se evidencian gránulos azurófilos que se colorean de azul a púrpura rojiza con los colorantes de Romanovsky, como la coloración de Wright, el núcleo es de aspecto redondeado, usualmente está situado excéntricamente, tiene la cromatina un poco más gruesa que la del mieloblasto y los nucléolos están menos definidos y en menor cantidad [75]. En las **figuras 6 y 7** se presentan algunos promielocitos en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

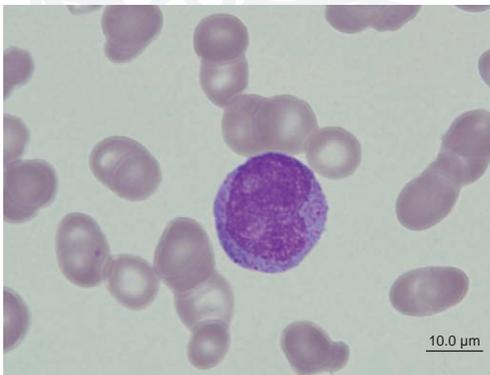


Figura 6. Promielocito en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia promielocítica aguda. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

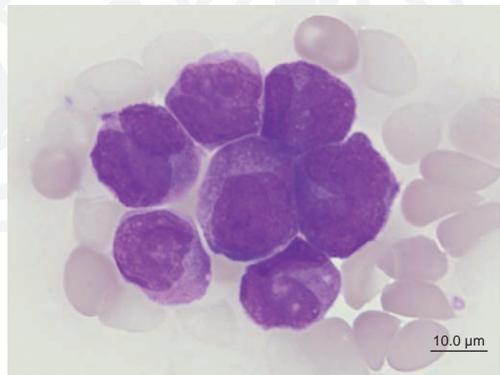


Figura 7. Promielocito en la médula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia promielocítica aguda. Coloración de Wright utilizando un coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Normalmente, sólo se observan promielocitos en la médula ósea en un porcentaje que oscila entre el 0,5% y el 5% de los precursores leucocitarios [76, 77]. Cuando en la sangre periférica hay promielocitos lo más seguro es que se esté frente a un diagnóstico de una leucemia aguda, en este caso a una leucemia promielocítica aguda, clasificada de acuerdo con la clasificación FAB (franco-americano-británica) como M3 [78]. Los promielocitos también se observan en la sangre periférica de pacientes con leucemia linfocítica aguda e infiltración de la médula ósea (mieloptosis), entre otras situaciones clínicas.

Mielocito

Las diferencias de esta célula y su predecesor, el promielocito, aparte de que son más pequeños, radican en que los gránulos citoplasmáticos han adoptado su carácter de gránulos específi-

cos, de acuerdo con las células que formará como neutrófilo, eosinófilo o basófilo, además de que no posee nucléolos. Su tamaño varía entre 12 y 18 μm de diámetro, aunque en las etapas iniciales puede llegar a tener 25 μm de diámetro; el color del citoplasma va desde celeste, en las primeras etapas, hasta rosa, en las etapas más maduras, el núcleo es redondo u oval y la cromatina se observa como unas gruesas fibras, más teñibles que en el promielocito [75]. En las **figuras 8 y 9** se presentan algunos mielocitos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

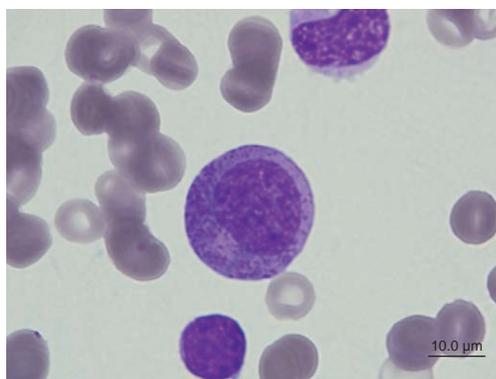


Figura 8. Mielocito en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

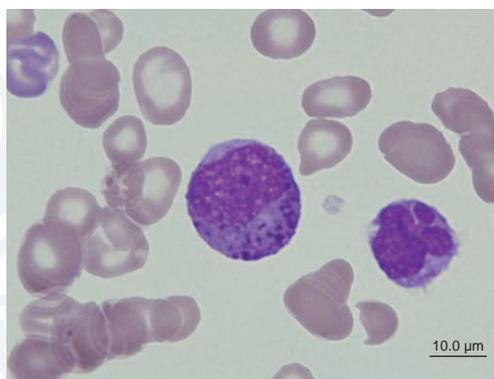


Figura 9. Mielocito en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Normalmente, los mielocitos sólo se observan en la médula ósea en un porcentaje que oscila entre el 5% y el 20% de los precursores leucocitarios [76, 77]. Cuando en la sangre periférica hay mielocitos, sobre todo cuando se encuentran asociados con leucocitosis o la presencia de otros precursores mieloides, como mieloblastos, promielocitos y metamielocitos, se debe sospechar el diagnóstico de una enfermedad mieloproliferativa, en particular, una leucemia mieloide crónica [80]; los mielocitos también pueden aparecer en el extendido de sangre periférica de pacientes con infiltración, benigna o maligna (mieloptisis), de la médula ósea y en estos casos es usual que también se observen eritroblastos y otros precursores medulares, lo que se conoce como reacción leucoeritroblástica, además de las alteraciones morfológicas relacionadas con los eritrocitos como la presencia de dacriocitos y esquistocitos [1], entre otras. En la sangre periférica de niños recién nacidos, ocasionalmente se pueden observar mielocitos u otras formas de células más inmaduras, sobre todo cuando son niños prematuros, como una posible evidencia de la inmadurez del sistema hematopoyético [85]; también se pueden observar mielocitos y otras células más inmaduras en pacientes con síndrome mielodisplásico [86].

Metamielocito

A partir de esta célula se pierde el poder mitótico de la célula, por lo que esta etapa también se conoce como posmitótica o de maduración. El citoplasma de la célula es rosado y contiene los gránulos propios de la serie. Su tamaño varía entre 10 y 18 μm , el núcleo se observa un poco más pequeño que sus antecesores y un tanto más indentado o de aspecto “reniforme”, con tendencia a ubicarse excéntricamente [75]. En las **figuras 10 y 11** se presentan algunos metamielocitos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Normalmente, sólo se observan metamielocitos en la médula ósea, en un porcentaje que oscila entre el 10% al 30% de los precursores leucocitarios [76, 77]. Cuando en la sangre periférica hay metamielocitos, sobre todo cuando se encuentran asociados a leucocitosis o la presencia de

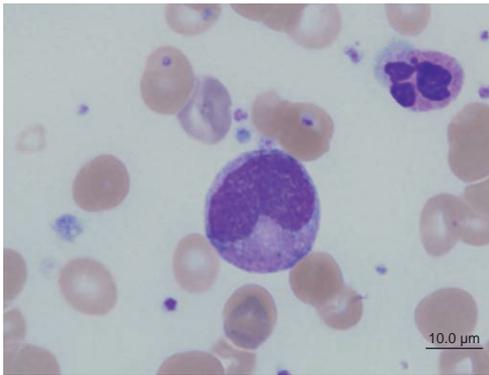


Figura 10. Metamielocito en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

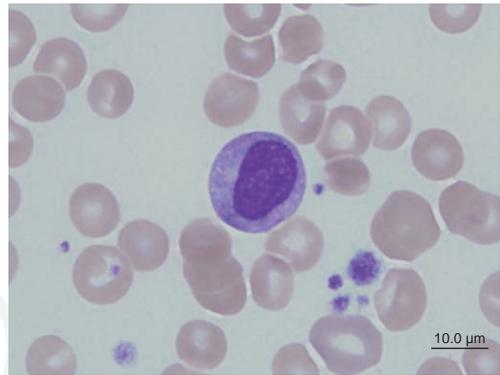


Figura 11. Metamielocito en paciente con síndrome mielodisplásico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

otros precursores mieloides, como mieloblastos, promielocitos y metamielocitos, se debe sospechar el diagnóstico de una enfermedad mieloproliferativa, en particular el de una leucemia mieloide crónica [80]; los metamielocitos también se pueden observar en el extendido de sangre periférica de pacientes con desviación izquierda [87, 88], como se analizará más adelante.

Banda

Esta célula, también conocida como neutrófilo juvenil, neutrófilo no-segmentado o cayado, representa la forma más inmadura de los polimorfonucleares circulantes. Su tamaño, que varía entre 10 y 16 µm, usualmente es más pequeño que el metamielocito y lo más característico es la forma de su núcleo en U, intensamente teñible, cuya cromatina es más gruesa y aglomerada que la del polimorfonuclear maduro [75]. En las **figuras 12 y 13** se presentan algunas bandas en las cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Las bandas representan entre el 8% y el 20% de los precursores leucocitarios en la medula ósea [76, 77] y se encuentran en los extendidos de sangre periférica de individuos normales en

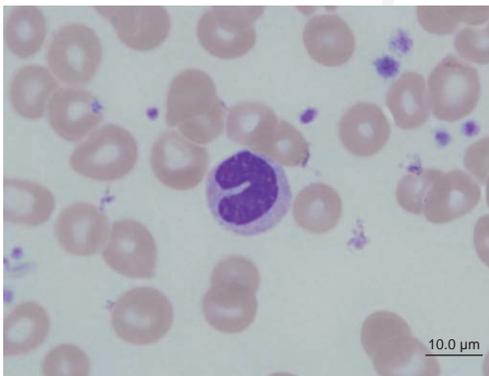


Figura 12. Banda en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome mielodisplásico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

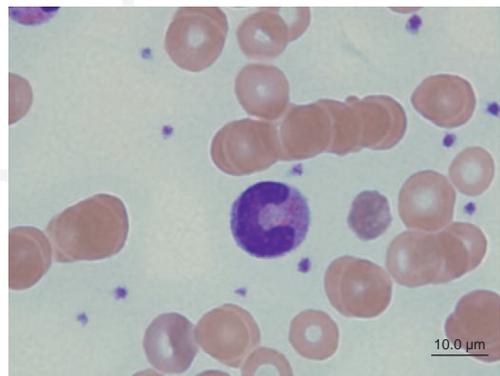


Figura 13. Banda en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de infección bacteriana aguda. Además, en el citoplasma de la célula se evidencia la presencia de granulaciones tóxicas. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

un número muy variable, explicable por aspectos técnicos que no son objeto de este módulo, entre el 3% (0 a 700 por μL) [89] y 10% (2.000 por μL) [90] y puede llegar hasta 21,5% [91]. Como se analizará en detalle más adelante, las bandas se encuentran aumentadas en pacientes con procesos infecciosos [87, 88], usualmente asociados con neutrofilia, dando el cuadro hematológico que se conoce como “desviación izquierda” [92].

Polimorfonuclear neutrófilo

El polimorfonuclear neutrófilo es la forma más madura de la serie de los granulocitos neutrófilos. Su tamaño varía entre 10 y 15 μm y en su citoplasma rosado hay numerosos gránulos neutrófilos, finos, uniformemente distribuidos; su núcleo característicamente es lobular y la cantidad de lóbulos, que pueden superponerse en los extendidos de sangre periférica, están conectados entre sí por finas fibras de cromatina que se observa aglomerada y compacta, pueden estar ubicados en la parte central o excéntricos [75]. En las **figuras 14 y 15** se presentan algunos polimorfonucleares neutrófilos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

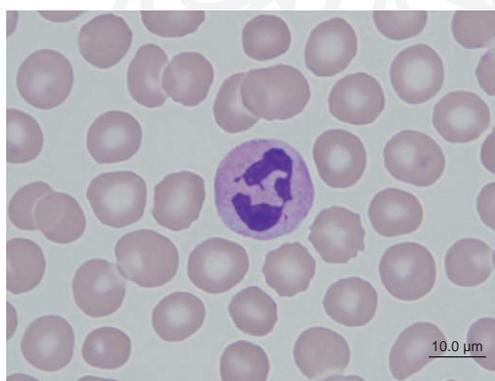


Figura 14. Polimorfonuclear neutrófilo normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

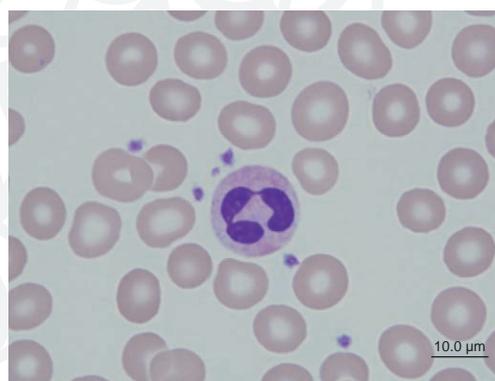


Figura 15. Polimorfonuclear neutrófilo normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

El recuento de polimorfonucleares neutrófilos en medula ósea oscila entre 7% y 25% [76] y en sangre periférica entre 1.700 y 8.800 por μL [75] pero estos valores pueden variar de acuerdo con las características demográficas de la población a la cual se le presta el servicio, como claramente se evidencia en la **tabla 1**, previamente citada.

Polimorfonuclear eosinófilo

El polimorfonuclear eosinófilo es una célula de origen mieloide, un poco más grande que el polimorfonuclear neutrófilo, con un diámetro entre 12 y 17 μm [52]. A diferencia del neutrófilo, que tiene más de tres lobulaciones, el eosinófilo usualmente es bilobulado y ocasionalmente trilobulado [93]; y a diferencia de los neutrófilos, los eosinófilos tienen gránulos esféricos, consistentemente grandes, de color anaranjado, que llenan todo el citoplasma de la célula y le dan su aspecto característico [93]. En las **figuras 16 a 18** se presentan algunos polimorfonucleares eosinófilos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células. Los eosinófilos son más frágiles que los neutrófilos y a menudo se observan “estallados”, dejando el núcleo rodeado por gránulos libres, como se observa en la **figura 19**.

El recuento de eosinófilos en medula ósea oscila entre 0,2% y 3% y en sangre periférica debe estar por debajo de 350 células por μL [53] de acuerdo con estándares internacionales, recuento

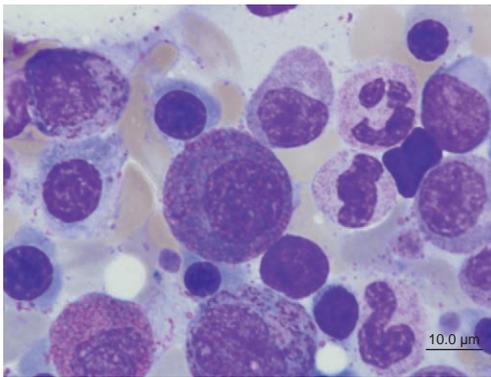


Figura 16. Mielocito eosinófilo en la medula ósea de un paciente con diagnóstico de síndrome hipereosinófilico. Coloración de Wright utilizando un coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

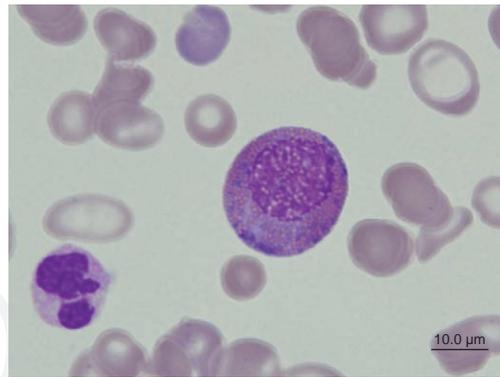


Figura 17. Metamielocito eosinófilo en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome hipereosinófilico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

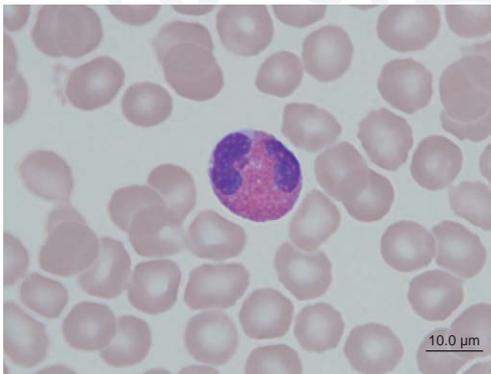


Figura 18. Polimorfonuclear eosinófilo normal en sangre periférica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

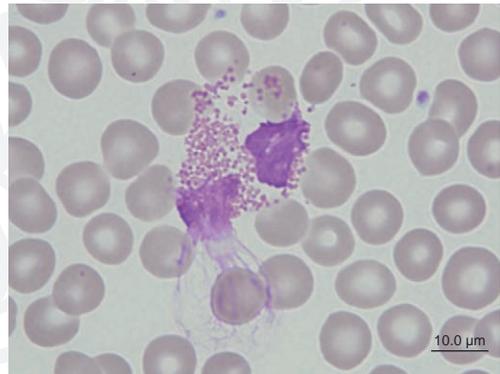


Figura 19. Polimorfonuclear eosinófilo (normal) estallado. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

que puede variar cuando se establecen valores de referencia para una determinada población. Siendo, como realmente son, células de origen mieloide, además de que comparten características con los neutrófilos y los basófilos, los eosinófilos tienen algunas alteraciones morfológicas que vale la pena conocer. Por ejemplo, se pueden observar hipogranulares e hipergranulares en pacientes con anemia perniciosa [94], en pacientes con hipersegmentación hereditaria de los eosinófilos [95, 96], en cromosomopatías como el síndrome de Down [58] y en pacientes con mielocatesis [97], e hiposegmentados en pacientes con anomalía de Pelger-Huët [93] y en pacientes con deficiencia de lactoferrina [98]. También se presenta en pacientes con síndrome mielodisplásico [86], en pacientes con mielofibrosis idiopática [99] y en la eosinofilia reactiva [100]. Los eosinófilos también pueden presentar cuerpos de Barr y núcleos en forma de anillo, en situaciones y condiciones similares a las que se pueden presentar en el caso de los neutrófilos [93].

Polimorfonuclear basófilo

Como en el caso anterior, para llegar a esta célula madura, esta serie pasa por las mismas etapas del neutrófilo y del eosinófilo. El tamaño de los basófilos varía entre 14 y 15 µm, su cito-

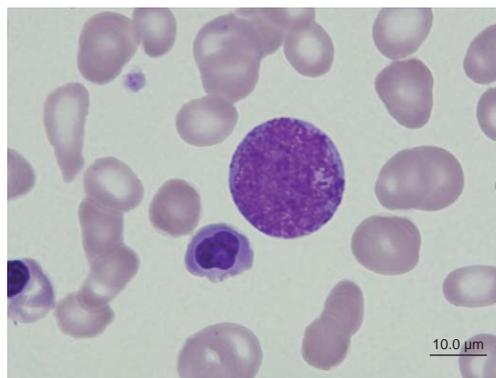


Figura 20. Promielocito basófilo en la medula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

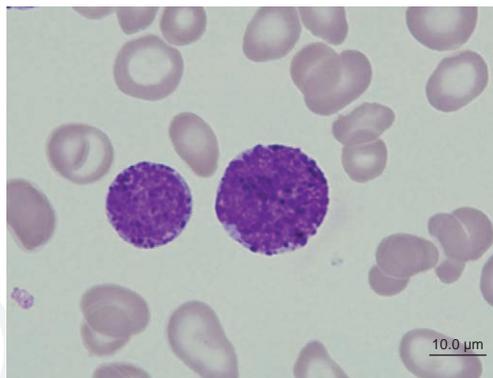


Figura 21. Mielocito basófilo en la medula ósea de un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

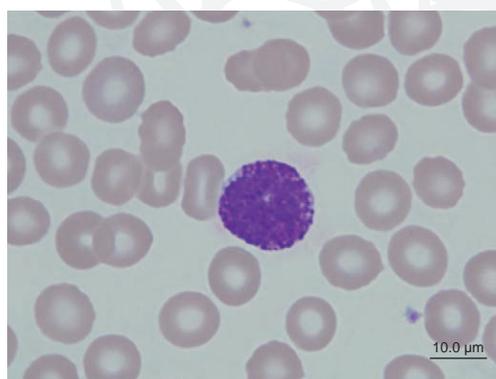


Figura 22. Polimorfonuclear basófilo normal en sangre periférica. Coloración de Wright utilizando un extensor y colorador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

plasma es de color rosa, contiene grandes gránulos que ocupan la mayoría de la célula [75]. El núcleo, que usualmente no es visible debido a que lo cubren los gránulos específicos, suele ser bilobulado. En las **figuras 20 a 22** se presentan algunos polimorfonucleares basófilos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

El recuento de polimorfonucleares basófilos en medula ósea oscila entre 0,0% y 0,5% [76] y en sangre periférica entre 0 y 150 por μL [64]. Como en los casos anteriores, los polimorfonucleares basófilos pueden tener alteraciones morfológicas que en determinado momento son de utilidad para establecer un

diagnóstico; por ejemplo, se puede encontrar basófilos con citoplasma hipogranular en pacientes con síndromes mieloproliferativos y en pacientes con síndrome mielodisplásico [93]. También se puede observar hipogranularidad de los basófilos durante la fase aguda de procesos alérgicos agudos como la urticaria y el shock anafiláctico [93], en estados de hiperlipidemia posprandial [93] y como artefacto de laboratorio debido a que los gránulos específicos de los basófilos son solubles al agua y pueden ser destruidos durante la coloración si no se siguen estrictamente buenas prácticas de laboratorio. Las descripciones de las alteraciones del núcleo de los basófilos son muy pocas debido a la dificultad para visualizarlos porque están cubiertos con los gránulos específicos de la célula, como ya se ha expresado.

Otras alteraciones cualitativas de los polimorfonucleares

Aparte de las alteraciones de los granulocitos, hasta ahora analizadas, que en su mayoría se han referido a las desviaciones en los valores de referencia esperados para cada una de las células, los polimorfonucleares pueden tener otras alteraciones que vale la pena analizar con mayor detalle, clasificándolas de acuerdo con el sitio en donde mejor se expresan.

Alteraciones relacionadas con la interacción de los polimorfonucleares con otras células

Agregación de neutrófilos

Los polimorfonucleares neutrófilos se pueden agregar entre sí, con o sin agregación concomitante de plaquetas, como resultado de su interacción *in vitro* con el EDTA utilizado como anticoagulante. Se ha observado que este fenómeno, mucho menos frecuente que la aglutinación de plaquetas, es dependiente del tiempo [10], de ahí la importancia de hacer el estudio tan pronto como sea posible. También se ha observado agregación de neutrófilos en pacientes con mononucleosis infecciosa [101], en infecciones bacterianas agudas, en enfermedades autoinmunes y en algunos pacientes con anticuerpos al frío, con coexistencia de autoaglutinación de glóbulos rojos. La agregación de neutrófilos puede dar una seudoneutropenia si no se tiene precaución y no se piensa en esta posibilidad, de ahí la necesidad de revisar todas las placas cuando los autoanalizadores de hematología muestran desviaciones de los valores esperados o alarmas. En la **figura 23** se muestra un caso de autoaglutinación de neutrófilos por EDTA en el cual también se presenta coincidentemente un fenómeno de satelitismo plaquetario.

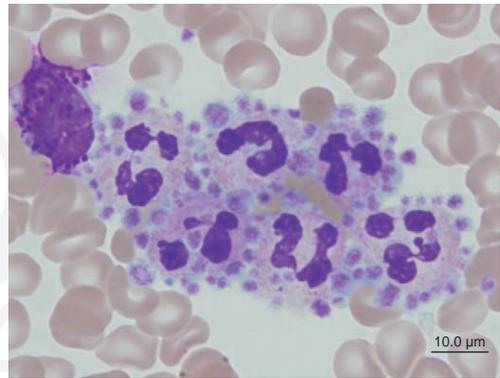


Figura 23. Aglutinación de neutrófilos por EDTA. Además de la aglutinación de los leucocitos, en el extendido de sangre periférica se observa satelitismo plaquetario concomitante asociado también con el EDTA. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

En la **figura 23** se muestra un caso de autoaglutinación de neutrófilos por EDTA en el cual también se presenta coincidentemente un fenómeno de satelitismo plaquetario.

Alteraciones relacionadas con el núcleo de los polimorfonucleares

Número de lobulaciones

Los neutrófilos se pueden clasificar de acuerdo con el grado de maduración que se expresa por el número de lobulaciones del núcleo. En estado de normalidad, se espera que las bandas, los neutrófilos más jóvenes en la sangre periférica, estén entre 2 y 3 por μL y que el resto de polimorfonucleares neutrófilos tenga entre dos y cinco lobulaciones [75]. De acuerdo con el grado de maduración de los polimorfonucleares neutrófilos, tradicionalmente se han definido dos figuras hematológicas: la desviación izquierda y la desviación derecha de los granulocitos que se esquematiza en la **figura 24**.

Desviación izquierda

En la desviación izquierda característicamente hay aumento de bandas, y otras formas menos maduras como metamielocitos, mielo-

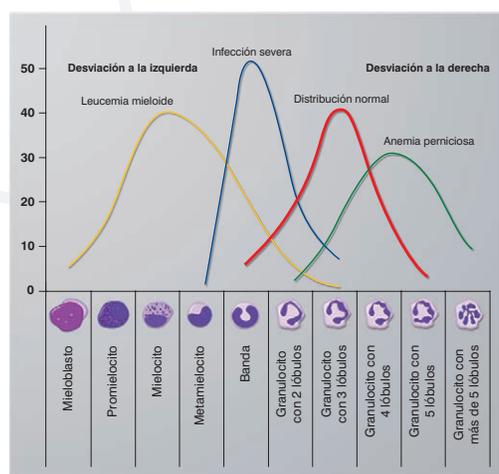


Figura 24. Representación esquemática de los conceptos de desviación izquierda y desviación derecha.

citocitos y promielocitos, y clásicamente se ha asociado con Infecciones incluída la sepsis neonatal [102] y la tuberculosis [103], con intoxicaciones por plomo, benzol, en pacientes con síndromes urémicos, con hemopatías (anemia aplásica, policitemia, agranulocitosis, leucemia mieloide y en las neoplasias sobreinfectadas [92] en la fiebre por quinidina [104] y en pacientes con síndrome de Down [105, 106]. Los problemas de la desviación izquierda en la aplicación clínica se derivan de que sólo estaría disponible con los recuentos diferenciales de leucocitos que tienen una gran variabilidad derivada de las variaciones interobservadores [107], la imprecisión del recuento manual por distribución no uniforme en los extendidos de sangre periférica [91], consumen mucho tiempo de personal profesional, no están disponibles en ninguno de los autoanalizadores de hematología hasta ahora desarrollados y al momento de determinar su utilidad clínica no son costo eficientes [92]. Además, para agravar las limitaciones del recuento de bandas como prueba de laboratorio, falta de estandarización que permita separar claramente las bandas de los neutrófilos a pesar de los esfuerzos de la comunidad científica para lograrlo desde 1948 [108-110], los valores de referencia oscilan en un rango muy amplio, entre 3% (0 a 700 por μL) [89] y 10% (2.000 por μL) [90] y puede llegar hasta 21,5% [91] y está influenciado por las variaciones étnicas y con la edad [12].

De otro lado, el recuento diferencial de leucocitos derivado de los autoanalizadores de hematología, especialmente los de las últimas generaciones, sólo determinan cinco poblaciones: polimorfonucleares neutrófilos (incluidas las bandas), polimorfonucleares eosinófilos, polimorfonucleares basófilos, linfocitos y monocitos y alarmas cuando las células nucleadas como eritroblastos u otras células blancas no son clasificables dentro de los cinco grupos antes citados, para que el operador las defina, tras la observación del extendido de sangre periférica [111, 112]. Para concluir, el recuento de bandas es una prueba que se mantiene en la mente de los profesionales de la salud, más por una tradición clínica que por una verdadera utilidad en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas que se le atribuye [92]; en otras palabras, es una prueba obsoleta que debería desaparecer de los portafolios de servicios de los laboratorios clínicos, para dar paso a pruebas o parámetros de mayor eficiencia clínica, como el índice de granulocitos inmaduros como se analizará a continuación.

Índice de granulocitos inmaduros. Hasta que éstos se incorporaron a los autoanalizadores de hematología, para tener un estudio de granulocitos inmaduros era necesario tener un citómetro de flujo [113]. Con el tiempo y gracias al desarrollo de los autoanalizadores de hematología se generó un nuevo parámetro: el de los granulocitos inmaduros para referirse a la presencia en sangre periférica de metamielocitos, mielocitos y promielocitos, inicialmente aplicado en el diagnóstico de la sepsis neonatal, teniendo en cuenta el recuento total de granulocitos, los granulocitos inmaduros y la relación granulocitos inmaduros: granulocitos totales [114]. El aumento de los granulocitos inmaduros en la sangre periférica es de importancia en el diagnóstico de enfermedades hematológicas, especialmente las de origen maligno y en procesos infecciosos, la incorporación al hemograma de rutina del índice de granulocitos inmaduros es de gran importancia para la tamización y diagnóstico temprano de enfermedades malignas con compromiso de los precursores mieloides y las infecciones [115, 116] y es así como algunos de los autoanalizadores de la última generación como el XE-2100 de Sysmex®, lo han incorporado como un parámetro en investigación que gracias al software especialmente desarrollado (XE-IG Master®) permite entregar al médico el resultado del estudio [117, 118]. El índice de granulocitos inmaduros sin ser equivalente al recuento de bandas, es un indicador de infección y/o estímulo de los granulocitos a nivel de la médula ósea, sobre todo en los casos de sepsis, en donde el diagnóstico oportuno es de vital importancia para evitar un desenlace fatal [119]. En la **figura 25** se muestran los citogramas que permiten identificar los granulocitos inmaduros como parte integral de un hemograma tipo VI.

Desviación derecha

Contario a lo observado en la desviación izquierda, en donde predominan las formas menos maduras de los granulocitos, en la desviación derecha, hay un mayor número de polimorfonu-

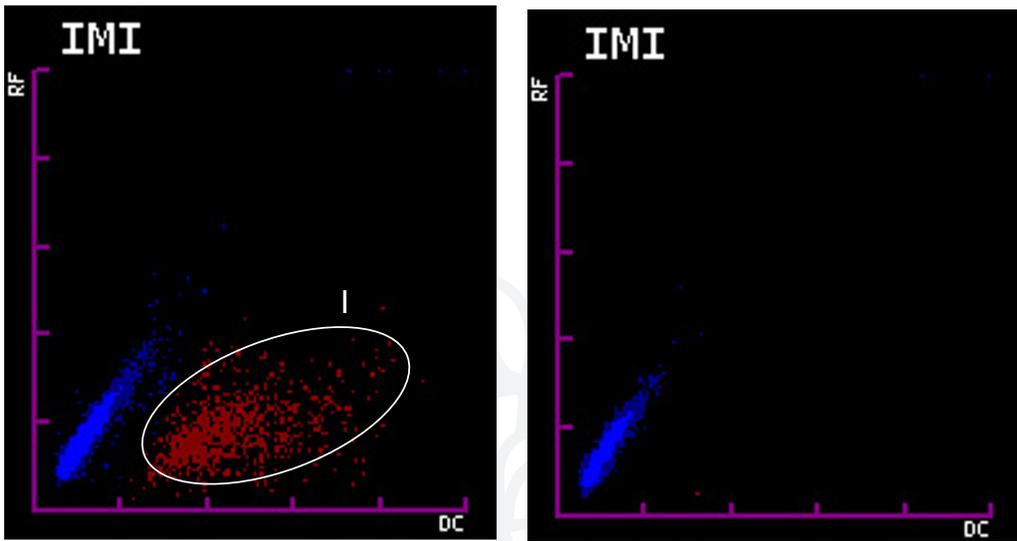


Figura 25. Granulocitos inmaduros. En el panel de la izquierda se observan los granulocitos inmaduros, marcados por un óvalo, de un paciente con un índice de granulocitos inmaduros de 12%, en tanto que el panel derecho corresponde al índice de granulocitos inmaduros de un paciente normal. Convenciones: I: granulocitos inmaduros. Sysmex® XE-2100.

cleares neutrófilos con más de cinco lobulaciones, también conocidos como macropolicitos. Desde el punto de vista práctico, se considera que hay desviación derecha cuando los macropolicitos representan más del 5% de los polimorfonucleares neutrófilos. Vale la pena anotar que ninguno de los autoanalizadores de hematología determina la presencia de macropolicitos, los cuales quedan incluidos en el recuento de polimorfonucleares neutrófilos donde realmente deberían estar. Como se analizará en el subtítulo siguiente, aparte de la anemia perniciosa en donde los macropolicitos se han incluido como un criterio para su diagnóstico [94, 120, 121], son otras las circunstancias en las cuales se puede observar aumento de macropolicitos, esto es, desviación derecha de los granulocitos.

Macropolicito

El macropolicito o pleocariocito se define como un polimorfonuclear neutrófilo que tiene un tamaño aproximado del doble del polimorfonuclear neutrófilo normal, esto es, con un diámetro de 15 a 25 μm y núcleo hipersegmentado, con más de cinco lobulaciones. Como ya se ha expresado, los macropolicitos característicamente se observan en pacientes con anemia perniciosa [94, 120, 121], pero también se pueden observar en individuos normales que los heredan en forma autosómica dominante [122] y en pacientes con síndrome mielodisplásico [86], con síndrome de DiGeorge [122] y tras la administración de G-CSF [123, 124] y esteroides, por ejemplo en el tratamiento de la púrpura trombocitopénica idiopática [125]. También se pueden observar en pacientes con anemia ferropénica [126], especialmente cuando hay deficiencia de otras vitaminas, en particular las relacionadas con el complejo B y el ácido fólico. La hipersegmentación de los neutrófilos también puede obedecer a un desorden hereditario autosómico dominante [127] y en la mielocatesis, un trastorno hereditario caracterizado por neutropenia y alteraciones en las lobulaciones de los polimorfonucleares neutrófilos [128, 129], íntimamente relacionada con el síndrome de WHIM (por *warts, hypogammaglobulinemia, recurrent bacterial infection, and myelokathexis*) [97]. Algunos macropolicitos pueden ser binucleados, usualmente gigantes y tetraploides, como sucede en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana [72]. En las **figuras 26 y 27** se presentan algunos macropolicitos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

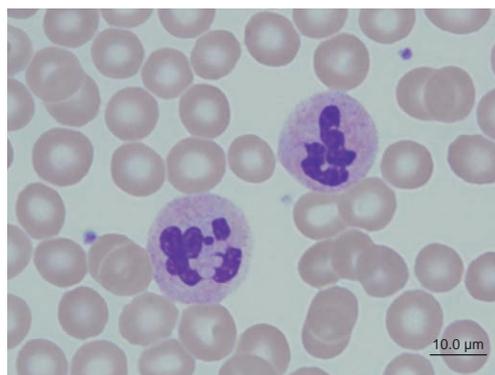


Figura 26. Macropolicitos en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de anemia perniciosa. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

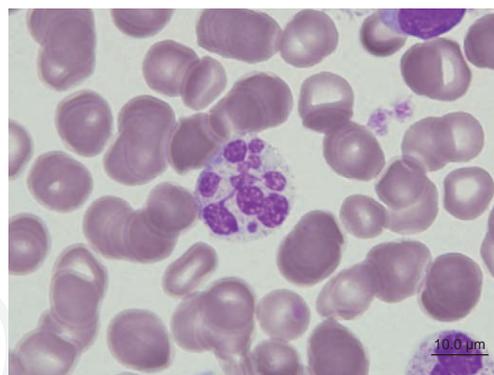


Figura 27. Macropolicito en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de un síndrome mielodisplásico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Anomalía de Pelger-Huët

La anomalía de Pelger-Huët es una alteración benigna de los leucocitos que se hereda en forma dominante no ligada al sexo, caracterizada por una morfología particular en los núcleos de los leucocitos, mejor observada en los polimorfonucleares neutrófilos, en los cuales la segmentación nuclear está claramente reducida, situación que también puede comprometer los polimorfonucleares, los linfocitos y los monocitos [130]. La incidencia de esta anomalía, de acuerdo con varios estudios, oscila entre uno por cada 1.000 a uno por cada 10.000 personas [131]. La anomalía de Pelger-Huët originalmente se observó en personas procedentes de Holanda, Alemania y Suiza, pero también se ha observado en personas de origen asiático o africano [131]; en nuestro medio no hay informes disponibles y los casos observados se presentan como una curiosidad médica aislada. La importancia de identificar oportuna y adecuadamente la anomalía de Pelger-Huët radica en que ésta se puede confundir con una desviación izquierda [132, 133], como la que usualmente se observa en los procesos infecciosos de origen bacteriano [134]. El estudio de médula ósea, que no es necesario para establecer el diagnóstico, muestra que los precursores mieloides son normales hasta el mielocito [131]. Además, las células con la anomalía de Pelger-Huët son funcionalmente adecuadas [135, 136] y en consecuencia pueden fagocitar y matar los microorganismos [137] y la sobrevivencia de estas células es similar a las células de la misma estirpe libres de la anomalía, tanto en humanos [138] como en perros [139], en los cuales también se ha descrito la anomalía. En las **figuras 28 y 29** se presentan algunos polimorfonucleares neutrófilos con anomalía de Pelger-Huët, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Seudoanomalía de Pelger-Huët

La seudoanomalía de Pelger-Huët, también conocida como anomalía adquirida de Pelger-Huët, como su nombre lo anticipa, es una forma no hereditaria de la anomalía de Pelger-Huët [131, 140]. La seudoanomalía de Pelger-Huët se ha observado en varias situaciones clínicas, entre las cuales se incluyen el mixedema [141], la enteritis aguda, la agranulocitosis, el mieloma múltiple y la malaria; también se puede observar en reacciones leucemoides secundarias a metástasis a médula ósea [131], en pacientes con hipersensibilidad a medicamentos [140, 142, 143], en pacientes con leucemia mielóide, aguda o crónica [144], en pacientes con metaplasia mielóide agnógena [145], en pacientes con síndrome mielodisplásico [146] y en pacientes con leucemia linfóide crónica [147], entre otras. En las **figuras 30 y 31** se presentan algunos polimor-

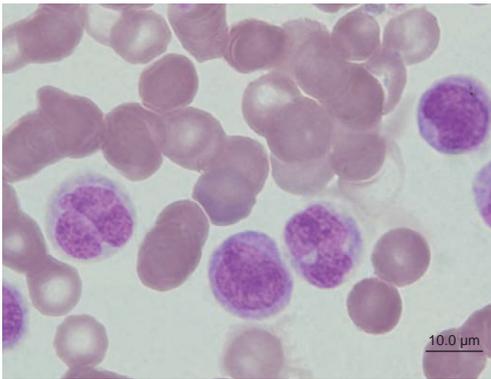


Figura 28. Anomalia de Pelger-Huët. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.



Figura 29. Anomalia de Pelger-Huët. Mayor detalle de un polimorfonuclear neutrófilo afectado por la anomalia. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

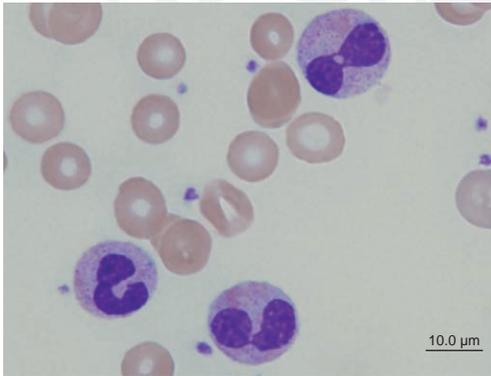


Figura 30. Seudoanomalia de Pelger-Huët en un paciente con diagnóstico de leucemia mieloide crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

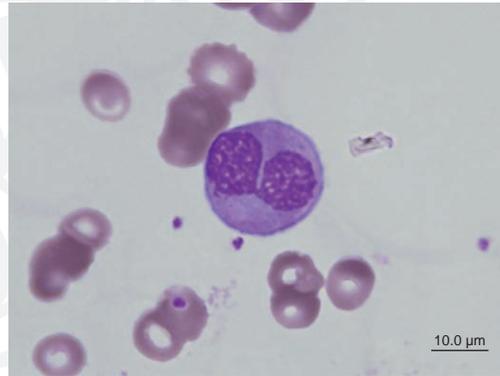


Figura 31. Seudoanomalia de Pelger-Huët en un paciente con diagnóstico de un proceso infeccioso agudo. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

fonucleares neutrófilos con seudoanomalia de Pelger-Huët, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Neutrófilos necrobióticos

Los neutrófilos necrobióticos se pueden observar en los extendidos de sangre periférica debido a que corresponden a fenómenos de apoptosis, como parte integral de la muerte programada de la célula. Cuando estas células se encuentran aumentadas, la mayoría de las veces se explican por procesos infecciosos [148], pero también se pueden ver en pacientes con leucemia mieloide aguda [149], en los síndromes dismielopoyéticos [86] y en pacien-



Figura 32. Cambios necrobióticos en el núcleo de un polimorfonuclear neutrófilo. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

tes con anemia perniciosa (deficiencia de vitamina B₁₂) [150]. Una causa frecuente, pero poco referenciada, de necrobiosis de los polimorfonucleares neutrófilos es la relacionada con el tiempo que permanecen las muestras en los laboratorios clínicos antes de ser procesadas, situación que se puede detectar a partir de las dos primeras horas en que la muestra permanece a temperatura ambiente en el laboratorio clínico [93], como frecuentemente sucede, sobre todo en los laboratorios clínicos con sobrecarga de trabajo o poco personal. En la **figura 32** se presenta un polimorfonuclear neutrófilo con cambios necrobióticos.

Alteraciones relacionadas con el citoplasma de los polimorfonucleares

La mayoría de estas alteraciones están relacionadas con modificaciones en el número y aspecto de los gránulos específicos de las células, la presencia de gránulos anormales, inclusiones intracitoplasmáticas y la presencia de vacuolas.

Reducción de los gránulos específicos

La reducción de los gránulos específicos de los neutrófilos se presenta por múltiples causas, entre las cuales se incluyen algunas de tipo congénito como la ausencia de los gránulos específicos en la deficiencia de lactoferrina, situación que se acompaña de infecciones bacterianas a repetición [151] y en enfermedades adquiridas, como en los síndromes mielodisplásicos, en donde se acompaña de alteraciones en la segmentación nuclear [86] y en los pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana [72], en donde, como en el caso de la deficiencia de lactoferrina, puede aumentar la posibilidad de enfermedades bacterianas y después de la administración de G-CSF [152]. En las **figuras 33** y **34** se presentan algunos polimorfonucleares hipogranulares, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

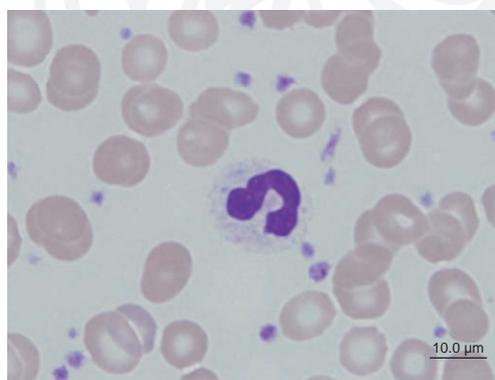


Figura 33. Polimorfonuclear neutrófilo agranular en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de un síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanализador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

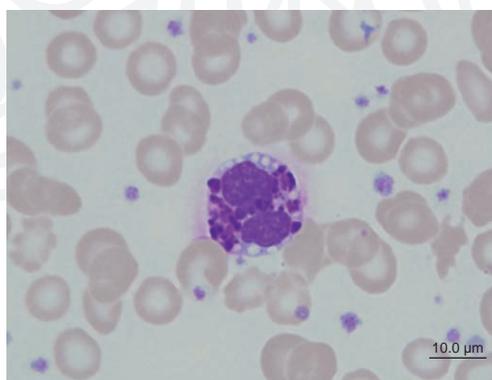


Figura 34. Polimorfonuclear basófilo hipogranular en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de un síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanализador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Aumento de los gránulos específicos

La más frecuente de estas alteraciones es la conocida como “granulaciones tóxicas”, en donde los gránulos del neutrófilo se observan de mayor tamaño y más basofílicos (oscuros) debido a la presencia de abundantes mucosustancias ácidas presentes en el citoplasma de la célula [153]. Si bien las granulaciones tóxicas se asocian con procesos infecciosos [134, 154], éstas también se pueden observar en mujeres embarazadas [155], en pacientes con malaria en donde se correlaciona con el pronóstico [156] y en pacientes que reciben terapia con citoquinas (G-CSF y GM-CSF) [157]. En las **figuras 35** y **36** se presentan algunos polimorfonucleares neutrófilos hipergranulares, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

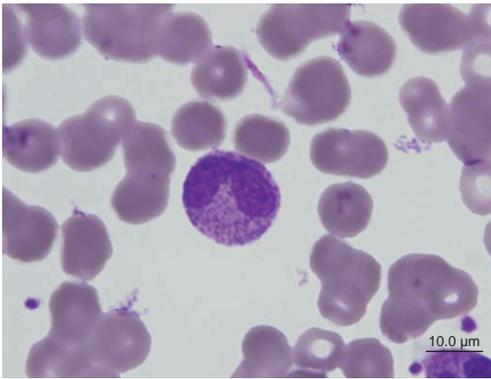


Figura 35. Granulaciones tóxicas en un polimorfonuclear neutrófilo de un paciente con diagnóstico de infección bacteriana aguda. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

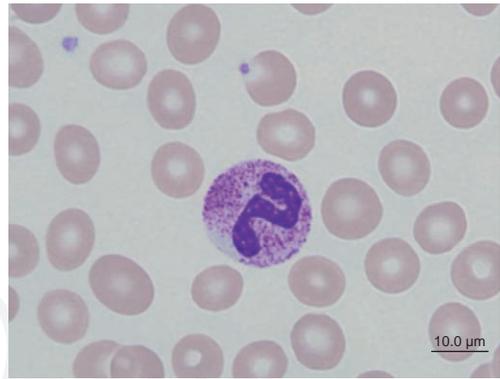


Figura 36. Granulaciones tóxicas en un polimorfonuclear neutrófilo de un paciente con diagnóstico de infección bacteriana aguda. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Presencia de gránulos anormales

En el citoplasma de los polimorfonucleares, más visibles en los neutrófilos, se pueden observar gránulos, inclusiones o vacuolas que pueden ser la primera manifestación de una enfermedad. A continuación se analizarán las de mayor impacto clínico.

Anomalía de May-Hegglin

La anomalía de May-Hegglin es un desorden raro, de tipo hereditario dominante, caracterizado por la presencia de inclusiones basófilicas y pironinifílicas en el citoplasma, bien definidas, de un tamaño de 2 a 5 μm que se presentan en los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y en los monocitos que se acompañan de otras alteraciones como la presencia de trombocitopenia y plaquetas gigantes poco granuladas [158]. Las inclusiones en los neutrófilos en la anomalía de May-Hegglin son similares en apariencia a los cuerpos de Döhle, pero usualmente son más grandes, más redondas y discretas, y usualmente están presentes en un alto porcentaje de las células [159]. A diferencia de los cuerpos de Döhle, que son reactivos, las inclusiones de May-Hegglin son constitucionales [160] y están compuestas por formas mutantes de miosina no muscular [161]. La identificación de esta alteración debe llamar la atención a quien analiza el extendido de sangre periférica y a quien se le informa, para sospechar, entre otras, una macrotrombocitopenia hereditaria [162].

Cuerpos de Döhle

Los cuerpos de Döhle son inclusiones pequeñas de azul o gris pálido que aparecen en el citoplasma de los neutrófilos, únicas o múltiples usualmente localizadas en la periferia de las células, miden entre 1 y 2 μm de diámetro, pero pueden llegar a tener hasta 5 μm de diámetro [93, 160] que corresponden a restos de ácido ribonucleico nuclear que se produce por maduración defectuosa secundaria al aumento de las demandas, como sucede en los procesos infecciosos. Desde el punto de vista técnico, los cuerpos de Döhle se observan mejor en extendidos de sangre periférica sin anticoagulante [93]. La presencia de cuerpos de Döhle en individuos normales es muy rara: 0,1% [163]. Los cuerpos de Döhle se observan en mujeres embarazadas [164], en pacientes con infecciones e inflamaciones y tras la aplicación de citoquinas, en particular G-CSF y GM-CSF [93]; también se han descrito en pacientes con anemia perniciosa, síndrome mielodisplásico, policitemia rubra vera, anemia hemolítica autoinmune, en pacientes quemados [165], con granulomatosis de Wegener y en pacientes que reciben medicamentos antineoplásicos.

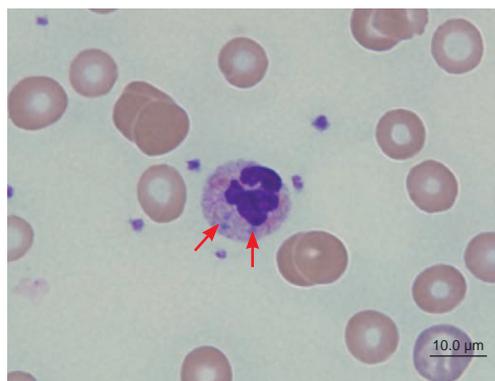


Figura 37. Cuerpos de Döhle en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de una infección bacteriana. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

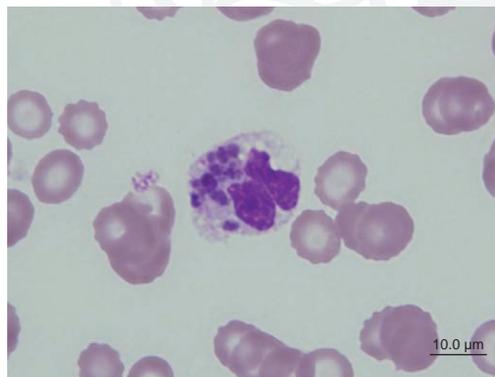


Figura 38. Polimorfonuclear neutrófilo con inclusiones típicas del síndrome de Chédiak-Higashi. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

citoplasma de los granulocitos, monocitos y linfocitos. Se diferencian de las granulaciones tóxicas porque se presentan en otras células diferentes a los polimorfonucleares neutrófilos y por la ausencia de vacuolas tóxicas. La anomalía de Alder-Reilly se asocia con las mucopolisacaridosis. Desde el punto de vista clínico, la anomalía de Alder-Reilly no interfiere con las funciones propias de las células en donde se presentan [93]. La anomalía de Alder-Reilly se presenta asociada con el síndrome de Hunter [173] y la ploidistofia de Maroteaux-Lamy [174]. También se presenta asociada, como una forma adquirida, con algunas variantes de leucemia aguda [175] y con el síndrome mielodisplásico [176]. En la **figura 39** se presentan algunos leucocitos con anomalía de Alder-Reilly, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de esta anomalía.

Cuerpos de Auer

Los cuerpos de Auer, son gránulos intracitoplasmáticos, de forma alargada, que se encuentran en mieloblastos, promielocitos y monoblastos en pacientes con leucemia mielobástica aguda [177, 178], leucemia promielocítica aguda [179], leucemia mielomonocítica aguda y en la crisis blástica de la leucemia mieloide crónica [180]. También se pueden observar en pacientes con síndrome mielodisplásico, anemia refractaria con exceso de blastos [93], algunos casos de leu-

cos, como la ciclofosfamida [163]. En la **figura 37** se muestra un polimorfonuclear neutrófilo con cuerpos de Döhle.

Síndrome de Chédiak-Higashi

El síndrome de Chédiak-Higashi, rara enfermedad de carácter autosómico recesivo, se caracteriza por un defecto en la formación de lisosomas, que se presenta con albinismo óculo-cutáneo parcial, anomalías neurológicas, infecciones bacterianas a repetición, episodios febriles intermitentes y la presencia de gránulos prominentes en los leucocitos y en todas las células que contienen gránulos [166-168], que de acuerdo con estudios ultraestructurales, con la ayuda de microscopía electrónica, corresponden a la fusión anormal de lisosomas que constituyen lisosomas gigantes [169, 170]. Esta anomalía en los polimorfonucleares neutrófilos llevan a trastornos quimiotáxicos, con retardo en la destrucción de bacterias fagocitadas [171]. La importancia de identificar la enfermedad radica en la posibilidad de ser tratada con un trasplante de médula ósea que la podría curar [168, 172]. En la **figura 38**, se muestra un neutrófilo de un paciente con síndrome de Chédiak-Higashi, en el cual se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Anomalía de Alder-Reilly

La anomalía de Alder-Reilly es una alteración hereditaria en forma autosómica recesiva, caracterizada por la presencia de gránulos azurófilos agrupados en forma de racimo en el

cemia linfoblástica aguda [181] y en mieloma múltiple [182]. Los cuerpos de Auer también se han informado en células maduras, incluidos los polimorfonucleares, como una expresión de un clon neoplásico [183-185]. En la **figura 40** se muestra un mieloblasto con cuerpo de Auer.

Vacuolización de los polimorfonucleares

Las vacuolas de los neutrófilos se pueden presentar como resultado de la fusión de los gránulos específicos con vacuolas fagocíticas [93] y usualmente se observan en pacientes con infecciones; también se han observado en pacientes con intoxicación con etanol [186] y en los pacientes con la enfermedad de Jordan, en donde hay vacuolas de grasa [187, 188]. También se acumula en estas células material relacionado con triglicéridos y cadenas largas de lípidos en el síndrome de Dorfman-Chanarin [189, 190] y en pacientes con mielocatesis [129]. En la **figura 41** se muestra un polimorfonuclear neutrófilo vacuolado. Otra forma de vacuolización de los leucocitos es la vacuolización familiar de los leucocitos, anomalía que será analizada a continuación

Vacuolización familiar de los leucocitos

La vacuolización familiar de los leucocitos o enfermedad de Jordan es una anomalía extremadamente rara, no informada en el medio, caracterizada por la presencia de 3 a 10 vacuolas, de 2 a 5 μm , en el citoplasma de los granulocitos, los monocitos y ocasionalmente de los linfocitos y los plasmocitos [191, 192]. Los estudios de histoquímica y fluorescencia han demostrado que las vacuolas contienen lípidos [193]. Las vacuolas de esta anomalía se deben distinguir de las que se presentan en pacientes con infecciones graves, hepatitis tóxica y cetoacidosis diabética. Se ha observado que los pacientes con la anomalía de Jordan pueden desarrollar distrofia muscular progresiva [187] e ictiosis [187, 191].

Inclusiones citoplasmáticas exógenas

En el citoplasma de los polimorfonucleares neutrófilos es posible observar, aunque con baja frecuencia, material fagocitado que

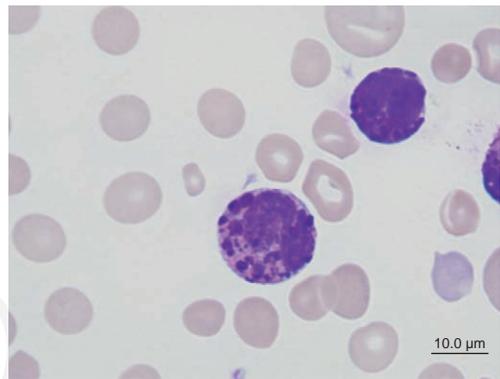


Figura 39. Anomalía de Alder-Reilly en un paciente con diagnóstico de síndrome mielodisplásico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

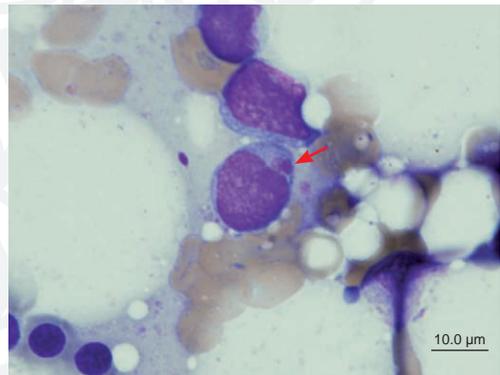


Figura 40. Cuerpo de Auer en mieloblasto en la médula ósea de un paciente con diagnóstico de una leucemia mieloide aguda. Coloración de Wright utilizando un coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

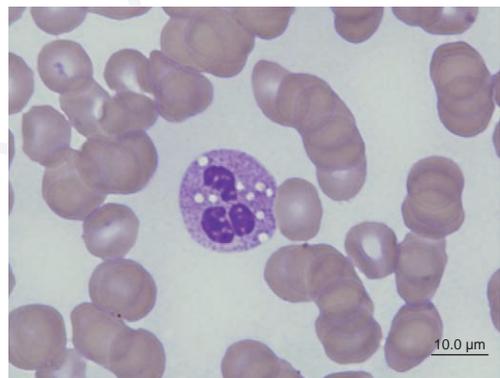


Figura 41. Vacuolas en polimorfonuclear neutrófilo en sangre periférica de un paciente con malaria por *Plasmodium vivax*. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

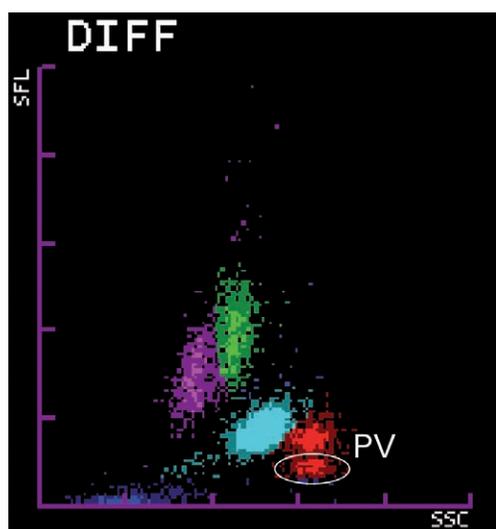


Figura 42. Citograma que muestra una segunda población en la zona correspondiente a los eosinófilos (seudoeosinofilia), marcada con un óvalo, que corresponde a *Plasmodium vivax*. Sysmex® XE-2100.

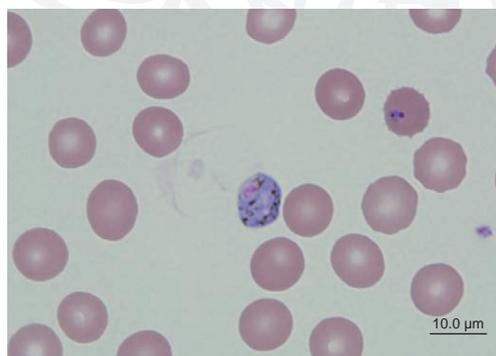


Figura 43. Gametocito y trofozoito de *Plasmodium vivax* observado en la sangre periférica correspondiente al citograma anterior, en la figura 43. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

contiene microorganismos, células, sustancias como crioproteínas [194], cristales de cistina en pacientes con cistinosis, especialmente cuando las células son estudiadas con contraste de fase, grandes inclusiones citoplasmáticas en la intoxicación por colchicina [195] y hemosiderina en pacientes con talasemia mayor con sobrecarga de hierro y en septicemia, especialmente cuando se utilizan autoanalizadores de hematología que los identifican falsamente como eosinófilos [196]. En pacientes con melanoma se ha observado que los polimorfonucleares neutrófilos fagocitan melanina [93] y cuando hay hiperbilirrubinemia importante pueden observarse cristales de bilirrubina, fenómeno que se produce *in vitro* tras dejar en reposo la sangre por más de 30 minutos [197]. También en el citoplasma de los polimorfonucleares se pueden observar bacterias, hongos como *Histoplasma capsulatum* [198] y parásitos como los causantes de la malaria [199, 200] y la toxoplasmosis. En las **figuras 42 a 48** se muestran algunos ejemplos de inclusiones intracelulares de origen exógeno.

Eritrofagocitosis

La eritrofagocitosis, un fenómeno en donde los neutrófilos ingieren eritrocitos, se presenta en enfermedades autoinmunes como la anemia hemolítica autoinmune, la hemoglobinuria paroxística por frío, en las exacerbaciones de la enfermedad por hemaglutininas frías [201], en la anemia hemolítica Coombs positiva y en las hemólisis inducidas por mordeduras de serpiente [93], entre otras situaciones médicas. También se puede observar en pacientes con hemoglobinopatías como la anemia falciforme

y las hemoglobinopatías CC y SC [202], en los pacientes que reciben factores de maduración como G-CSF y GM-CSF [203] y en algunos pacientes con leucemia mieloide crónica [204]. En la **figura 49** se presenta un polimorfonuclear neutrófilo con eritrofagocitosis.

Cuerpos de Barr en los polimorfonucleares

Normalmente, algunos neutrófilos de mujeres tienen, como se observa en la **figura 50**, un apéndice, también conocido como cuerpo de Barr o cromatina sexual, de más o menos 1,5 μm de diámetro que está unido al resto del núcleo por un pequeño filamento que representa el cromosoma X inactivo de la mujer [205, 206]. La posibilidad de observar los apéndices cromosómicos disminuye cuando hay desviación izquierda y aumenta cuando han desviación derecha [10]. Los cuerpos de Barr no se observan en los neutrófilos de los hombres normales, ni en los hombres con síndrome de feminización testicular, que fenotípicamente son mujeres pero genotípicamente son hombres (XY), ni en mujeres con síndrome de Turner, en donde sólo hay un cromosoma X (X)

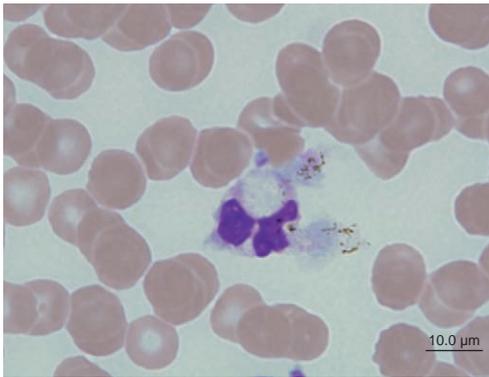


Figura 44. Polimorfonuclear neutrófilo fagocitando un gametocito de *Plasmodium vivax*. Además, se observa eritrofagocitosis. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

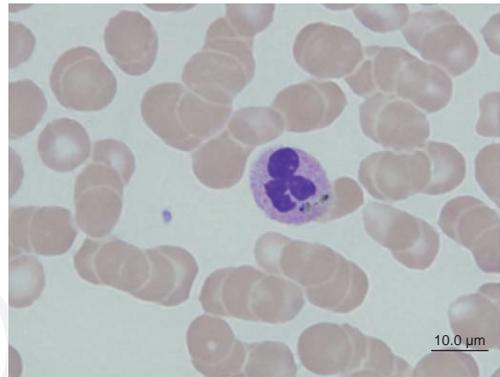


Figura 45. Polimorfonuclear neutrófilo fagocitando pigmento malarico. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

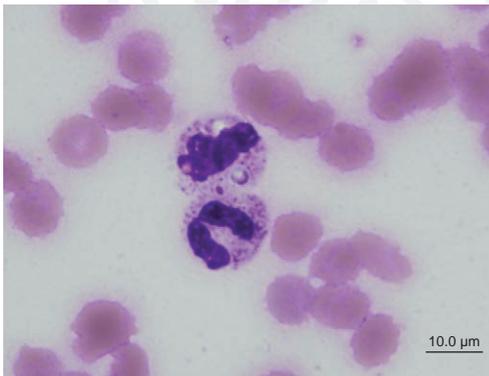


Figura 46. Polimorfonucleares neutrófilos en sangre periférica fagocitando *Histoplasma capsulatum*. Coloración de Wright en extendido de sangre periférica sobre laminillas, 1.000X.

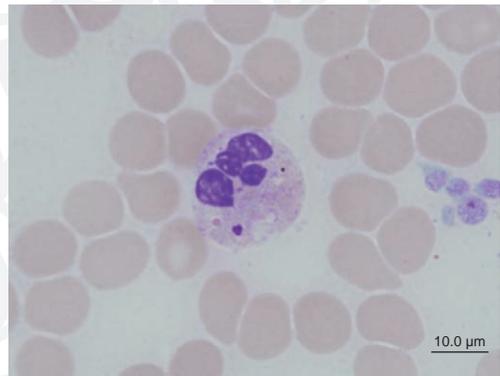


Figura 47. Polimorfonuclear neutrófilo fagocitando plaquetas y gránulos de un polimorfonuclear eosinófilo en un paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

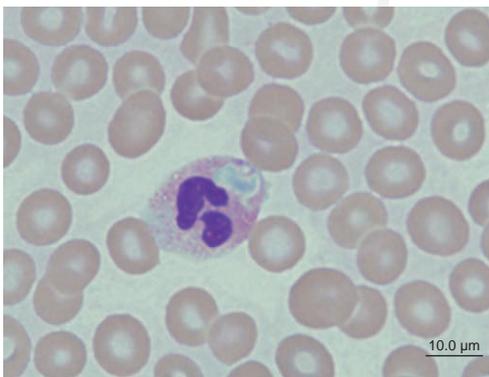


Figura 48. Polimorfonuclear neutrófilo con una plaqueta fagocitada en un paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas inen un ptescorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

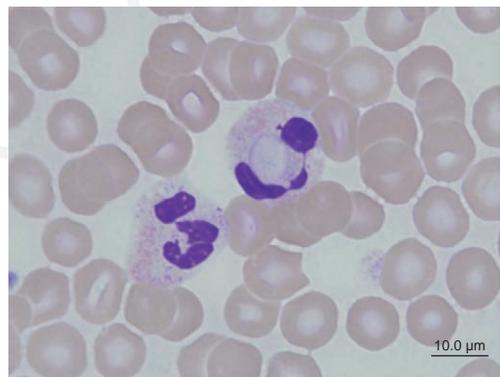


Figura 49. Eritrofagocitosis en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de anemia hemolítica autoinmune. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

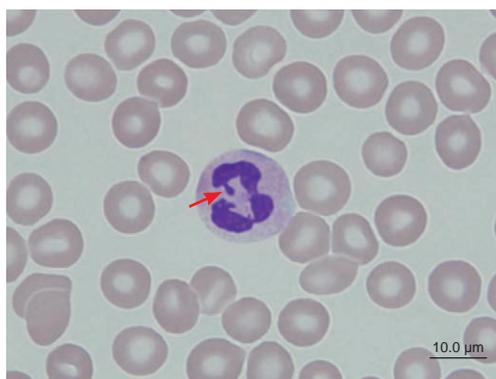


Figura 50. Cromatina de Barr en la sangre periférica de una mujer. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

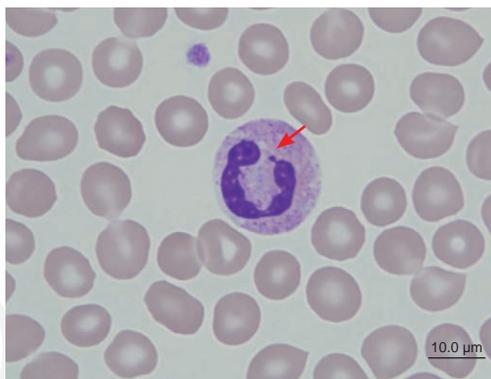


Figura 51. Cromatina de Barr en un hombre con síndrome de Klinefelter. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

[10]. Los cuerpos de Barr también se pueden observar en hombres con síndrome de Klinefelter (XXY) [207], como se evidencia en la **figura 51**, pero en proporción menor que los observados en mujeres [10]. Paradójicamente, las mujeres XXX tienen menos cuerpos de Barr que las mujeres normales XX [10]. El recuento de cuerpos de Barr está disminuido en las mujeres con síndrome de Down [58]. Proyecciones similares a los palillos en tambor en los núcleos de los polimorfonucleares neutrófilos se pueden observar en pacientes con síndromes de trisomía 13 o síndrome de Patau [208].

Otras alteraciones morfológicas de los polimorfonucleares

Además de las alteraciones descritas en los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos, también se pueden observar en la sangre periférica o en medula ósea otras alteraciones como núcleo en anillo, como se observa en las **figuras 52 y 53**, alteración que se presenta tanto en personas normales [209], como en pacientes con enfermedades malignas tales como la leucemia mieloide crónica [210], la leucemia de células peludas [211], la eritroleucemia aguda [212] y el síndrome mielodisplásico [213] y en enfermedades benignas como la enfermedad de Chagas [214] y el

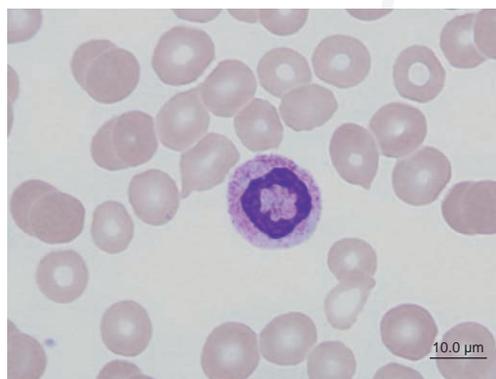


Figura 52. Polimorfonuclear neutrófilo en sangre periférica con núcleo en “anillo” en un paciente con diagnóstico de síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

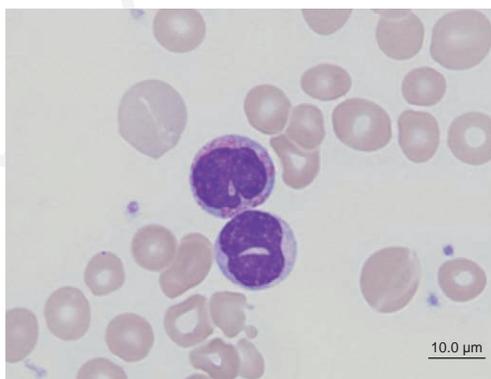


Figura 53. Polimorfonucleares neutrófilos en sangre periférica con núcleo en “anillo” en un paciente con diagnóstico de síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

alcoholismo [215], entre otras enfermedades. Se pueden observar restos de cromatina nuclear equivalente a los cuerpos de Howell-Jolly en los eritrocitos como resultado de fenómenos de disgranulopoyesis [10], como se observa en la **figura 54**; también se pueden observar asociadas con la terapia con azatioprina y otros citostáticos [10] y en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana [72, 216].

Monocitopoyesis

Los monocitos tienen un origen medular, siendo el elemento más joven el monoblasto. Esta célula origina el promonocito, reconocible en la médula ósea, que se transforma en monocito y finalmente migra a los tejidos originando los histiocitos y macrófagos. A continuación se describen cada una de las células que identifican la serie monocítica.

Monoblastos

El monoblasto es el precursor putativo del promonocito, es difícilmente identificable en la médula ósea de los individuos normales; no obstante, se conoce gracias a estudios citoquímicos y al aspecto morfológico y ultraestructural de pacientes con leucemia monoblástica aguda [217], se le considera claramente diferente a los mieloblastos. El tamaño de los monoblastos es superior al tamaño de los mieloblastos, con un diámetro que oscila entre 15 y 25 μm , redondeados con un gran núcleo de cromatina muy laxa, en donde se visualizan más de cuatro grandes nucléolos de color azul, que los diferencian de los nucléolos de los mieloblastos y los linfoblastos, entre otras células con las cuales puede llegar a confundirse, y un citoplasma intensamente basófilo (azul plomizo) en donde puede haber escasos gránulos peroxidasa positivos [218]. Los monoblastos probablemente se desarrollan de una célula multipotencial granulocito-monocito [219] como se esquematiza en la **figura 1**, antes citada. En la **figura 55** se presentan algunos monoblastos y promonocitos, en la cual se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Como se ha expresado, en los estudios de médula ósea de individuos sanos no se identifican monoblastos y éstos tampoco aparecen en la sangre periférica. Cuando en la sangre periférica se observan monoblastos se debe pensar en el diagnóstico de una leucemia monoblástica aguda [220, 221] o en una leucemia mielomonocítica aguda o crónica [222], las cuales se confirman o excluyen con el estudio medular y las coloraciones especiales. También se pueden observar monoblastos en la sangre periférica de pacientes con diagnóstico de mononucleosis infecciosa, usualmente atípicos [223, 224].

Promonocito

El promonocito es la célula intermedia entre el monoblasto y el monocito [225], que no se observa en la sangre periférica de individuos normales. Los promonocitos, pese a su escasa cantidad, son claramente identificables en

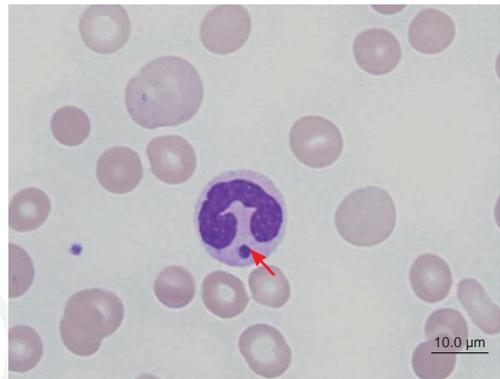


Figura 54. Polimorfonuclear neutrófilo con una inclusión citoplasmática similar a los cuerpos de Howell-Jolly en un paciente con diagnóstico de un síndrome dismielopoyético. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

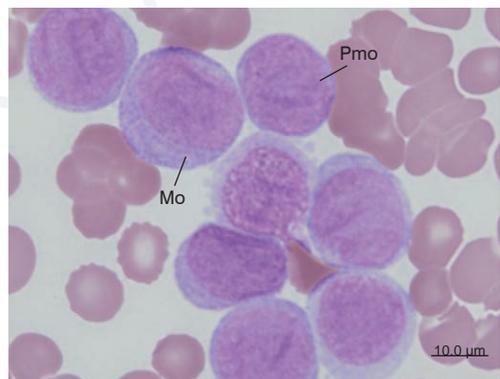


Figura 55. Leucemia monoblástica aguda. Médula ósea en donde se observan monoblastos (Mo) y promonocitos (Pmo). Coloración de Wright sobre laminillas, 1.000X.

la medula ósea. Tienen un tamaño que varía entre 15 y 20 μm , con una elevada relación nucleocitoplasmática. El núcleo ya toma la forma irregular característica de la serie, con pliegues e indentaciones, cromatina algo más condensada que su antecesor, el monoblasto, en donde son visibles uno a dos nucléolos; el citoplasma es intensamente basófilo, debido a su gran cantidad de polirribosomas, con algunos gránulos azurófilos que en ocasiones lo hacen indistinguible de un promielocito [226].

Monocitos

Los monocitos, con un diámetro de 15 a 30 μm , son las células de mayor tamaño halladas en la sangre periférica de un individuo normal. El núcleo ubicado en el centro es voluminoso, llegando a ocupar hasta la mitad de la célula, toma formas abigarradas en herradura, indentado, doblado o plegado sobre si mismo, con cromatina densa y aspecto “peinado” en finas franjas cromáticas [75]. El monocito, como toda célula madura, no tiene nucléolos. El citoplasma del monocito es amplio, en ocasiones con formas “mamelonadas” en la periferia, se colorea de azul plomizo, en donde se visualizan gránulos azurófilos en cantidad variable; además, el citoplasma de los monocitos normales puede contener algunas vacuolas [93]. En las **figuras 56 y 57** se presentan monocitos normales, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

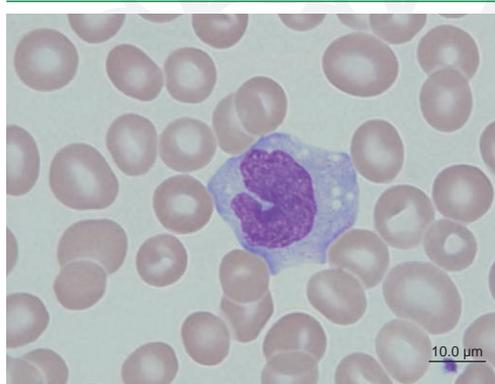


Figura 56. Monocito normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.



Figura 57. Monocito normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Alteraciones morfológicas de los monocitos

Como claramente se observa en las **figuras 58 a 63**, los monocitos expresan sus funciones fagocíticas con mayor evidencia que el resto de las otras células sanguíneas circulantes. Para lograr el adecuado estudio es indispensable que el observador conozca muy bien estas posibilidades y sobre todo que disponga de tiempo para alcanzar un buen estudio.

Linfocitopoyesis

El desarrollo de las células linfoides es diferente al de las células mieloides en muchos aspectos. Por ejemplo, los cambios morfológicos no son tan pronunciados, al menos hasta el momento en el que alcanzan la capacidad de responder a estímulos antigénicos. Las células linfoides circulantes sólo tienen en común la morfología. Desde el punto de vista morfológico en el extendido de sangre periférica, aunque en la práctica no se discriminan, normalmente se observan tres tipos de linfocitos: los linfocitos pequeños, los linfocitos medianos y los linfocitos grandes. Como en los casos anteriores, para un adecuado estudio de la morfología de los linfocitos en sangre periférica es indispensable conocer todas las células de la serie, tanto las normales como las anormales,

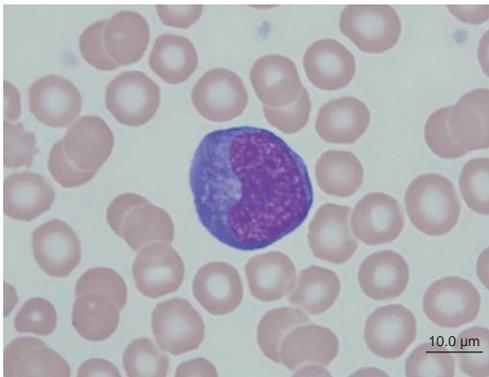


Figura 58. Monocito reactivo en un paciente con un síndrome mononucleósido por *Toxoplasma gondii*. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®.

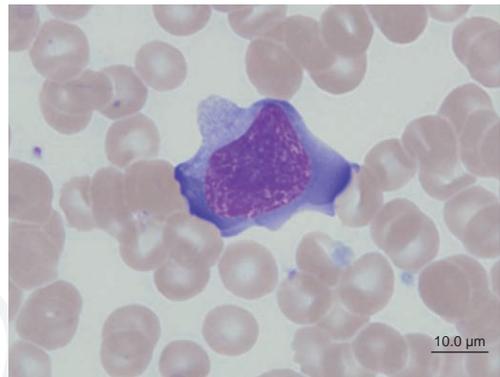


Figura 59. Monocito reactivo en un paciente con un síndrome mononucleósido por mononucleosis infecciosa. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

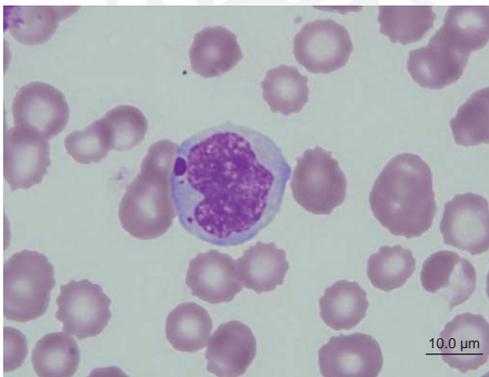


Figura 60. Monocito en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome de Chédiak-Higashi. Coloración de Wright en extendido de sangre periférica sobre laminillas, 1.000X.

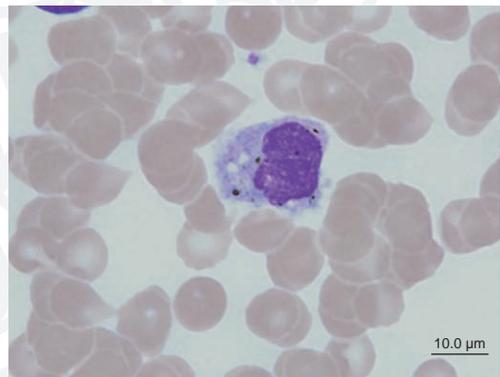


Figura 61. Monocito en sangre periférica fagocitando pigmento malarico en un paciente con malaria por *Plasmodium vivax*. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

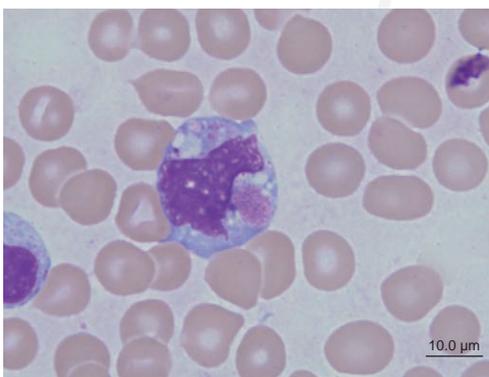


Figura 62. Monocito en sangre periférica fagocitando plaquetas en un paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

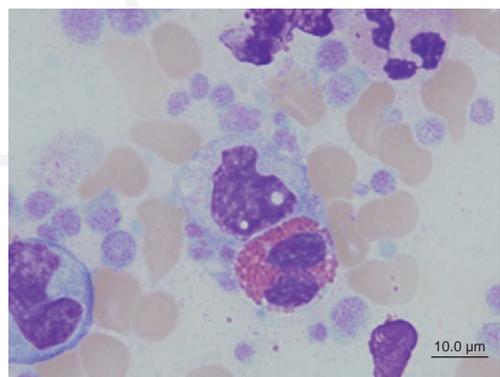


Figura 63. Monocito en sangre periférica fagocitando plaquetas y un polimorfonuclear eosinófilo en un paciente con diagnóstico de púrpura trombocitopénica idiopática. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

incluidas las de origen medular, como se analizará a continuación. Los linfocitos que se observan en la sangre periférica corresponden principalmente a tres tipos de células: (1) los linfocitos B, se derivan de una célula madre de la médula ósea y maduran allí hasta convertirse en células plasmáticas que secretan anticuerpos, representan entre el 20% y 45% de los linfocitos circulantes; (2) los linfocitos T, se forman cuando las células madre linfoides migran de la médula ósea hacia el timo, de ahí su nombre T, en donde se dividen y maduran; aprenden a diferenciar lo propio y lo extraño, y cuando están maduros abandonan el timo y van al sistema linfático, especialmente a los ganglios, en donde funcionan como parte del sistema inmune, representan el 50% y el 70% de los linfocitos circulantes; y, (3) los linfocitos NK (*natural killer*) o células asesinas naturales, morfológicamente más grandes que los linfocitos T y B, producen citoquinas que regulan algunas funciones de los linfocitos T, los linfocitos B y los macrófagos, representan entre el 5% y el 10% de los linfocitos circulantes.

Desde el punto de vista morfológico es posible identificar linfoblastos, prolinfocitos y linfocitos pequeños, medianos y grandes, con las características que a continuación se analizarán.

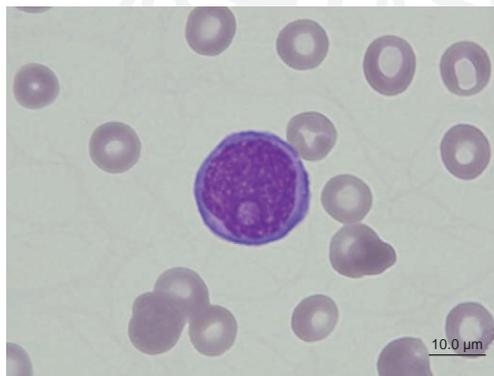


Figura 64. Linfoblasto en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia linfóide aguda. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

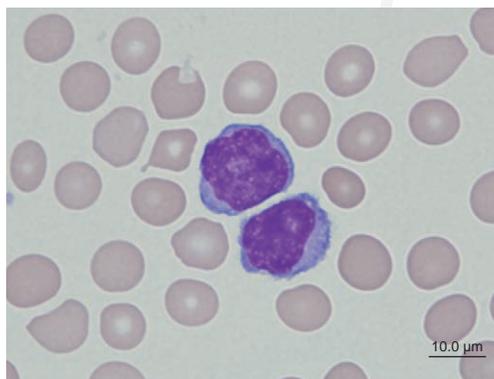


Figura 65. Prolinfocitos en sangre periférica de paciente con diagnóstico de leucemia linfóide crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

Linfoblasto

El linfoblasto es la primera célula identificable en la linfocitopoyesis. Tiene un diámetro que oscila entre 10 y 15 µm. Su citoplasma es agranular y con tendencia a mostrar un color azul oscuro con formación de un halo perinuclear más claro que el resto del citoplasma. El núcleo es redondo u ovalado, usualmente está situado en la parte central de la célula, con cromatina laxa y presencia de nucléolos en cantidad de uno a dos. La relación nucleocitoplasmática es de alrededor de 4:1. En la **figura 64** se presenta un linfoblasto, en el cual se pueden evidenciar las características más importantes de esta célula.

Los linfoblastos se pueden observar en sangre periférica de pacientes con leucemia linfóide aguda, algunas formas de leucemia linfóide crónica, algunas formas de linfoma no Hodgkin y en el linfoma de Burkitt, entre otros.

Prolinfocito

Es la célula intermedia en la linfocitopoyesis; tiene un tamaño muy similar al linfoblasto y en ocasiones es difícil diferenciarlo de él. El citoplasma es agranular y muy similar al linfoblasto, pero tiende a ocupar una mayor proporción de la célula. El núcleo redondo, oval o indentado, muestra la cromatina más compactada y los nucléolos, cuando aún son visibles, no pasan de uno y son menos notorios que los de los linfoblastos. En la **figura 65** se presentan algunos prolinfocitos, en los cuales se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Como en el caso anterior, los prolinfocitos se pueden observar en sangre periférica de pacientes con algunas formas de leucemia linfocítica crónica y en algunas formas de linfoma no Hodgkin, entre otros.

Linfocito

Morfológicamente, con las coloraciones de Romanovsky, como la coloración de Wright, en la sangre periférica se pueden visualizar tres tipos de linfocitos: linfocitos pequeños, linfocitos medianos y linfocitos grandes, con características particulares que serán analizadas a continuación.

Linfocito pequeño

El linfocito pequeño tiene un diámetro que varía entre 8 y 10 μm , un poco más grande que un eritrocito. El citoplasma característicamente forma un anillo alrededor del núcleo que se observa en el centro o ligeramente excéntrico. El citoplasma es de un color azul celeste a azul oscuro y ocasionalmente tiene algunos gránulos azurófilos. La relación nucleocitoplasmática varía de 5:1 a 3:1. El núcleo, usualmente redondo u oval, tiene el tamaño equivalente al tamaño de un eritrocito y la cromatina se observa compacta y densa, y característicamente no se observan nucléolos. En la **figura 66** presenta un linfocito pequeño, en el cual se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Linfocito mediano

Estos linfocitos miden entre 10 y 12 μm y pueden llegar hasta 14 μm . Además del tamaño, se diferencian de los linfocitos pequeños porque tienen más citoplasma y éste es más basófilo y con mayor número de gránulos azurófilos. El núcleo puede ser redondo, ovalado o indentado, usualmente excéntrico, y la cromatina aparece menos densa que en los linfocitos pequeños. Como en el caso anterior, tampoco se observan nucléolos. En la **figura 67** se presenta un linfocito mediano, en el cual se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Linfocito grande

Los linfocitos grandes tienen un diámetro que varía entre 12 y 16 μm y en algunos casos pueden llegar a tener más de 20 μm de diámetro. El citoplasma es más abundante que en los linfocitos pequeños o medianos, de color más basófilo y con mayor número de gránulos azurófilos. El citoplasma de los linfocitos grandes puede ser irregular. El núcleo, usualmente excéntrico puede ser redondo, ovalado o indentado y la cromatina más laxa que los

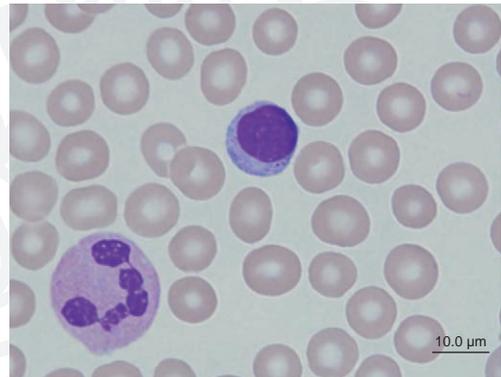


Figura 66. Linfocito pequeño normal. Además, en la parte inferior del lado izquierdo se observa un neutrófilo normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

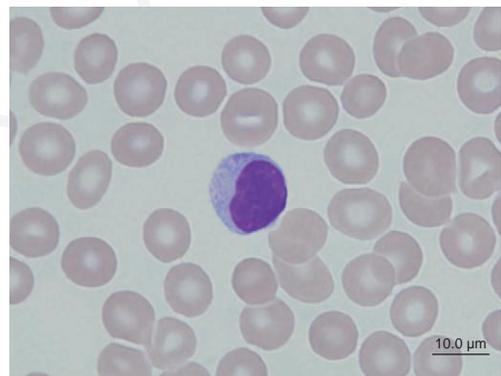


Figura 67. Linfocito mediano normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

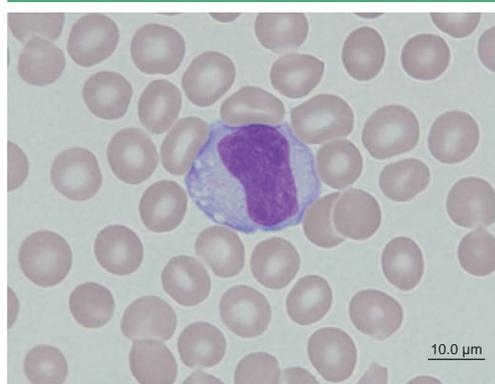


Figura 68. Linfocito grande normal. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.



Figura 69. Linfocito en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de síndrome de Chédiak-Higashi. Coloración de Wright en extendido de sangre periférica sobre laminillas, 1.000X.

Además, se puede observar vacuolización de los linfocitos, en las enfermedades metabólicas hereditarias, como mucopolipidosis tipo II, la mucopolisacaridosis, la anomalía de Jordan, la enfermedad de Niemann-Pick, la enfermedad de Wolman, la enfermedad de Pompe, la enfermedad de Tay-Sachs, la forma juvenil de la enfermedad de Batten, la galactosidemia y la enfermedad de depósito del ácido siálico, entre otras, [228].

Linfocitos reactivos

Son las manifestaciones morfológicas más frecuentes de estas células. Los linfocitos responden a las enfermedades virales y a diversos estímulos inmunológicos con aumento en el número de células y en la actividad. Los linfocitos B pueden transformarse a células plasmáticas y formas plasmocitoides, también denominadas células de Turk o linfocitos reactivos, como las que se observan en la **figura 70**. Algunas de estas células pueden mostrar gran producción de inmunoglobulinas, dando las células espumosas o células Mott o la formación de cristales de inmunoglobulinas, como se observa en las **figuras 71** y **72**. Tanto los linfocitos T como los linfocitos B se pueden transformar a inmunoblastos y formas intermedias, dando origen a las células que los morfólogos conocen como linfocitos o mononucleares atípicos [229], lo mismo que en pacientes

anteriores y una vez más sin nucléolos. En la **figura 68** se presenta un linfocito grande, en el cual se pueden evidenciar las características más importantes de estas células.

Alteraciones morfológicas de los linfocitos

Además de las alteraciones ya descritas de los linfocitos se pueden presentar otras relacionadas con condiciones hereditarias, linfocitos reactivos, alteraciones de los linfocitos en las enfermedades linforreticulares y cambios necribióticos, como se analizará, con mayor detalle, a continuación.

Condiciones hereditarias

Se pueden observar inclusiones citoplasmáticas en los linfocitos en el síndrome de Chédiak-Higashi, previamente descrito [168], como se observa en la **figura 69**; y en el síndrome de Alder-Reilly, una alteración hereditaria en el metabolismo de los polisacáridos, asociada con gargolismo y alteraciones en el crecimiento esquelético [176]. También se observan inclusiones en pacientes con la enfermedad de Tay-Sachs, una rara enfermedad hereditaria autosómica recesiva, más frecuente en judíos, caracterizada por falta de una enzima lisosómica denominada hexosaminidasa, con acumulación de gangliósidos a nivel del cerebro que termina degenerándose [227].

con toxoplasmosis activa, infección por citomegalovirus y mononucleosis infecciosa [230]. Además, algunas “agresiones” graves a los linfocitos, como la radiación, pueden expresarse con linfocitos binucleados.

Cambios en los linfocitos en las enfermedades linforreticulares

Dependiendo de la enfermedad de base, los linfocitos, y usualmente los monocitos, muestran alteraciones características. En estas enfermedades es frecuente observar agregados de linfocitos, lo cual representa un fenómeno *in vitro* [231] o en algunos raros casos puede ser la primera manifestación de un linfoma no-Hodgkin a distancia [232], especialmente de linfocitos “vellosos” con compromiso esplénico [231] o linfoma de células en manto [233]. Los linfocitos de la leucemia linfoide crónica son más frágiles que los linfocitos de otros tipos y cuando se hacen los extendidos de sangre periférica es usual encontrar muchos de ellos estallados, fenómeno que da origen a las “células en canasta”, como se observa en las **figuras 73 y 74**, características de esta leucemia [234, 235]. Ocasionalmente, en los casos de discrasias de células plasmáticas (mieloma múltiple) es posible observar plasmocitos circulantes [234, 235]. Otras enfermedades linforreticulares con manifestaciones en la morfología de los linfocitos son las que presentan las células de Sézary, en particular el síndrome de Sézary y la micosis fungoide [236, 237], como se observa en la **figura 75**. Por último en la leucemia de células peludas es posible evidenciar células como las que se muestran en la **figura 76**, en las cuales el citoplasma característicamente está desflechado o es “peludo” [238].

Cambios necrobióticos en los linfocitos

Así como se presentan cambios necrobióticos (apoptóticos) en los polimorfonucleares, en los linfocitos también se puede presentar este tipo de morfología, sobre todo en los pacientes con linfocitosis reactivas, particularmente las relacionadas con la mononucleosis infecciosa y otras infecciones virales, con morfología muy similar a la que se observa en los polimorfonucleares neutrófilos.

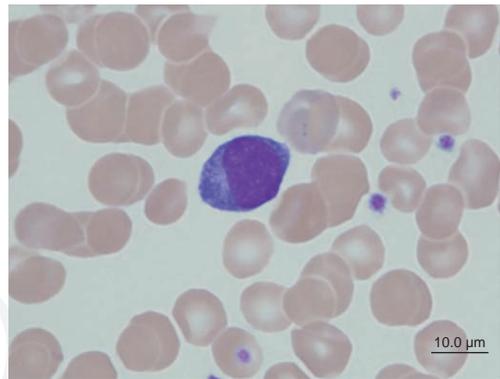


Figura 70. Linfocito reactivo o célula Turk en un paciente con una infección viral inespecífica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

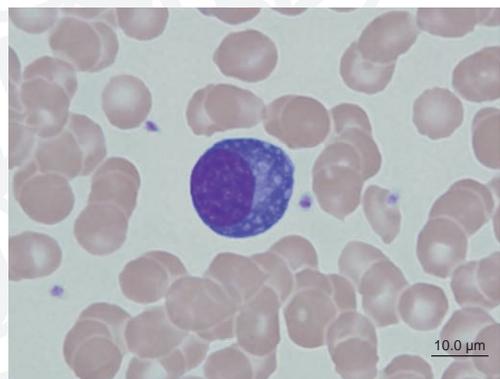


Figura 71. Linfocito plasmocitoide (célula Mott) en la sangre periférica de un paciente con malaria por *Plasmodium vivax*. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

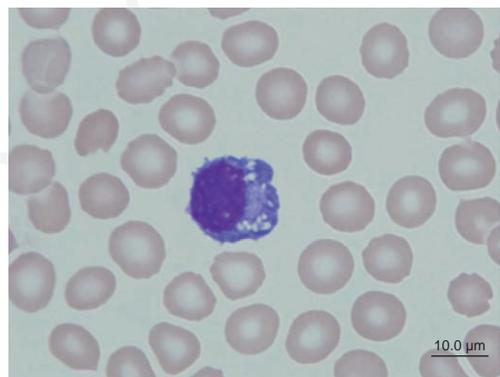


Figura 72. Célula plasmocitoide con formación de cristales intracitoplasmáticos en la sangre periférica de un paciente con malaria por *Plasmodium vivax*. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

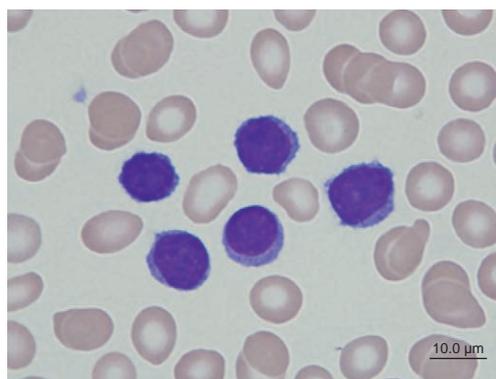


Figura 73. Linfocitos pequeños en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia linfocítica crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

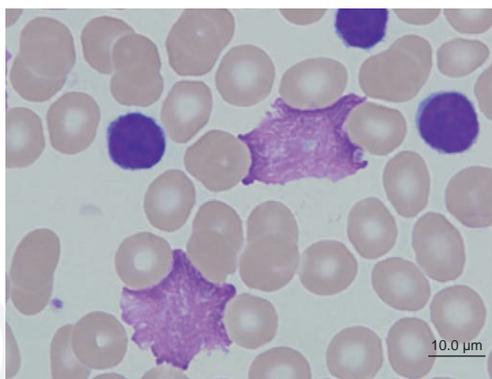


Figura 74. Linfocitos pequeños estallados “células en canasta” en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de leucemia linfocítica crónica. Coloración de Wright utilizando un extensor y coloreador de placas incorporado al autoanalizador de hematología XE-Alpha-N de Sysmex®, 1.000X.

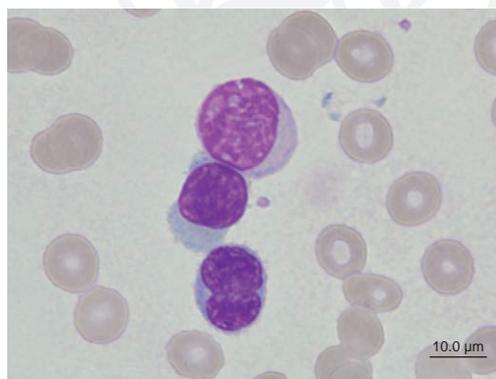


Figura 75. Células de Sézary en sangre periférica de un paciente con diagnóstico de micosis fungoide. Coloración de Wright en extendido de sangre periférica sobre laminitas, 1.000X.

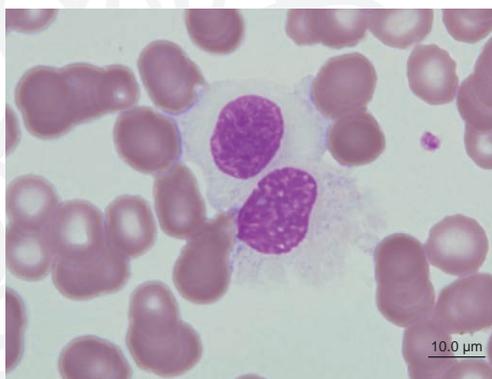


Figura 76. Linfocitos “peludos” en la sangre periférica de un paciente con diagnóstico de tricoleucemia. Coloración de Wright en extendido de sangre periférica sobre laminitas, 1.000X.

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 las microfotografías que documentan este módulo, y a Víctor 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) white cell count, that defines the presence of leukocytosis or leukopenia; 2) white cell differential count, that defines neutrophilia, neutropenia, agranulocytosis, eosinophilia, eosinopenia, basophilia, basopenia, lymphocytosis, lymphocytopenia, monocytosis and monocytopenia; and 3) the most representative morphologic findings in leukocytes, such as leukocyte aggregation, left or right shift, Pelger-Huet anomaly, May-Hegglin anomaly, Döhle bodies, Chédiak-Higashi syndrome, Alder-Reilly anomaly, Auer bodies, Barr bodies, among others. Morphologic findings in circulating leukocytes are defined and associated with the most relevant clinical aspects. This module 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 with the clinical entities.

Key words: Blood smear, leukocyte morphology, clinic.

Campuzano-Maya G. Clinical utility of the blood smear: Leukocytes. *Medicina & Laboratorio* 2008; 14: 411-455.

Module 1 (Clinic and laboratory), number 70. 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.
- 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.** Diagnosis from the blood smear. *N Engl J Med* 2005; 353: 498-507.
- 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: 80-113.
- 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.
- Saxena S, Wong ET.** Heterogeneity of common hematologic parameters among racial, ethnic, and gender subgroups. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114: 715-719.
- Bain BJ.** Normal ranges. *In:* Bain BJ, ed. *Blood cells. A practical guide.* 4th ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Publishing. 2006: 198-216.
- Bhattacharya CG.** A simple method of resolution of a distribution into gaussian components. *Biometrics* 1967; 23: 115-135.
- Bentley SA, Johnson A, Bishop CA.** A parallel evaluation of four automated hematology analyzers. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 626-632.
- Koenn ME, Kirby BA, Cook LL, Hare JL, Hall SH, Barry PM, et al.** Comparison of four automated hematology analyzers. *Clin Lab Sci* 2001; 14: 238-242.
- Bain BJ.** Quantitative changes in blood cells. *In:* Bain BJ, ed. *Blood cells. A practical guide.* 4th ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Publishing. 2006: 217-262.

18. **Gulati G, Piao Y, Song A.** Interference by cryoproteins in the blood with automated CBCs. *Lab Med* 1995; 26: 138-142.
19. **Lombarts AJ, de Kieviet W.** Recognition and prevention of pseudothrombocytopenia and concomitant pseudoleukocytosis. *Am J Clin Pathol* 1988; 89: 634-639.
20. **Gulati G, Behling E, Kocher W, Schwarting R.** An evaluation of the performance of Sysmex XE-2100 in enumerating nucleated red cells in peripheral blood. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 1077-1083.
21. **Robbins SH, Conly MA, Oettinger J.** Cold-induced granulocyte agglutination. A cause of pseudo-leukopenia. *Arch Pathol Lab Med* 1991; 115: 155-157.
22. **Zelster D, Fusman R, Chapman J, Rotstein R, Shapira I, Elkayam O, et al.** Increased leukocyte aggregation induced by gamma-globulin: a clue to the presence of pseudoleukopenia. *Am J Med Sci* 2000; 320: 177-182.
23. **Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, Schwarzingger I.** The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 391-396.
24. **Hedberg P, Lehto T.** Aging stability of complete blood count and white blood cell differential parameters analyzed by Abbott CELL-DYN Sapphire hematology analyzer. *Int J Lab Hematol* 2008; 1-10.
25. **Fajardo Lobo-Guerrero LF.** Procedimientos básicos en hematología. *In: Restrepo-Mesa A, ed. Técnicas de laboratorio en hematología clínica. Medellín, Colombia; Sociedad Colombiana de Hematología, Editorial de la Universidad de Antioquia. 1975: 3-58.*
26. **Hecher F, Lehmann H, Kao Y.** Practical microscopic hematology. Philadelphia, PA, USA: Lea and Febiger; 1994
27. **Rosvoll RV, Mengason AP, Smith L, Patel HJ, Maynard J, Connor F.** Visual and automated differential leukocyte counts. A comparison study of three instruments. *Am J Clin Pathol* 1979; 71: 695-703.
28. **Koepke JA, Dotson MA, Shifman MA.** A critical evaluation of the manual/visual differential leukocyte counting method. *Blood Cells* 1985; 11: 173-186.
29. **Pierre RV.** The routine differential leukocyte count vs automated differential counts. *Blood Cells* 1985; 11: 11-23.
30. **Zaccaria A, Celso B, Raspadori D, Motta MR, Testoni N, Rizzi S.** Comparative evaluation of differential leukocyte counts by Coulter VCS cytometer and direct microscopic observation. *Hematologica* 1990; 75: 412-419.
31. **NCCLS: H20-A:** Reference Leukocyte Differential Count (Proportional) and Evaluation of Instrumental Methods; Approved Standard. Villanova, PA, NCCLS, 1992.
32. **Bain BJ, Lewis SM, Bates I.** Basic haematological techniques. *In: Lewis SM, Bain BJ, Bates I, eds. Dacie and Lewis practical haematology. 5th ed. Philadelphia, PA, USA; Churchill Livingstone. 2006: 26-57.*
33. **Rosas-Baruch A, Salas-Montiel R, Loria A, Majluf-Cruz A.** External quality control program of four blood cell counters. *Rev Invest Clin* 1999; 51: 289-292.
34. **Dale DC.** Neutropenia and neutrophilia. *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.*
35. **Juul SE, Haynes JW, McPherson RJ.** Evaluation of neutropenia and neutrophilia in hospitalized preterm infants. *J Perinatol* 2004; 24: 150-157.
36. **O'Brien HA, Horton MA.** Granulopoiesis in the neutropenia of negroes. *Scand J Haematol* 1983; 31: 424-426.
37. **Shoenfeld Y, Pinkhas J.** Neutropenia of negroes. *Scand J Haematol* 1984; 32: 559.
38. **Karayalcin G, Rosner F, Sawitsky A.** Pseudo-neutropenia in American negroes. *Lancet* 1972; 1: 387.
39. **Broun GO, Jr., Herbig FK, Hamilton JR.** Leukopenia in Negroes. *N Engl J Med* 1966; 275: 1410-1413.
40. **Rumke CL, Bezemer PD, Kuik DJ.** Normal values and least significant differences for differential leukocyte counts. *J Chronic Dis* 1975; 28: 661-668.
41. **Reed WW, Diehl LF.** Leukopenia, neutropenia, and reduced hemoglobin levels in healthy American blacks. *Arch Intern Med* 1991; 151: 501-505.
42. **Watts RG.** Neutropenia. *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: 1777-1800.*
43. **Andersohn F, Konzen C, Garbe E.** Systematic review: agranulocytosis induced by nonchemotherapy drugs. *Ann Intern Med* 2007; 146: 657-665.
44. **Risks of agranulocytosis and aplastic anemia.** A first report of their relation to drug use with special reference to analgesics. The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. *Jama* 1986; 256: 1749-1757.

45. **Juliá A, Olona M, Bueno J, Revilla E, Rossello J, Petit J, et al.** Drug-induced agranulocytosis: prognostic factors in a series of 168 episodes. *Br J Haematol* 1991; 79: 366-371.
46. **Keisu M, Ekman E.** Sulfasalazine associated agranulocytosis in Sweden 1972-1989. Clinical features, and estimation of its incidence. *Eur J Clin Pharmacol* 1992; 43: 215-218.
47. **van der Klauw MM, Goudsmit R, Halie MR, van't Veer MB, Herings RM, Wilson JH, et al.** A population-based case-cohort study of drug-associated agranulocytosis. *Arch Intern Med* 1999; 159: 369-374.
48. **Hedenmalm K, Spigset O.** Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyrone (metamizole). *Eur J Clin Pharmacol* 2002; 58: 265-274.
49. **Ibañez L, Vidal X, Ballarin E, Laporte JR.** Population-based drug-induced agranulocytosis. *Arch Intern Med* 2005; 165: 869-874.
50. **Lima CS, Paula EV, Takahashi T, Saad ST, Lorand-Metze I, Costa FF.** Causes of incidental neutropenia in adulthood. *Ann Hematol* 2006; 85: 705-709.
51. **Segel GB, Halterman JS.** Neutropenia in pediatric practice. *Pediatr Rev* 2008; 29: 12-23; quiz 24.
52. **Lacy P, Becker AB, MOqbel R.** The human eosinophil. *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: 311-334.
53. **Campuzano-Maya G.** Eosinofilia: las 125 causas más frecuentes. *Medicina & Laboratorio* 2005; 11: 321-361.
54. **Ackerman SJ, Bochner BS.** Mechanisms of eosinophilia in the pathogenesis of hypereosinophilic disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007; 27: 357-375.
55. **Agarwal MB.** Eosinophilia--a review. *Indian J Med Sci* 1980; 34: 203-208.
56. **Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A.** Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol* 2006; 133: 468-492.
57. **Matsumoto K, Ogasawara T, Kato A, Homma T, Iida M, Akasawa A, et al.** Eosinophil degranulation during pregnancy and after delivery by cesarean section. *Int Arch Allergy Immunol* 2003; 131 Suppl 1: 34-39.
58. **Archer RK, Engisch HJ, Gaha T, Ruxton J.** The eosinophil leucocytes in the blood and bone marrow of patients with Down's anomaly. *Br J Haematol* 1971; 21: 271-276.
59. **Nakahata T, Spicer SS, Leary AG, Ogawa M, Franklin W, Goetzi EJ.** Circulating eosinophil colony-forming cells in pure eosinophil aplasia. *Ann Intern Med* 1984; 101: 321-324.
60. **Juhlin L, Michaelsson G.** A new syndrome characterised by absence of eosinophils and basophils. *Lancet* 1977; 1: 1233-1235.
61. **Welles SL, Mueller N, Tachibana N, Shishime E, Okayama A, Murai K, et al.** Decreased eosinophil numbers in HTLV-I carriers. *Lancet* 1991; 337: 987.
62. **Freeman GL.** Syndromes associated with eosinopenia. *Allergy* 1998; 53: 331-333.
63. **Tinegate HN, Chetty MN.** Basophilia as a feature of the myelodysplastic syndrome. *Clin Lab Haematol* 1986; 8: 269-271.
64. **Befus AD, Denburg JA.** Basophilic leukocytes: mast cells and basophils. *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: 335-344.
65. **Matsushima T, Handa H, Yokohama A, Nagasaki J, Koiso H, Kin Y, et al.** Prevalence and clinical characteristics of myelodysplastic syndrome with bone marrow eosinophilia or basophilia. *Blood* 2003; 101: 3386-3390.
66. **Soni R, Bose S, Gada D, Potnis V.** Basopenia as an indicator of ovulation (a short term clinical study). *Indian J Physiol Pharmacol* 1996; 40: 385-388.
67. **Rorsman H.** Basopenia in urticaria. *Acta Allergol* 1961; 16: 185-215.
68. **Grattan CE, Dawn G, Gibbs S, Francis DM.** Blood basophil numbers in chronic ordinary urticaria and healthy controls: diurnal variation, influence of loratadine and prednisolone and relationship to disease activity. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 337-341.
69. **Lourenco FD, Azor MH, Santos JC, Prearo E, Maruta CW, Rivitti EA, et al.** Activated status of basophils in chronic urticaria leads to interleukin-3 hyper-responsiveness and enhancement of histamine release induced by anti-IgE stimulus. *Br J Dermatol* 2008; 158: 979-986.
70. **Caldwell CW.** Evaluation of peripheral blood lymphocytosis. Columbia, MO: Academic Information Systems, (AIS); 2000: p.
71. **Gossage DL, Buckley RH.** Prevalence of lymphocytopenia in severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 1990; 323: 1422-1423.
72. **Campuzano-Maya G.** Aspectos hematológicos en el paciente infectado por el VIH. *In:* Velásquez de V G, Gómez A RD, eds. *Fundamentos de Medicina*. SIDA. Enfoque integral. Medellín, Colombia; Corporación para Investigaciones Biológicas. 1996: 134-148.

73. **Castelino DJ, McNair P, Kay TW.** Lymphocytopenia in a hospital population--what does it signify? *Aust N Z J Med* 1997; 27: 170-174.
74. **Maldonado JE, Hanlon DG.** Monocytosis: A Current Appraisal. *Mayo Clin Proc* 1965; 40: 248-259.
75. **Skubitz KM. Neutrophilic leukocytes.** *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: 267-310.
76. **Campuzano-Maya G.** Estudio de la medula ósea. *Laboratorio Al Día* 1995; 5: 295-311.
77. **Bain BJ, Clark DM, Lampert IA, Wilkins BS.** The normal bone marrow. *In:* Bain BJ, Clark DM, Lampert IA, Wilkins BS, eds. *Bone marrow pathology*. 3th ed ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Science. 2001: 1-50.
78. **Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al.** Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976; 33: 451-458.
79. **Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al.** Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103: 620-625.
80. **Lee SJ.** Chronic myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 2000; 111: 993-1009.
81. **Huhn D, Twardzik L.** Acute myelomonocytic leukemia and the French-American-British classification. *Acta Haematol* 1983; 69: 36-40.
82. **Kaneda K, Kojima K, Takeuchi M, Takimoto H, Takaba S, Shinagawa K, et al.** Can t(8;21) oligoblastic leukemia be called a myelodysplastic syndrome? *Eur J Haematol* 2002; 69: 165-170.
83. **Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al.** Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1982; 51: 189-199.
84. **Makoni SN, Laber DA.** Clinical spectrum of myelophthisis in cancer patients. *Am J Hematol* 2004; 76: 92-93.
85. **Xanthou M.** Leucocyte blood picture in healthy full-term and premature babies during neonatal period. *Arch Dis Child* 1970; 45: 242-249.
86. **List AF, Sandberg AA, Doll DC.** Myelodysplastic syndromes. *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: 2207-2234.
87. **Seebach JD, Morant R, Ruegg R, Seifert B, Fehr J.** The diagnostic value of the neutrophil left shift in predicting inflammatory and infectious disease. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 582-591.
88. **Wang LT, Prentiss KA, Simon JZ, Doody DP, Ryan DP.** The use of white blood cell count and left shift in the diagnosis of appendicitis in children. *Pediatr Emerg Care* 2007; 23: 69-76.
89. **Lehmann HP, Henry JB.** Appendix 5: SI units. *In:* McPherson RA, Pincus MR, eds. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 21th Ed. ed. Philadelphia, PA, USA; Saunders Elsevier. 2007: 1404-1418.
90. **Sacher RA, McPherson RA.** Widmann's clinical interpretation of laboratory tests. 11th ed. ed. Philadelphia, PA, USA; Davis; 2000
91. **Dutcher TF.** Leukocyte differentials. Are they worth the effort? *Clin Lab Med* 1984; 4: 71-87.
92. **Cornbleet PJ.** Clinical utility of the band count. *Clin Lab Med* 2002; 22: 101-136.
93. **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.
94. **Carmel R.** Megaloblastic anemias: disorders of impaired DNA synthesis. *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: 1367-1395.
95. **Tracey R, Smith H.** An inherited anomaly of human eosinophils and basophils. *Blood Cells* 1978; 4: 291-300.
96. **Presentey BZ.** A new anomaly of eosinophilic granulocytes. *Tech Bull Regist Med Technol* 1968; 38: 131-134.
97. **Gorlin RJ, Gelb B, Diaz GA, Lofsness KG, Pitte-Iklow MR, Fenyk JR, Jr.** WHIM syndrome, an autosomal dominant disorder: clinical, hematological, and molecular studies. *Am J Med Genet* 2000; 91: 368-376.
98. **Strauss RG, Bove KE, Jones JF, Mauer AM, Fulginiti VA.** An anomaly of neutrophil morphology with impaired function. *N Engl J Med* 1974; 290: 478-484.
99. **Kay NE, Nelson DA, Gottlieb AJ.** Eosinophilic Pelger-Huët anomaly with myeloproliferative disorder. *Am J Clin Pathol* 1973; 60: 663-668.
100. **Catovsky D, Bernasconi C, Verdonck PJ, Postma A, Hows J, van der Does-van den Berg A, et al.** The association of eosinophilia with lymphoblastic leukaemia or lymphoma: a study of seven patients. *Br J Haematol* 1980; 45: 523-534.

101. **Guibaud S, Plumet-Leger A, Frobert Y.** Transient neutrophil aggregation in a patient with infectious mononucleosis. *Am J Clin Pathol* 1983; 80: 883-884.
102. **Christensen RD, Bradley PP, Rothstein G.** The leukocyte left shift in clinical and experimental neonatal sepsis. *J Pediatr* 1981; 98: 101-105.
103. **Patiala J.** Shift to the left in the peripheral blood picture in pulmonary tuberculosis; its relation to the neutrophil reaction in bone marrow. *Ann Med Intern Fenn* 1954; 43: 45-50.
104. **Bedell SE, Kang JL.** Leukocytosis and left shift associated with quinidine fever. *Am J Med* 1984; 77: 345-346.
105. **Kluge W.** Leucocytic shift to the left in mongolism, with some observations on segmentation inhibition and the Pelger-Huët anomaly. *J Ment Defic Res* 1959; 3: 56-62.
106. **Mittwoch U.** The relationship between the leukocyte count, the shift to the left and the incidence of drumsticks in mongolism. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1959; 8: 131-138.
107. **Rumke C.** The statistically expected variability in differential leukocyte counting. *In: Koepke J, ed. Differential Leukocyte Counting.* Chicago; College of American Pathologists. 1977.
108. **Committee for the clarification of nomenclature of cells and diseases of blood and blood forming organs:** First report. *Am J Clin Pathol* 1948; 18: 443-450.
109. **NCCLS. H20-A:** Reference leukocyte differential count (proportional) and evaluation of instrumental methods; approved standard. Villanova, PA, : NCCLS; 1992.
110. **College of American Pathologists.** Color atlas of hematology: An illustrated field guide based on proficiency testing. 1998. Northfield, IL, USA; 1998
111. **Hoyer JD.** Leukocyte differential. *Mayo Clin Proc* 1993; 68: 1027-1028.
112. **Cornbleet PJ, Thorpe G, Myrick D.** Evaluation of instrument flagging of left shift using College of American Pathologists reference band identification criteria. *Lab Hematol* 1995; 2: 25-102.
113. **Fujimoto H, Sakata T, Hamaguchi Y, Shiga S, Tohyama K, Ichiyama S, et al.** Flow cytometric method for enumeration and classification of reactive immature granulocyte populations. *Cytometry B Clin Cytom* 2000; 42: 371-378.
114. **Manroe BL, Rosenfeld CR, Weinberg AG, Browne R.** The differential leukocyte count in the assessment and outcome of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *J Pediatr* 1977; 91: 632-637.
115. **Ansari-Lari MA, Kickler TS, Borowitz MJ.** Immature granulocyte measurement using the Sysmex XE-2100. Relationship to infection and sepsis. *Am J Clin Pathol* 2003; 120: 795-799.
116. **Nigro KG, O'Riordan M, Molloy EJ, Walsh MC, Sandhaus LM.** Performance of an automated immature granulocyte count as a predictor of neonatal sepsis. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 618-624.
117. **Field D, Taube E, Heumann S.** Performance evaluation of the immature granulocyte parameter on the Sysmex XE-2100 automated hematology analyzer. *Lab Hematol* 2006; 12: 11-14.
118. **Fernandes B, Hamaguchi Y.** Automated enumeration of immature granulocytes. *Am J Clin Pathol* 2007; 128: 454-463.
119. **Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, Dellamonica P, Gouin F, Lepoutre A, et al.** Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. French ICU Group for Severe Sepsis. *Jama* 1995; 274: 968-974.
120. **Toh BH, van Driel IR, Gleeson PA.** Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997; 337: 1441-1448.
121. **Wickramasinghe SN.** The wide spectrum and unresolved issues of megaloblastic anemia. *Semin Hematol* 1999; 36: 3-18.
122. **Özbek N, Derbent M, Olcay L, Yilmaz Z, Tokel K.** Dysplastic changes in the peripheral blood of children with microdeletion 22q11.2. *Am J Hematol* 2004; 77: 126-131.
123. **Kerrigan DP, Castillo A, Foucar K, Townsend K, Neidhart J.** Peripheral blood morphologic changes after high-dose antineoplastic chemotherapy and recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration. *Am J Clin Pathol* 1989; 92: 280-285.
124. **Campbell IJ, Maher DW, Tay DL, Boyd AW, Rockman S, McGrath K, et al.** Marrow proliferation and the appearance of giant neutrophils in response to recombinant human granulocyte colony stimulating factor (rhG-CSF). *Br J Haematol* 1992; 80: 298-304.
125. **Olcay L, Yetgin S, Okur H, Ereklü S, Tuncer M.** Dysplastic changes in idiopathic thrombocytopenic purpura and the effect of corticosteroids to increase dysplasia and cause hyperdiploid macrocytes. *Am J Hematol* 2000; 65: 99-104.
126. **Andrews MN.** Iron deficiency and related disorders. *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: 979-1009.
127. **Davidson WM.** Inherited variations in leukocytes. *Semin Hematol* 1968; 5: 255-274.

128. **Zuelzer WW.** "Myelokathexis" -a New Form of Chronic Granulocytopenia. Report of a Case. *N Engl J Med* 1964; 270: 699-704.
129. **Aprikyan AA, Liles WC, Park JR, Jonas M, Chi EY, Dale DC.** Myelokathexis, a congenital disorder of severe neutropenia characterized by accelerated apoptosis and defective expression of bcl-x in neutrophil precursors. *Blood* 2000; 95: 320-327.
130. **Klein A, Hussar AE, Bornstein S.** Pelger-Huët anomaly of the leukocytes. *N Engl J Med* 1955; 253: 1057-1062.
131. **Skubitz KM.** Qualitative disorders of leukocytes. *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: 1801-1818.
132. **Shmueli H, Pitlik SD, Inbal A, Rosenfeld JB.** Pelger-Huët anomaly mimicking 'shift to the left'. *Neth J Med* 1993; 42: 168-170.
133. **Mohamed IS, Wynn RJ, Cominsky K, Reynolds AM, Ryan RM, Kumar VH, et al.** White blood cell left shift in a neonate: a case of mistaken identity. *J Perinatol* 2006; 26: 378-380.
134. **Al-Gwaiz LA, Babay HH.** The diagnostic value of absolute neutrophil count, band count and morphologic changes of neutrophils in predicting bacterial infections. *Med Princ Pract* 2007; 16: 344-347.
135. **Johnson CA, Bass DA, Trillo AA, Snyder MS, De-Chatelet LR.** Functional and metabolic studies of polymorphonuclear leukocytes in the congenital Pelger-Huët anomaly. *Blood* 1980; 55: 466-469.
136. **Matsumoto T, Harada Y, Yamaguchi K, Matsuzaki H, Sanada I, Yoshimura T, et al.** Cytogenetic and functional studies of leukocytes with Pelger-Huët anomaly. *Acta Haematol* 1984; 72: 264-273.
137. **Skendzel LP, Hoffman GC.** The Pelger anomaly of leukocytes: forty-one cases in seven families. *Am J Clin Pathol* 1962; 37: 294-301.
138. **Rosse WF, Gurney CW.** The Pelger-Huët anomaly in three families and its use in determining the disappearance of transfused neutrophils from the peripheral blood. *Blood* 1959; 14: 170-186.
139. **Latimer KS, Kircher IM, Lindl PA, Dawe DL, Brown J.** Leukocyte function in Pelger-Huët anomaly of dogs. *J Leukoc Biol* 1989; 45: 301-310.
140. **Kaplan JM, Barrett O, Jr.** Reversible pseudo-Pelger anomaly related to sulfisoxazole therapy. *N Engl J Med* 1967; 277: 421-422.
141. **Shanbrom E, Tanaka KR.** Acquired Pelger-Huët granulocytes in severe myxedema. *Acta Haematol* 1962; 27: 289-293.
142. **Deutsch PH, Mandell GL.** Reversible Pelger-Huët anomaly associated with ibuprofen therapy. *Arch Intern Med* 1985; 145: 166.
143. **Taegtmeier AB, Halil O, Bell AD, Carby M, Cummins D, Banner NR.** Neutrophil dysplasia (acquired pseudo-pelger anomaly) caused by ganciclovir. *Transplantation* 2005; 80: 127-130.
144. **Fugazza G, Bruzzone R, Puppo L, Sessarego M.** Granulocytes with segmented nucleus retain normal chromosomes 17 in Philadelphia chromosome-positive chronic myeloid leukemia with i(17q) and pseudo-Pelger anomaly. A case report studied with fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 90: 166-170.
145. **O'Donnell JR, Farrell MA, Fitzgerald MX, O'Connell LG.** Agnogenic myeloid metaplasia preceded by repeated leukemoid reactions and persistent acquired Pelger-Huët anomaly of granulocytes: case report with review of acquired Pelger-Huët anomaly. *Cancer* 1982; 50: 1498-1505.
146. **Chiang M, Fleming M.** The pseudo-Pelger-Huët anomaly in pyoderma gangrenosum associated with myelodysplastic syndrome. *Am J Dermatopathol* 2007; 29: 293-295.
147. **Kornberg A, Goldfarb A, Shalev O.** Pseudo-Pelger-Huët anomaly in chronic lymphocytic leukemia. *Acta Haematol* 1981; 66: 127-128.
148. **Brace W, Bain B, Walker M, Catovsky D.** Teaching cases from the Royal Marsden Hospital. Case 9: an elderly patient with unusual circulating cells. *Leuk Lymphoma* 1995; 18: 529-530.
149. **Rabinowitz I, Larson RS.** Chronic myeloid leukemia. *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: 2235-2258.
150. **Bunting RW, Selig MK, Dickersin GR.** Apoptotic cells in peripheral blood from patients with low serum cobalamin. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1997; 29: 223-227.
151. **Boxer LA, Coates TD, Haak RA, Wolach JB, Hoffstein S, Baehner RL.** Lactoferrin deficiency associated with altered granulocyte function. *N Engl J Med* 1982; 307: 404-410.
152. **de Haas M, Kerst JM, van der Schoot CE, Calafat J, Hack CE, Nuijens JH, et al.** Granulocyte colony-stimulating factor administration to healthy volunteers: analysis of the immediate activating effects on circulating neutrophils. *Blood* 1994; 84: 3885-3894.
153. **Schofield KP, Stone PC, Beddall AC, Stuart J.** Quantitative cytochemistry of the toxic granulation blood neutrophil. *Br J Haematol* 1983; 53: 15-22.
154. **Kabutomori O, Kanakura Y, Iwatani Y.** Movement of toxic granulation neutrophils and C-reactive protein in inflammatory processes. *Am J Med* 2002; 112: 595-596.

155. **Campuzano-Maya G.** Utilidad del hemograma en la mujer gestante. *Medicina & Laboratorio* 2002; 10: 429-448.
156. **Jadhav UM, Singhvi R, Shah R.** Prognostic implications of white cell differential count and white cell morphology in Malaria. *J Postgrad Med* 2003; 49: 218-220; discussion 221.
157. **Kabutomori O, Kanakura Y, Watani YI.** Induction of toxic granulation in neutrophils by granulocyte colony-stimulating factor. *Eur J Haematol* 2002; 69: 187-188.
158. **Buchanan JG, Pearce L, Wetherley-Mein G.** The May-Hegglin Anomaly; a Family Report and Chromosome Study. *Br J Haematol* 1964; 10: 508-512.
159. **Wassmuth DR, Hamilton HE, Sheets RF.** May-Hegglin anomaly. Hereditary affection of granulocytes and platelets. *Jama* 1963; 183: 737-740.
160. **Cawley JC, Hayhoe FG.** The inclusions of the May-Hegglin anomaly and Döhle bodies of infection: an ultrastructural comparison. *Br J Haematol* 1972; 22: 491-496.
161. **Drachman JG.** Inherited thrombocytopenia: when a low platelet count does not mean ITP. *Blood* 2004; 103: 390-398.
162. **Seri M, Pecci A, Di Bari F, Cusano R, Savino M, Panza E, et al.** MYH9-related disease: May-Hegglin anomaly, Sebastian syndrome, Fechtner syndrome, and Epstein syndrome are not distinct entities but represent a variable expression of a single illness. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82: 203-215.
163. **Itoga T, Laszlo J.** Döhle bodies and other granulocytic alterations during chemotherapy with cyclophosphamide. *Blood* 1962; 20: 668-674.
164. **Abernathy MR.** Döhle bodies associated with uncomplicated pregnancy. *Blood* 1966; 27: 380-385.
165. **Weiner W, Topley E.** Döhle bodies in the leucocytes of patients with burns. *J Clin Pathol* 1955; 8: 324-328.
166. **Blume RS, Wolff SM.** The Chediak-Higashi syndrome: studies in four patients and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1972; 51: 247-280.
167. **Barton LM, Roberts P, Trantou V, Haworth C, Kelsey H, Blamires T.** Chediak-Higashi syndrome. *Br J Haematol* 2004; 125: 2.
168. **Kaplan J, De Domenico I, Ward DM.** Chediak-Higashi syndrome. *Curr Opin Hematol* 2008; 15: 22-29.
169. **Ward DM, Shiflett SL, Kaplan J.** Chediak-Higashi syndrome: a clinical and molecular view of a rare lysosomal storage disorder. *Curr Mol Med* 2002; 2: 469-477.
170. **Shiflett SL, Kaplan J, Ward DM.** Chediak-Higashi Syndrome: a rare disorder of lysosomes and lysosome related organelles. *Pigment Cell Res* 2002; 15: 251-257.
171. **Clark RA, Kimball HR.** Defective granulocyte chemotaxis in the Chediak-Higashi syndrome. *J Clin Invest* 1971; 50: 2645-2652.
172. **Eapen M, DeLaat CA, Baker KS, Cairo MS, Cowan MJ, Kurtzberg J, et al.** Hematopoietic cell transplantation for Chediak-Higashi syndrome. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 411-415.
173. **Clarke JT, Willard HF, Teshima I, Chang PL, Skomorowski MA.** Hunter disease (mucopolysaccharidosis type II) in a karyotypically normal girl. *Clin Genet* 1990; 37: 355-362.
174. **Groover RV, Burke EC, Gordon H, Berdon WE.** The genetic mucopolysaccharidoses. *Semin Hematol* 1972; 9: 371-402.
175. **Rizzo SC, Invernizzi R, Balduini CL, Ricevuti G, Fontana G.** Acute granulocytic leukemia with Alder-Reilly inclusions. *Haematologica* 1978; 63: 61-66.
176. **Ghandi MK, Howard MR, Hamilton PJ.** The Alder-Reilly anomaly in association with the myelodysplastic syndrome. *Clin Lab Haematol* 1996; 18: 39-40.
177. **Ackerman GA.** Microscopic and histochemical studies on the Auer bodies in leukemic cells. *Blood* 1950; 5: 847-863.
178. **Hassan HT, Rees JK.** Auer bodies in acute myeloid leukaemia patients. *Pathol Res Pract* 1990; 186: 293-295.
179. **Gorius JB, Houssay D.** Auer bodies in acute promyelocytic leukemia. Demonstration of their fine structure and peroxidase localization. *Lab Invest* 1973; 28: 135-141.
180. **Krause JR, Kapadia SB.** Auer rods in chronic myelogenous leukemia presenting in blast crises. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 443-444.
181. **Jehn U, Thiel E, Baumgart R.** Auer-bodies in acute lymphocytic leukemia (ALL). *Blood* 1980; 55: 167-168.
182. **Hutter G, Nowak D, Blau IW, Thiel E.** Auer rod-like intracytoplasmic inclusions in multiple myeloma. A case report and review of the literature. *Int J Lab Hematol* 2008.
183. **Davies AR.** Auer bodies in mature neutrophils. *Jama* 1968; 203: 895.
184. **Das S, Kakkar N, Ahuja B, Lal M.** Auer rod-like inclusions in myeloma cells in a patient with IgG multiple myeloma. *Indian J Pathol Microbiol* 2006; 49: 561-563.

185. **Dawson MA, Whitehead S.** Mature neutrophils with multiple Auer rods: a rarity in normal karyotype acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2007; 137: 86.
186. **Davidson RJ, McPhie JL.** Cytoplasmic vacuolation of peripheral blood cells in acute alcoholism. *J Clin Pathol* 1980; 33: 1193-1196.
187. **Jordans GH.** The familial occurrence of fat containing vacuoles in the leukocytes diagnosed in two brothers suffering from dystrophia musculorum progressiva (ERB.). *Acta Med Scand* 1953; 145: 419-423.
188. **Schopfer K, Douglas SD.** Fine structural studies of peripheral blood leucocytes from children with kwashiorkor: morphological and functional properties. *Br J Haematol* 1976; 32: 573-577.
189. **Dorfman ML, Hershko C, Eisenberg S, Sagher F.** Ichthyosiform dermatosis with systemic lipidosis. *Arch Dermatol* 1974; 110: 261-266.
190. **Chanarin I, Patel A, Slavin G, Wills EJ, Andrews TM, Stewart G.** Neutral-lipid storage disease: a new disorder of lipid metabolism. *Br Med J* 1975; 1: 553-555.
191. **Rozenszajn L, Klajman A, Yaffe D, Efrati P.** Jordans' anomaly in white blood cells. Report of case. *Blood* 1966; 28: 258-265.
192. **Ulukutlu L, Koc ON, Tasyurekli M, Cullu F, Tuzuner N, Ulufin ON, et al.** Persistent vacuoles in leukocytes: familial Jordans anomaly. *Acta Paediatr Jpn* 1995; 37: 177-181.
193. **Adachi H, Yumoto T, Takeda I, Ozaki M, Matsumoto N, Ishihara T, et al.** Two familial cases of Jordans' anomaly. Ultrastructural studies and the development of fat-containing vacuoles in the neutrophilic series. *Acta Pathol Jpn* 1989; 39: 254-259.
194. **Volpé R, Ogryzlo MA.** The cryoglobulin inclusion cell. *Blood* 1955; 10: 493-496.
195. **Powell HC, Wolf PL.** Neutrophilic leukocyte inclusions in colchicine intoxication. *Arch Pathol Lab Med* 1976; 100: 136-138.
196. **Roberts GT, Perry JL, Al-Jefri A, Scott CS.** Intra-leukocytic hemosiderin inclusions detected as pseudoeosinophils by automated depolarization analysis in a patient with beta-thalassaemia major and immune hemolysis. *Blood Cells Mol Dis* 2005; 34: 162-165.
197. **Sen Gupta PC, Ghosal SP, Mukherjee AK, Maity TR.** Bilirubin crystals in neutrophils of jaundiced neonates and infants. *Acta Haematol* 1983; 70: 69-70.
198. **Marshall BA, Theil KS, Brandt JT.** Abnormalities of leukocyte histograms resulting from microorganisms. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 526-532.
199. **Amodu OK, Adeyemo AA, Olumese PE, Ketiku O, Gbadegesin RA.** Intraleucocyte malarial pigment in asymptomatic and uncomplicated malaria. *East Afr Med J* 1997; 74: 714-716.
200. **Schwarzer E, Bellomo G, Giribaldi G, Ulliers D, Arese P.** Phagocytosis of malarial pigment haemozoin by human monocytes: a confocal microscopy study. *Parasitology* 2001; 123: 125-131.
201. **Williams ST, Khare VK, Johnston GA, Blackall DP.** Severe intravascular hemolysis associated with brown recluse spider envenomation. A report of two cases and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 1995; 104: 463-467.
202. **Borgna-Pignatti C, Galenello R.** Thalasemia and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis. 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: 1319-1366.
203. **Au WY, Kwong YL.** Haemophagocytosis in the peripheral blood. *Br J Haematol* 1999; 105: 321.
204. **Yeh SP, Wang Y, Su J, Hsueh E, Yu M, Wu H.** Near-tetraploid minimally differentiated acute myeloid leukemia with extensive erythrophagocytosis by leukemic blasts. *Ann Hematol* 2000; 79: 36-39.
205. **Davidson WM, Smith DR.** A morphological sex difference in the polymorphonuclear neutrophil leukocytes. *Br Med J* 1954; 2: 6-7.
206. **Miura I.** Demonstration of an X chromosome in a neutrophil drumstick. *Br J Haematol* 1999; 106: 265.
207. **Kamischke A, Baumgardt A, Horst J, Nieschlag E.** Clinical and diagnostic features of patients with suspected Klinefelter syndrome. *J Androl* 2003; 24: 41-48.
208. **Salama ME, Shah V, Lebel RR, VanDyke DL.** Aberrant nuclear projections of neutrophils in trisomy 13. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 243-244.
209. **Cabral HR, Robert GB.** Ring-shaped nuclei in human neutrophilic leukocytes of healthy individuals: evidence of their occurrence and characteristics. *Am J Hematol* 1989; 30: 259-260.
210. **Kanoh T, Saigo K, Yamagishi M.** Neutrophils with ring-shaped nuclei in chronic neutrophilic leukemia. *Am J Clin Pathol* 1986; 86: 748-751.
211. **Lemez P, Friedmann B, Vanasek J, Bednar B.** Hairy cell leukemia with ring-shaped nuclei. *Blut* 1990; 61: 251.
212. **Stavem P, Hjort PF, Vogt E, van der Hagen CB.** Ring-shaped nuclei of granulocytes in a patient with acute erythroleukaemia. *Scand J Haematol* 1969; 6: 31-32.

213. **Langenhuijsen MM.** Neutrophils with ring-shaped nuclei in myeloproliferative disease. *Br J Haematol* 1984; 58: 227-230.
214. **Cabral HR.** Neutrophils with ring-shaped nuclei in human Chagas' disease. *Br J Haematol* 1987; 67: 118-119.
215. **Knecht H, Eichhorn P, Streuli RA.** Granulocytes with ring-shaped nuclei in severe alcoholism. *Acta Haematol* 1985; 73: 184.
216. **Ozanne C, Bain B, Catovsky D.** Teaching cases from the Royal Marsden and St Mary's Hospital case 11 dysplastic neutrophils in an African woman. *Leuk Lymphoma* 1996; 21: 351-352.
217. **Janvier M, Tobelem G, Daniel MT, Bernheim A, Marty M, Boiron M.** Acute monoblastic leukaemia. Clinical, biological data and survival in 45 cases. *Scand J Haematol* 1984; 32: 385-390.
218. **van der Meer JW, van de Gevel JS, Beelen RH, Fluitsma D, Hoefsmit EC, van Furth R.** Culture of human bone marrow in the teflon culture bag: identification of the human monoblast. *J Reticuloendothel Soc* 1982; 32: 355-369.
219. **Metcalf D, Burgess AW.** Clonal analysis of progenitor cell commitment of granulocyte or macrophage production. *J Cell Physiol* 1982; 111: 275-283.
220. **Tobelem G, Jacquillat C, Chastang C, Auclerc MF, Lechevallier T, Weil M, et al.** Acute monoblastic leukemia: a clinical and biologic study of 74 cases. *Blood* 1980; 55: 71-76.
221. **Odom LF, Lampkin BC, Tannous R, Buckley JD, Hammond GD.** Acute monoblastic leukemia: a unique subtype--a review from the Childrens Cancer Study Group. *Leuk Res* 1990; 14: 1-10.
222. **Viswanathan B.** Chronic myelomonocytic leukemia. A review. *J Kans Med Soc* 1976; 77: 59-60.
223. **Campuzano-Maya G.** Mononucleosis infecciosa. *Medicina & Laboratorio* 2002; 10: 113-143.
224. **Gross TG.** Infectious mononucleosis and other Epstein-Barr virus-related disorders. *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: 1837-1862.
225. **van Furth R, Diesselhoff-Den Dulk MM.** The kinetics of promonocytes and monocytes in the bone marrow. *J Exp Med* 1970; 132: 813-828.
226. **Takahashi K, Yamamura F, Naito M.** Differentiation, maturation, and proliferation of macrophages in the mouse yolk sac: a light-microscopic, enzyme-cytochemical, immunohistochemical, and ultrastructural study. *J Leukoc Biol* 1989; 45: 87-96.
227. **Gravel RA, Triggs-Raine BL, Mahuran DJ.** Biochemistry and genetics of Tay-Sachs disease. *Can J Neurol Sci* 1991; 18: 419-423.
228. **Kolodny EH.** Clinical and biochemical genetics of the lipidoses. *Semin Hematol* 1972; 9: 251-271.
229. **Bain BJ.** Disorders of white cells. *In:* Bain BJ, ed. *Blood cells. A practical guide*. 4th ed. Malden, Massachusetts USA; Blackwell Publishing. 2006: 398-468.
230. **Iwasaki H, Ueda T, Uchida M, Nakamura T, Takada N, Mahara F.** Atypical lymphocytes with a multilobated nucleus from a patient with tsutsugamushi disease (scrub typhus) in Japan. *Am J Hematol* 1991; 36: 150-151.
231. **Shelton JB, Jr., Frank IN.** Splenic B cell lymphoma with lymphocyte clusters in peripheral blood smears. *J Clin Pathol* 2000; 53: 228-230.
232. **Cobcroft R.** Images in haematology. Diagnosis of angiotropic large B-cell lymphoma from a peripheral blood film. *Br J Haematol* 1999; 104: 429.
233. **Wenburg JJ, Go RS.** EDTA-dependent lymphocyte clumping. *Haematologica* 2003; 88: E1M09.
234. **Hayman SR, Fonseca R.** Plasma cell leukemia. *Curr Treat Options Oncol* 2001; 2: 205-216.
235. **Colovic M, Jankovic G, Suvajdzic N, Milic N, Dordevic V, Jankovic S.** Thirty patients with primary plasma cell leukemia: a single center experience. *Med Oncol* 2008; 25: 154-160.
236. **Vonderheid EC, Bernengo MG.** The Sézary syndrome: hematologic criteria. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003; 17: 1367-1389, viii.
237. **Cyriac MJ, Kurian A.** Sézary cell. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2004; 70: 321-324.
238. **Zakarija A, Peterson LC, Tallman MS.** Hairy cell leukemia. *In:* Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al., eds. *Hematology. Basic principles and practice*. 4th ed. Philadelphia, Pennsylvania; Elsevier, Inc. 2005: 1455-1465.