

Reconocimiento a la trayectoria de la Prof.^a Dra. Lucía C. Kordich

Síndrome de *pool* de depósito Revisión. Presentación de estudios de laboratorio *Storage Pool Disease.* *Review. Clinical and laboratory assays*

► María Isabel Vizcargüénaga^{1*}

1. Licenciada en Química

* Laboratorio Diagnóstico-Lab.

Resumen

El término Síndrome de *Pool* de Depósito (SPD) define un grupo heterogéneo de anomalías plaquetarias congénitas que se caracterizan por deficiencia de gránulos citoplasmáticos en megacariocitos y plaquetas. Los pacientes presentan sangrado que puede variar de leve a moderada severidad. Se presenta como una trombopatía aislada o asociada a otras enfermedades hereditarias conocidas o a procesos adquiridos. Las plaquetas contienen cuatro tipos de gránulos citoplasmáticos clasificados de acuerdo con sus respectivas ultraestructuras, densidades y contenidos: gránulos α , gránulos densos, lisosomas y peroxisomas. Las plaquetas en el Síndrome de *Pool* de Depósito- α (α -SPD) o Síndrome de las plaquetas grises tienen disminución o ausencia de gránulos α y su contenido. Las plaquetas aparecen grises en el extendido de sangre periférica o en aspirados de médula ósea cuando se colorean con colorantes de Wright-Giemsa. El Síndrome de *Pool* de Depósito- δ (δ -SPD) se caracteriza por ausencia de gránulos densos en plaquetas y megacariocitos y el Síndrome de *Pool* de Depósito- $\alpha\delta$ ($\alpha\delta$ -SPD) no contiene gránulos densos y posee cantidad variable de gránulos α . Se presentan los estudios de laboratorio realizados a 4 pacientes. Se destaca la necesidad de realizar el estudio plaquetario por microscopía electrónica para llegar al diagnóstico de SPD.

Palabras clave: síndrome de *pool* de depósito * gránulos α * gránulos densos * microscopía electrónica

Summary

The term *Storage Pool Disease (SPD)* defines a heterogeneous group of congenital abnormality of platelets characterized by deficiency of granules in megakaryocytes and platelets. The disorder is associated with mild or severe bleeding symptoms. It may present as an isolated platelet function defect, or be associated with a variety of congenital or acquired disorders. Platelets contain four main types of cytoplasmic granules classified according to their respective ultrastructures, densities and content: the α -granules, the dense bodies (or dense granules), the lysosomes and the peroxisomes. Platelets in the *Storage Pool Disease- α* (α -SPD) or *Gray Platelet syndrome* lack α -granules and their constituents. They appear gray on Wright-Giemsa stained blood smears. *Storage Pool Disease δ* (δ -SPD) is defined as a deficiency of dense bodies in megakaryocytes and circulating platelets and *Storage Pool Disease $\alpha\delta$* ($\alpha\delta$ -SPD) is characterized by a deficiency of dense granules and a variable deficiency of platelet α -granules. Laboratory results from four (4) SPD patients are described. SPD platelets require the use of electron microscopy for reaching a definitive diagnosis.

Key words: storage pool disease * α -granules * dense granules * electron microscopy

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

El término "Síndrome de *Pool* de Depósito" (SDP) describe un grupo heterogéneo de desórdenes hemorrágicos congénitos y/o adquiridos causados por deficiencia de los gránulos plaquetarios en cantidad y/o contenido.

Incluye: Síndrome de las plaquetas grises o Síndrome de *Pool* de Depósito- α (α -SPD): plaquetas con deficiencia en gránulos α en contenido y/o cantidad; Síndrome de *Pool* de Depósito- δ (δ -SPD): plaquetas con déficit en contenido y/o cantidad de gránulos densos; Síndrome de *Pool* de Depósito- $\alpha\delta$ ($\alpha\delta$ -SPD): plaquetas con déficit en contenido y/o cantidad en forma variable de gránulos α y densos.

El Síndrome de *Pool* de Depósito se puede presentar aislado como trombopatía exclusivamente o asociado a otras enfermedades hereditarias conocidas o a procesos adquiridos.

Introducción

Las plaquetas circulan en estado de reposo en el vaso sanguíneo con endotelio normal. Cuando se produce injuria tisular, las plaquetas se adhieren al subendotelio expuesto (adhesión plaquetaria), se activan (activación plaquetaria), mecanismo que involucra un rápido cambio de forma seguido de la liberación del contenido granular (reacción de liberación) por ejemplo ADP, serotonina, que al interactuar con receptores específicos plaquetarios contribuyen al reclutamiento y posterior agregación plaquetaria.

Una de las funciones relevantes de la plaqueta en hemostasia y trombosis está relacionada a su rol como célula secretora de moléculas proteicas e inorgánicas en el sitio de injuria(1)(2), mecanismo mediado por los gránulos citoplasmáticos plaquetarios. Por lo tanto en esta revisión se realizará la descripción de los gránulos citoplasmáticos plaquetarios, cuya deficiencia en cantidad y/o contenido da origen al Síndrome de *Pool* de Depósito.

Gránulos secretores

Las plaquetas contienen principalmente cuatro tipos de gránulos citoplasmáticos clasificados de acuerdo con sus respectivas ultraestructuras, densidades y contenido en: gránulos α , cuerpos densos o gránulos densos, lisosomas y peroxisomas (3).

Los gránulos α y los densos se forman en el aparato de Golgi durante la etapa temprana de maduración del megacariocito y se transportan por la periferia del mismo a los microtúbulos y filamentos de actina (4)(5). A lo largo de este camino, los gránulos están en contacto con un cuerpo multivesicular que es la

llave del almacenamiento y el compartimento de salida involucrado en la biogénesis de los gránulos α y densos (6).

GRÁNULOS α

Es la población granular más numerosa, con un promedio de 50 a 80 gránulos por plaqueta. Almacenan principalmente proteínas secretoras multifuncionales: proteínas adhesivas, factores de coagulación, factores de crecimiento, proteasas, proteoglicanos e inmunoglobulinas.

Se pueden dividir en dos grandes grupos: a) proteínas específicas plaquetarias ausentes en el plasma: Factor 4 plaquetario (F4P), β -tromboglobulina; b) proteínas idénticas a las del plasma, algunas sintetizadas por el megacariocito: Factor von Willebrand (FvW), factor V, trombospondina, entre otras y aquellas no sintetizadas por el megacariocito e incorporadas desde el plasma: fibrinógeno, albúmina. En la Tabla I se resume la información de las proteínas secretadas por los gránulos α .

La membrana del gránulo α tiene moléculas receptoras, alguna de ellas específicas como la P-selectina, ausente de la membrana plasmática de la plaqueta en reposo y que se transforma en un marcador cuando se expresa en la superficie celular luego de la activación plaquetaria (7).

Otros receptores, como la GPIIb/IIIa, están presentes tanto en la membrana del gránulo α como en la membrana celular de la plaqueta en reposo.

GRÁNULOS DENSOS (CUERPOS DENSOS)

Las plaquetas tienen normalmente de 3 a 8 gránulos densos por plaqueta. Miden aproximadamente entre 200 a 300 nm de diámetro, con un pH luminal de 6.1.

Por observación en el microscopio electrónico presentan una morfología característica distinta de los otros gránulos citoplasmáticos: exhiben un centro den-

Tabla I. Contenido de gránulos α

<i>Proteínas específicas:</i> Factor 4 Plaquetario, β -tromboglobulina
<i>Proteínas adhesivas:</i> Factor von Willebrand, fibronectina, P-selectina, vitronectina, trombospondina, fibrinógeno
<i>Proteínas del sistema hemostático:</i> Factor V, FVIII, FIX, Proteína S, quinínogeno de alto peso molecular, plasminógeno, t-PA. Inhibidor del activador del plasminógeno, α -2 antiplasmina, α -2 macroglobulina, α -1 antitripsina.
<i>Factores de crecimiento:</i> PDGF, factor de crecimiento derivado de las plaquetas; EGF, factor de crecimiento epidérmico, TGF β , factor de crecimiento transformador
<i>Otros:</i> Albúmina, IgA, IgG, osteonectina

so rodeado por un halo claro. Esta alta densidad electrónica está dada por el elevado contenido de calcio y fósforo inorgánico (50% del total).

También se pueden visualizar por microscopía de fluorescencia, debido a la habilidad de incorporar colorantes fluorescentes derivados de la quinidina.

Estos gránulos contienen serotonina, *pool* no-metabólico de ADP y ATP, calcio, pirofosfato.

La serotonina no se sintetiza en plaquetas y se incorpora activamente del plasma. Al liberarse produce vasoconstricción y facilita la unión de proteínas adhesivas a sus respectivos receptores.

Luego de la exocitosis, el ADP del *pool* no-metabólico que no puede volver a sintetizarse, actúa como agonista sobre otras plaquetas a través de sus receptores específicos (P2Y₁, P2Y₁₂ y P2X₁) (8) favoreciendo la agregación en el sitio de injuria. Existe otro *pool* metabólico de adenin-nucleótidos localizado en el citoplasma que no se libera, pero es capaz de resintetizar ADP.

El ATP liberado se remueve rápidamente del plasma por enzimas a AMP y adenosina.

En la membrana se han identificado receptores como CD63, específicos del gránulo denso y lisosomas, y otros como la GPIIb/IIIa y en menor concentración, GPIb (9).

Luego de la activación plaquetaria, el contenido granular se secreta y las proteínas de la membrana granular se traslocan a la membrana plasmática.

LISOSOMAS

Son los gránulos más pequeños, menos de 300 nm de diámetro al microscopio electrónico. Se presentan pocos gránulos por plaqueta con una estructura homogénea. Contienen enzimas: fosfatasa ácida, arilsulfatasa, β-glucuronidasa, entre otras. El rol de estas enzimas durante la activación plaquetaria está relacionado a la interacción con la pared vascular y la digestión de componentes de la matriz (3).

PEROXISOMAS

Además de los gránulos secretores descriptos previamente, se puede demostrar en plaquetas con una técnica citoquímica que detecta catalasa, la presencia de gránulos pequeños que son similares a los peroxisomas encontrados en otros tejidos (10).

Síndrome de *Pool* de Depósito congénito

a) SÍNDROME DE LAS PLAQUETAS GRISES O SÍNDROME DE POOL DE DEPÓSITO-α

Fue descripto por primera vez en 1971 por Raccuglia G. (11). Se caracteriza por anomalías morfo-

lógicas en megacariocitos y en plaquetas que aparecen grises en extendidos de sangre periférica o en aspirados de médula ósea cuando se colorean con colorantes Wright-Giemsa. Esto se debe a la ausencia de gránulos α en megacariocitos y en el citoplasma plaquetario (12). Por tal motivo, las plaquetas grises manifiestan ausencia y/o disminución de las proteínas sintetizadas en ellas (F₄P, FvW, β-TG, etc) e incorporadas a ellas (fibrinógeno, albúmina, factor V, etc). Los otros gránulos plaquetarios (densos, lisosomas, peroxisomas) están en número normal.

La mielofibrosis medular que se presenta en esta patología se atribuye a la espontánea liberación de factores de crecimiento PDGF (Factor de crecimiento derivado de las plaquetas) y TGF-β-1 (Factor de crecimiento transformador-β-1) del megacariocito maduro.

La P-selectina está distribuida en forma anormal en membranas intracelulares del megacariocito maduro (13). Estudios ultraestructurales han demostrado la presencia de pequeños gránulos de alrededor de 0.1 μm de diámetro en el megacariocito de plaquetas grises los cuales serían los precursores de los gránulos α (14) y la P-selectina estaría localizada en las membranas de estos pequeños gránulos.

Las bases moleculares de este síndrome no se conocen pero podría involucrar a un receptor de selección cuando dejan el aparato de Golgi (15). En las familias estudiadas, la herencia es principalmente autosómica recesiva.

El mecanismo de sangrado en esta trombotopatía no está claramente definido desde el nivel molecular. Se sugiere que puede estar asociado a la falta de proteínas adhesivas como FvW, trombospondina y fibronectina que son necesarias para el contacto celular, la generación de trombina y posteriormente la agregación plaquetaria.

Los pacientes que presentan esta trombotopatía relatan historia de sangrado mucocutáneo desde la infancia, caracterizado por hematomas fáciles y petequiado, epistaxis, menorragia y particularmente sangrado post-operatorio y post-trauma que puede variar desde leve a moderada severidad.

Cursan con tiempo de sangría alterado asociado a una trombocitopenia moderada (el recuento plaquetario puede variar desde 80 x 10³/mm³ hasta normal). La respuesta de la agregación plaquetaria es variable: algunos pacientes cursan con alteración en colágeno, trombina y ADP y otros presentan agregación plaquetaria normal con adrenalina y ADP.

Los niveles plasmáticos de Factor 4 plaquetario y β-tromboglobulina se encuentran elevados indicando que el defecto no es la síntesis de éstos en el megacariocito sino el almacenamiento de los mismos en los gránulos α.

El examen de las plaquetas por microscopía electrónica es de suma utilidad para confirmar el diagnóstico.

Las plaquetas presentan mayor tamaño que el normal. En el citoplasma se observan gránulos densos y mitocondrias, pero hay una marcada disminución o ausencia de gránulos α (16).

Las patologías plaquetarias asociadas al Síndrome de las Plaquetas Grises son **Síndrome Quebec** y **Síndrome Jacobsen o París-Trousseau**.

Síndrome Québec

Es una anomalía plaquetaria autosómica recesiva, caracterizada por sangrados importantes post-trauma que no responden a las transfusiones plaquetarias. La agregación plaquetaria es deficiente sobre todo usando adrenalina como inductor.

Las plaquetas contienen proteasas que degradan las proteínas del gránulo α , inclusive la P-selectina, pero la ultraestructura del mismo está conservada.

Se ha descrito que el gránulo α almacena mayor concentración del activador del plasminógeno tipo uroquinasa el cual puede desencadenar una activación intracelular espontánea de la cascada fibrinolítica generando plasmína (17) (18). En trabajos recientes se ha postulado el uso de inhibidores de la fibrinólisis para controlar el sangrado en esta patología (19).

Síndrome Jacobsen o París-Trousseau

Es un síndrome raro asociado a una diátesis hemorrágica leve caracterizado por trombocitopenia congénita, vida media plaquetaria normal y número aumentado de megacariocitos en médula; algunos de ellos presentan maduración anormal. En circulación se encuentran plaquetas con gránulos α gigantes, que son incapaces de liberar su contenido a la estimulación con trombina (20).

b) SÍNDROME DE POOL DE DEPÓSITO- δ

El término Síndrome de *Pool* de Depósito- δ (δ -SPD) define una alteración congénita plaquetaria que se caracteriza por la ausencia y/o disminución en cantidad y/o contenido de gránulos densos en megacariocitos y plaquetas. Se puede presentar como trombopatía aislada o asociada a una serie de enfermedades congénitas. El gen responsable de esta patología no está identificado aún y el modo de herencia todavía no se conoce.

En la literatura están descritas familias con herencia autosómica recesiva y familias con herencia autosómica dominante (21) (22).

Se ha identificado recientemente un transportador de nucleótidos MRP4 (ABCC4) (*multidrug resistance protein*) que se expresa en plaquetas y se encuentra en gránulos densos y se lo postula como posible gen implicado en esta patología cuando está afectado el almacenamiento de nucleótidos (23).

Las manifestaciones hemorrágicas características son: epistaxis, hematomas fáciles y/o espontáneos, hemorragia post-parto, sangrado post-cirugía o en extracciones dentarias

Los pacientes presentan tiempo de sangría prolongado y algunos autores relacionan este resultado como inversamente proporcional al contenido de ADP o serotonina almacenado en los gránulos densos (24).

En el estudio de función plaquetaria por agregación, la respuesta es variable o sea no hay una curva de reacción característica para cada inductor. Dado que existen trombopatías con una respuesta de agregación plaquetaria similar al Síndrome de *Pool* de Depósito, la microscopía electrónica es de particular ayuda para llegar al diagnóstico.

Las patologías asociadas con el δ -SPD son los Síndromes de Hermansky-Pudlak (HPS) y Chediak-Hygashi (CHS).

El Síndrome de Hermansky-Pudlak es una enfermedad de organelas subcelulares que involucran anomalías en melanosomas, gránulos δ plaquetarios y lisosomas con herencia autosómica recesiva. Se caracteriza por albinismo oculocutáneo, diátesis hemorrágica debido al δ -SPD y almacenamiento de un complejo lípido-proteico lipofucsina ceroides de etiología desconocida (25).

Se han identificado 7 genes involucrados en esta patología (HPS1, HPS2 (ADTB3A) y HPS3-7) (18). La subunidad β 3A del complejo adaptador AP-3 está relacionada al tráfico vesicular intracelular, mientras que las proteínas HPS son componentes de complejos activos de la biogénesis de las organelas (26).

El Síndrome de Chediak-Hygashi es una patología caracterizada por diversos grados de albinismo oculocutáneo, abundantes gránulos citoplasmáticos peroxidasa positivos en neutrófilos y en células no hematopoyéticas, facilidad en sangrado caracterizado por el δ -SPD e infecciones recurrentes asociadas a neutropenia, chemotaxia y actividad bactericida alterada. Este síndrome es letal principalmente en la primera década de la vida. La herencia es autosómica recesiva. El gen responsable del CHS codifica una proteína LYST caracterizada por distintos dominios que está involucrada en el "tráfico" de proteínas en las organelas subcelulares (18).

El síndrome de Wiskott-Aldrich y la Trombocitopenia de Ausencia de Radio (Síndrome de Tar) son dos tipos de trombocitopenias hereditarias asociadas al δ -SPD (20).

c) SÍNDROME DE POOL DE DEPÓSITO - $\alpha\delta$ ($\alpha\delta$ SPD)

Este síndrome está caracterizado por alteración en contenido y/o cantidad de gránulos α y densos (δ).

Las características clínicas y las alteraciones en la función plaquetaria son similares a las que presentan los pacientes con δ -SPD.

Síndrome de Pool de depósito adquirido

Este síndrome se puede presentar asociado a otras trombotopatías adquiridas como resultado de dos mecanismos diferentes.

Uno de ellos se debe a activación *in vivo* de plaquetas y liberación parcial de contenido granular, tanto α como densos, en el contexto de daño o alteración vascular.

El segundo tipo de SPD adquirido está asociado a mielodisplasia, síndrome mieloproliferativo y leucemias crónicas como resultado de megacariopoyesis anormal asociado a mielodisplasia o malignidad (27).

Estudio de los pacientes

Materiales y Métodos

Se trabajó con los siguientes reactivos: adrenalina 10^{-6} M (Biopool, St Louis, EE.UU.). Colágeno 2-5 μ g/mL (Horm Nycomed, Alemania). Los siguientes reactivos son de SIGMA (St Louis, MO, EE.UU.); ADP 3,3 10^{-6} M, ácido araquidónico 2,5 mM, ristocetina 1,5 mg/mL, luciferin-luciferasa 2 mg/mL, ATP 1,8 μ g/mL, trombina 2-5 U/mL. Se usaron además tromboplastina (Biopool, St Louis, EE.UU.); Suspensión de cefalina: extracto de Bell y Antón, extracto clorofórmico de tromboplastina de cerebro de conejo; plaquetas liofilizadas (Biopool, St Louis, EE.UU.); Reactivo de von Willebrand (STAR^R Lia-Test vWF, Diagnostica Stago, Francia); Factor VIII (Biopool, St Louis, EE.UU.).

Se realizaron las siguientes pruebas de laboratorio: Tiempo de Sangría, técnica de Mielke (28); adhesividad plaquetaria, técnica *in vivo* (método de Borchgrevik) (28); Recuento de plaquetas por cámara y observación de frotis periférico; agregación plaquetaria en plasma rico (método de Born) (28) en un agregómetro Chrono-log de doble canal modelo 440; Reacción de liberación de ATP (28) realizada en un Lumi Agregómetro Chrono-log, modelo 660 (Havertown, EE.UU.); microscopía electrónica plaquetaria (16) (29): fijación en glutaraldehído, post fijación en tetróxido de osmio e inclusión en epoxirresinas del centrifugado de plasma rico en plaquetas. Se realizaron con Microscopio Electrónico Zeiss EM 900 (Jena, Alemania); cofactor de ristocetina, técnica de MacFarlane modificada (30); dosaje de Factor von Willebrand, método inmunoturbidimétrico de Lia-Test (31); tiempo de protrombina (método de Quick) (32), Tiempo de tromboplastina parcial activado, método de Proctor y Rapaport (32), tiempo de trombina (32), Factores II, V, VII-X, VIII, IX, XI XII (32).

ETAPA PREANALÍTICA

Los pacientes no ingirieron medicación que alterara la función plaquetaria durante 7-10 días previos a los estudios.

ANTECEDENTES HEMORRÁGICOS

Paciente 1

JG., sexo masculino, 32 años. Llega al laboratorio por consulta médica a raíz del nacimiento de su hija con plaquetopenia ($30.000/\text{mm}^3$) y hematomas. Al interrogatorio familiar surgen resultados previos de plaquetopenia en el padre (propósito) y en la abuela paterna. Antecedentes hemorrágicos del propósito: hematomas espontáneos, hematomas muy importantes por pequeños golpes, gingivorragias, epistaxis, antecedentes que hasta ese momento no le habían llamado la atención, aunque recuerda que eran problemas desde la infancia. El paciente hasta ese momento no había tenido extracciones dentarias ni operaciones.

Paciente 2

MM, sexo femenino, 34 años. Consulta al médico hematólogo por hematomas fáciles y espontáneos, sangrado muy importante post-extracción dentaria. La paciente no tuvo partos ni operaciones previas. Relata varias consultas médicas previas y estudios sin llegar a un diagnóstico.

Paciente 3

NT, sexo femenino, 15 años. Derivada al laboratorio por posible enfermedad de von Willebrand. Antecedentes: hematomas fáciles y espontáneos, epistaxis. No relata operaciones ni extracciones dentarias hasta ese momento.

El padre no presenta ningún antecedente de sangrado. La madre, LT (Paciente 4) relata antecedentes de sangrado.

Paciente 4

LT, sexo femenino, 45 años. Relata hematomas fáciles y espontáneos, epistaxis, sin sangrado en los partos. Hasta el momento del estudio de la hija estaba diagnosticada como posible enfermedad de von Willebrand.

Resultados

En la Tabla II se muestran los resultados de laboratorio de las pruebas realizadas a los pacientes.

Además de las pruebas presentadas se realizaron a todos los pacientes tiempo de Quick, APTT, tiempo de trombina y dosaje de Factores II, V, VII, IX, XI y XII, dando valores normales (datos no presentados).

Tabla II. Resultados de las pruebas de laboratorio

Pruebas	Pacientes			
	1	2	3	4
Tiempo de sangría ¹ (minutos)	12	15	6	6
Rto. Plaquetario ² . 10 ³ μ L	80	140	220	240
Adhesividad plaquetaria ³ %	20	12	26	23
Agregación plaquetaria ⁴				
Adrenalina: 1 ^{ra} ola	N	DIS	N	N
2 ^{da} ola	A	A	DIS	DIS
ADP 1 ^{ra} ola	N	N	N	N
2 ^{da} ola	DES	A	DES	DES
Ácido Araquidónico	DIS	DIS	N	DIS
Colágeno	DIS	DIS	N	DIS
Ristocetina	N	N	N	N
Trombina	N	N	N	N
Reacción de Liberación	DIS	DIS	DIS	DIS
Factor VIII ⁵ U/dL	1.10	0.90	1.10	1.20
Cofactor de Ristocetina ⁶ %	90	100	100	80
Factor von Willebrand ⁷ %	100	90	100	100

1. Valor de Referencia: Hasta 6.30 minutos
2. Valor de Referencia: 150.000-400.000/mm³
3. Valor de Referencia: 30-70%
4. Referencias: N: Normal; Des: Desagregación; DIS: Disminuida; A: Ausente
5. Valor de Referencia: 0.50-1.50 U/dL
6. Valor de Referencia: 50-150%
7. Valor de Referencia: 50-150%

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA PLAQUETARIA

Paciente 1

Plaquetas con disminución de gránulos α (40%) (Figura 1), gránulos densos muy escasos (Figura 2), marcada variación en forma y tamaño plaquetario

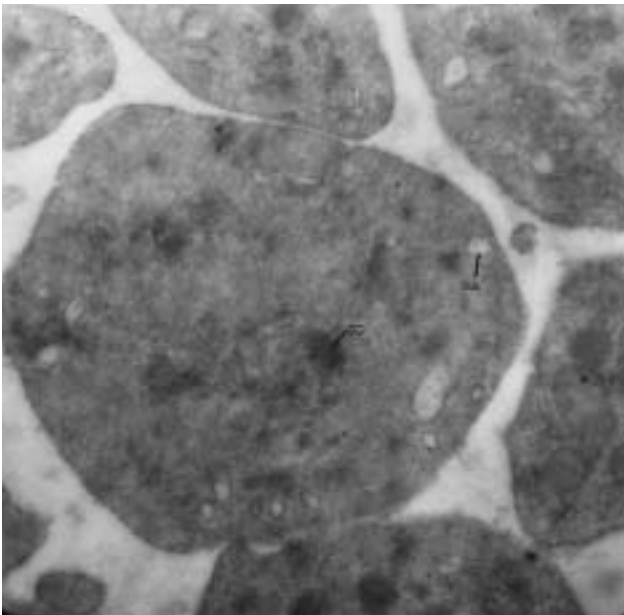


Figura 1. Plaquetas con disminución de gránulos α . (GD: Gránulo denso), (GA: Gránulo α). (x 20000)

(Figura 3). Existe variación en el desarrollo de las expansiones citoplasmáticas, disminución de granos de glucógeno. Para comparar, plaquetas normales (Figura 4).

Confirma el resultado de Síndrome de *Pool* de Depósito- $\alpha\delta$.

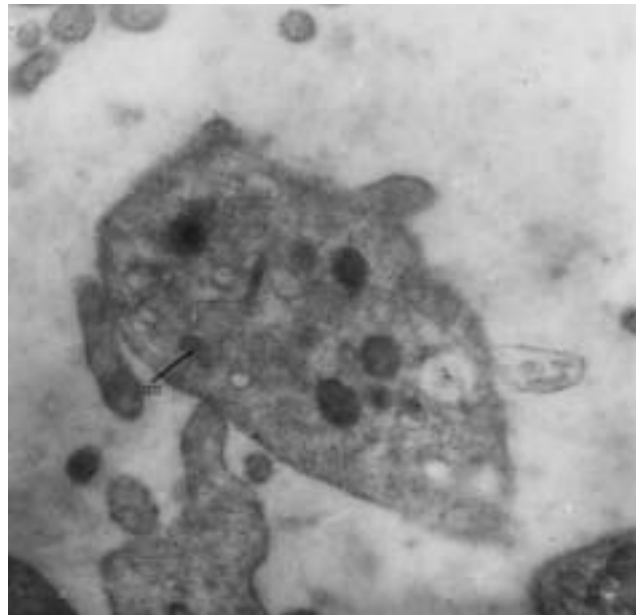


Figura 2. Plaquetas con gránulos densos muy escasos. (GD: Gránulo denso), (GA: Gránulo α). (x 20000)

Paciente 2

En el estudio ultraestructural se observan tres poblaciones de plaquetas: una normal, otra con ausencia total de gránulos α y densos y la restante con marcada disminución de los mismos.

La imagen ultraestructural es compatible con la deficiencia **Síndrome de Pool de Depósito- $\alpha\delta$** .

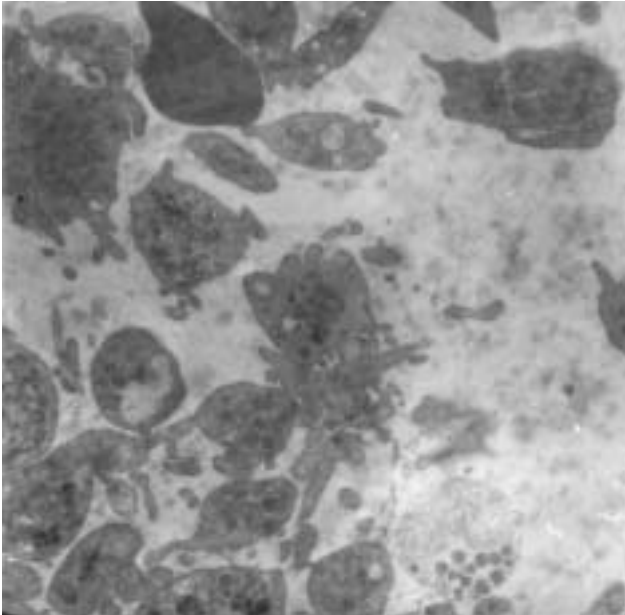


Figura 3. Marcada variación en forma y tamaño plaquetario. (x 20000)

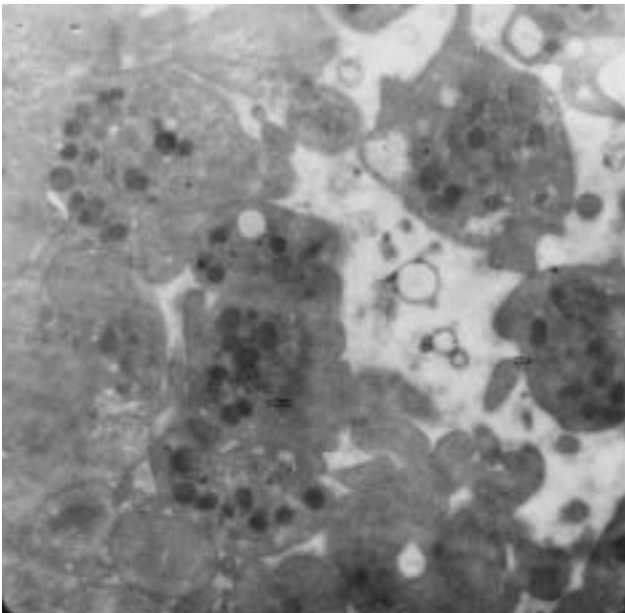


Figura 4. Plaquetas normales (GD:Gránulo denso), (GA: Gránulo α). (x 20000)

Paciente 3

Plaquetas de tamaño y formas conservadas, con plasmalema, red de filamentos subplasmiales, granos de glucógeno y sistema de endomembranas sin alteraciones. El número, dimensión y densidad electrónica de los gránulos α se encuentran dentro de límites normales. Ausencia casi total de gránulos densos. En las escasas plaquetas en que son visibles los gránulos densos, aparecen de mayor tamaño que lo normal y ocupando totalmente la cavidad de la membrana envolvente. Conclusión: las alteraciones halladas son compatibles con el Síndrome de Pool de Depósito- δ .

Paciente 4

Ausencia de gránulos densos compatible con el Síndrome de Pool de Depósito- δ .

Conclusión

Cuando el estudio de laboratorio y el interrogatorio del paciente lleven a pensar que se está en presencia de Síndrome de Pool de Depósito, es necesario confirmar el diagnóstico con microscopía electrónica plaquetaria y/o reacción de liberación.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rubén Pedro Laguens, Dra. Patricia Laguens y grupo de trabajo en el Servicio de Anatomía Patológica de la Fundación Favaloro por la realización de los estudios de microscopía electrónica plaquetaria.

CORRESPONDENCIA

DRA. MARÍA ISABEL VIZCARGÜÉNAGA

Diagno-Lab.

Charcas 4167

1425 CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES. Argentina

Referencias bibliográficas

1. Kroll M, Sullivan R Mechanism of platelet activation. Thrombosis and Hemorrhage. Loscalzo J, Schaffer A, eds. Baltimore; Williams & Wilkins; 1998. p. 261-91.
2. Burgess TL, Kelly LB. Constitutive and regulated secretion of protein. Ann Rev Cell Biol 1987; 3: 243-9.
3. Cramer E. Platelets and megakaryocytes: anatomy and structural organization. Hemostasis and Thrombosis. Basic principles and clinical practice. Colman R, Hirsh J, Marder V, Clowes A, George J. eds. Lippincott (Philadelphia); Williams and Wilkins; 2000. p. 411-28.
4. Heijnem HP, Debili N, Vainchenker W, Breton-Gorius J, Geuze HL, Sixma JJ. Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet α -granules. Blood 1998; 91: 2313-25.

5. Youssefian T, Cramer EM. Megakaryocyte dense granule components are sorted in multivesicular bodies. *Blood* 2000; 95: 4004-7.
6. Gunay-Aygun M, Huizing M, Gahl W. Molecular defects that affect platelet dense granules. *Semin Thromb Hemost* 2004; 30: 537-47.
7. McEver RP. Adhesive interactions of leukocytes, platelet and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb Haemost* 2001; 86: 746-56.
8. Hechler B, Cattaneo M, Gachet, C. The P2 receptors in platelet function. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31: 150-61.
9. McNicol A, Israels S. Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. *Thromb Res* 1999; 95:1-18.
10. Breton-Gorius J, Vainchenker W. Expression of platelet proteins during the *in vitro* and *in vivo* differentiation of megakaryocytes and morphological aspects of their maturation. *Sem Hematol* 1986; 23: 43-67.
11. Raccuglia G. Gray platelet syndrome. A variety of qualitative platelet disorder. *Am J Med* 1971; 51: 818-28.
12. White JG. Ultrastructural studies of the gray platelet syndrome. *Am J Pathol* 1979; 95: 445-62.
13. Schmitt A, Joualt H, Guichard J, Wendling F, Drouin A, Cramer E. Pathologic interaction between megakaryocytes and polymorphonuclear leukocytes in myelofibrosis. *Blood* 2000; 96: 1342-7.
14. Cramer EM, Vainchenker W, Vinci G, Guichard J, Breton-Gorius J. Gray platelet syndrome. Immunoelectron microscopic localization of fibrinogen and von Willebrand factor in platelets and megakaryocytes. *Blood* 1985; 66: 1309-16.
15. Briquet-Laugier V, Lavenue-Bombled C, Schmitt A, Leboeuf M, Uzan G, Dubart-Kupperschmitt A, *et al.* Probing platelet factor 4 α -granule targeting. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 2231-40.
16. White J. Use of the electron microscope for diagnosis of platelet disorders. *Semin Thromb Hemost* 1998; 24: 163-8.
17. Sheth PM, Kahr WHA, Haq MA, Velijkovic K, Rivard GE, Hayward CPM. Intracellular activation of the fibrinolytic cascade in the Quebec platelet disorder. *Thromb Haemost* 2003; 90: 293-8.
18. Nurden AT. Qualitative disorders of platelets and megakaryocytes. *J Thromb Haemost* 2005; 8: 1773-82.
19. McKay H, Derome F, Haq MA, Whittaker S, Arnold E, Adam F, *et al.* Bleeding risks associated with inheritance of the Quebec platelet disorder. *Blood* 2004; 104: 159-65.
20. Cattaneo M. Inherited platelet-based bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2003; 7: 1628-41.
21. Pujol-Moix N, Hernandez A, Escolar G, Espanol I, Martinez Brotons F, Mateo J. Platelet ultrastructural morphology for diagnosis of partial δ -storage pool disease in patients with mild platelet dysfunction and/or thrombocytopenia of unknown origin. A study of 24 cases *Haematologica* 2000; 85: 619-26.
22. Weiss HJ, Lages B, Vicic W, Tsung L, White J. Heterogeneous abnormalities of platelet dense granule ultrastructure in 20 patients with congenital storage pool deficiency. *Br J Haematol* 1993; 83: 282-95.
23. Jedlitschky G, Tirschmann K, Lubenow L, Nieuwenhuis H, Akkerman J, Greinacher A, *et al.* The nucleotide transporter MRP4 (ABCC4) is highly expressed in human platelets and present in dense granules, indicating a role in mediator storage. *Blood* 2004; 104: 3603-10.
24. Cattaneo M, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Zighetti ML. Evaluation of platelet function with the PFA-100 system in patients with congenital defects of platelet secretion. *Thromb Res* 1999; 96: 213-7.
25. Gahl WA, Brantly M, Kaiser-Kupfer MI, Iwata F, Hazelwood S, Shotelersuk V, *et al.* Genetic defects and clinical characteristics of patients with a form of oculocutaneous albinism (Hermansky-Pudlak syndrome). *N Engl J Med* 1998; 338: 1258-64.
26. Huizing M, Aniskster Y, Gahl WA. Hermansky-Pudlak syndrome and Chediak-Higashi syndrome: disorder of vesicles formation and trafficking. *Thromb Haemost* 2001; 98: 233-45.
27. Wehmeier A, Sudhoff T, Meierkord F. Relationship of platelet abnormalities to thrombosis and hemorrhage in chronic myeloproliferative disorders. *Semin Thromb Hemost* 1997; 23: 391-402.
28. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de Hemostasia. Lucía Kordich, editora. Buenos Aires: Grupo CAHT; 2003. p. 109-61.
29. Hughes M, Werbert K, Kelton J. The use of electron microscopy in the investigation of the ultrastructural morphology on immune thrombocytopenic purpura platelets. *Semin Hematol* 2000; 37: 222-8.
30. MacFarlane DE, Stibbe J, Kirby EP. A method for assaying von Willebrand factor (ristocetin cofactor). *Thromb Diath Haemorrh* 1975; 34: 306-18.
31. Newman DJ, Henneberry H, Price CP. Particle enhanced light scattering immunoassay *Ann Clin Biochem* 1992; 29: 22-42.
32. Fundamentos para el manejo práctico en el laboratorio de Hemostasia. Lucía Kordich, editora. Buenos Aires: Grupo CAHT; 2003. p. 168-229.

Aceptado para su publicación el 28 de agosto de 2006