

El trombocito aviar

CLAVER, J. A.¹

RESUMEN

Los trombocitos (TBCs) de las aves son células nucleadas de la sangre, equivalentes funcionales de las plaquetas de los mamíferos. Sin embargo, a diferencia de estas últimas, no sólo poseen núcleo sino también una variada gama de organoides, entre los cuales se destaca un bien desarrollado aparato lisosomal. Son las células más pequeñas de la sangre aviar (8 x 5 μ m), y a menudo existe dificultad para diferenciarlos de los pequeños linfocitos. No hay megacariocitos en la médula ósea de las aves por lo que se originan de precursores nucleados. En el embrión aparecen en el día 2 de incubación a partir del saco vitelino y en la médula ósea a partir del día 12. Se sabe muy poco sobre su sitio de origen en la médula ósea pero al parecer sería intrasinusoidal. Sus funciones hemostáticas en gran parte son análogas a las de las plaquetas de mamíferos. Además de estas funciones, los TBCs son activos fagocitos dentro de la circulación. Por este motivo se los ha postulado como células activas en la defensa inespecífica, aunque este aspecto resulta aún muy controvertido. El recuento absoluto de TBCs rara vez se realiza en la clínica rutinaria, por lo que es muy poco lo que se sabe de su relevancia clínica así como de aspectos relacionados con su cinética.

Palabras clave: (trombocitos), (hematología), (aves)

¹ Profesor Adjunto. Area de Histología y Embriología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UBA. Chorroarín 280 (1427CWO) Buenos Aires, Argentina. E-mail: jclaver@fvvet.uba.ar
Versión on line: octubre 2005

INTRODUCCIÓN

Los trombocitos (TBCs) de las aves y vertebrados inferiores son células nucleadas de la sangre, equivalentes funcionales de las plaquetas de los mamíferos²⁸. Casi toda la investigación básica y clínica sobre TBCs aviares ha sido hecha en pollos. Actualmente se conocen relativamente bien los aspectos estructurales, ultraestructurales e histoquímicos que caracterizan a los TBCs aviares. En los últimos años se ha enfatizado particularmente en diversos aspectos relacionados con su biología molecular y su posible participación en mecanismos de defensa inespecíficos. No obstante, aún persisten muchos interrogantes que ameritan futuras investigaciones. En relación con su ontogenia, su cinética y su relevancia clínica, es aun muy poco lo que se sabe de los TBCs de aves. La presente revisión pretende reunir y actualizar los aspectos más relevantes de la estructura y función de los TBCs aviares.

Morfología

Los TBCs de las aves aparecen en los extendidos sanguíneos como células de forma ovoide o discoide, algo menores y más redondeados que los eritrocitos. El núcleo es redondo u oval, (también más redondeado que el de los eritrocitos), con la cromatina muy compactada en grandes placas de heterocromatina y una moderada cantidad de citoplasma azulado o transparente que puede verse con un aspecto reticular o vacuolado. Suelen contener uno o más gránulos que pueden variar en coloración desde rojizos a violáceos, por lo general en los polos. Estos son considerados como gránulos específicos de los TBCs^{6, 35}. Son las células sanguíneas más pequeñas de las aves de corral, con dimensiones promedio de 8 x 5 µm. Con todo,

su tamaño y forma varían considerablemente, aún en el mismo individuo^{7, 35, 26}. Varios autores mencionan la dificultad en diferenciarlos adecuadamente de los linfocitos pequeños^{30, 49}, lo cual dificulta los recuentos absolutos realizados con cámaras cuentaglobulos. En los extendidos realizados sin anticoagulante manifiestan su tendencia a la agregación. En los agregados, los TBCs tienden a redondearse y los límites intercelulares se hacen difíciles de precisar. Al análisis ultraestructural los trombocitos poseen, además de núcleo, un complejo de Golgi bien desarrollado, mitocondrias, granulaciones de glucógeno, lisosomas, escaso retículo endoplásmico y un sistema de vesículas conectado con la membrana plasmática^{18, 36, 46}.

El núcleo muestra una neta predominancia de la heterocromatina sobre la eucromatina. En los agregados, nunca pierden sus límites celulares conservándose intacta la membrana plasmática. En la superficie de los TBCs se observan frecuentes imágenes de pseudópodos, lobópodos e invaginaciones de la membrana plasmática, particularmente en los del tipo esférico³⁰. El citoplasma es rico en vesículas y vacuolas electrolúcidas en tamaño y número variable. Es frecuente también la aparición de granulaciones electrodensas en diferentes grados de transformación dentro de grandes vesículas con membranas de apariencia mielínica. Dichas granulaciones parecen corresponderse con los gránulos específicos observados con la microscopía de luz^{19, 31}. El contorno del trombocito muestra la presencia de un cinturón periférico de microtúbulos que parecen contribuir al mantenimiento de la forma celular¹⁹.

Algunos autores han encontrado en extremo dificultoso diferenciar con seguridad entre pequeños linfocitos y TBCs aun en base a sus características ultraestructurales, tanto como para sugerir que los linfocitos podrían

ser precursores de los trombocitos ³⁰. Los avances modernos en biología molecular han llevado a considerar actualmente a los TBCs como un tipo celular morfológico y funcional bien diferenciado.

Ontogenia

No existen megacariocitos en la médula ósea de las aves, por lo que los TBCs se originan a partir de precursores mononucleados ³⁵. Los TBCs aparecen en la sangre a partir del día 2 de incubación, siendo el segundo componente celular, después de los eritrocitos, en aparecer en la circulación del embrión de pollo. ³⁴. El sitio de producción son los islotes sanguíneos del saco vitelino, junto con los primitivos eritrocitos ^{47, 48}. Poco es lo que se sabe acerca de su formación en la médula ósea, donde comienzan a aparecer a partir del día 12 de incubación ²⁸. A partir del análisis de extendidos de médula ósea se han intentado caracterizar estadios morfológicos de diferenciación de los precursores trombocíticos. Se han descrito estadios de tromboplasto y de TBCs inmaduros, aunque de difícil diferenciación respecto a los precursores eritroides ^{7, 35}. No se han reportado estudios ultraestructurales que permitan caracterizar a estos precursores.

Es creencia generalizada que, como en los eritrocitos, su sitio de origen es intrasinusoidal, pero no hay trabajos científicos que lo avalen. El estudio del origen del TBC aviar se ha visto dificultado durante muchos años por la falta de marcadores adecuados de diferenciación. El desarrollo reciente de anticuerpos monoclonales específicos para células del linaje trombocítico de pollos ^{28, 32} y patos ⁵, será sin duda una herramienta útil para dilucidar varios aspectos oscuros de su ontogenia.

Recuento de trombocitos

Dos métodos se han desarrollado para evaluar la cuenta de TBCs en aves: El método

clásico con hemocitómetro y el método indirecto (más utilizado de rutina) que consiste en una estimación relativa de su frecuencia en extendidos sanguíneos ⁷. Los contadores automáticos no son de utilidad en la evaluación cuantitativa de TBCs aviares debido su densidad y tamaño semejante a los linfocitos. En pollos, el número de TBCs en sangre es semejante a la cuenta total de leucocitos, con un rango de normalidad que oscila entre 20.000 y 40.000 TBCs x mm³, no habiendo variaciones marcadas de sexo pero sí de raza ³⁵.

Función hemostática

Parece estar suficientemente comprobado que los TBCs juegan un rol similar a las plaquetas de mamíferos en los procesos hemostáticos ³⁵. Al igual que las plaquetas, los TBCs de las aves se adhieren y agregan en el sitio de una injuria vascular formando un tapón hemostático. Esto ha sido demostrado por microscopía óptica ^{22, 43} y electrónica ¹⁸. Se piensa que la agregación sería desencadenada más por factores extrínsecos que intrínsecos ⁴. Experimentos realizados *in vitro* demuestran que los trombocitos se agregan en respuesta al agregado de trombina, colágeno y serotonina pero a diferencia de lo que ocurre en mamíferos, no lo hacen en presencia de ADP ni ATP ³. La agregación de los trombocitos desencadena además una reacción de liberación semejante a la de las plaquetas. Una de las sustancias liberadas es la serotonina, que en la sangre del pollo se localiza casi exclusivamente en los trombocitos. La serotonina es captada y luego liberada de los trombocitos como respuesta a la agregación por trombina ⁴. Al igual que las plaquetas, los trombocitos expresan un homólogo de la glicoproteína IIb IIIa que actúa como receptor de fibrinógeno ³². El proceso de agregación de los TBCs está marcado por cambios morfológicos. Se cita que durante el

denominado “proceso degenerativo” los TBCs muestran con frecuencia un margen acidófilo³⁵. En la sangre aviar, los TBCs y los monocitos son las únicas células sanguíneas con tendencia a adherirse al vidrio¹⁴.

FUNCIÓN INMUNOLÓGICA

El rol de los trombocitos en los mecanismos de defensa inespecíficos es un tema que actualmente suscita muchas controversias³⁸. Las propiedades fagocíticas de los TBCs han sido reportadas desde hace tiempo y documentadas por numerosos experimentos, tanto *in vivo* como *in vitro*. Los TBCs circulantes tanto de pollos como de embriones de pollo exhiben actividad fagocítica *in vitro* hacia colorantes vitales (azul tripan, rojo neutro y naranja de acridina) y también sobre bacterias y virus^{8, 20, 21, 33}. La fagocitosis en los TBCs no se inhibe con las aflatoxinas, como sí ocurre con los demás fagocitos¹¹. Similar actividad fagocítica también ha sido documentada para los TBCs de pato⁵, utilizando tinta china y *Staphylococcus aureus*. Se ha reportado que los TBCs pueden fagocitar en la sangre 1,7 más bacterias y hacerlo 3 veces más rápido que heterófilos y monocitos juntos¹². No está clara la participación del complemento en la fagocitosis de los TBCs, pero un factor desconocido del suero de pollo se liga a ellos y es inactivado (como el C3b) por la hidrazina²³.

Los TBCs de peces, anfibios y reptiles también han demostrado capacidad de internalizar partículas de carbón^{17, 25, 37}. Sus propiedades fagocíticas, sumadas a su capacidad comprobada de migrar a través de tubos capilares y de membranas quimiotácticas³³ sugieren que también los TBCs podrían manifestar estas propiedades fuera de los vasos, en los procesos inflamatorios. Las plaquetas de varias especies de mamíferos como el conejo

y los humanos, también han demostrado tener propiedades fagocíticas aunque esto ha sido considerado de escasa importancia en la defensa inespecífica^{29, 42}. En las aves, en cambio, el rol fagocítico de los TBCs parece ser de mayor significación, a juzgar por la presencia de un bien desarrollado aparato lisosomal⁴⁵. A raíz de esto se ha afirmado que los TBCs parecen ser los principales fagocitos circulantes en el pollo con un papel relevante en la depuración de sustancias extrañas de la sangre¹². Los TBCs son considerados precursores filogenéticos de las plaquetas y, tanto la fagocitosis como la hemostasia primaria parecen constituir un vestigio ancestral del comportamiento de los primitivos leucocitos⁴⁰. Estudios *in vivo*² muestran que inmediatamente luego de inyectar carbón coloidal en pollos se produce agregación trombocítica y que el porcentaje de TBCs con partículas de carbón llega hasta un 50% en los primeros 5 minutos para luego decrecer progresivamente, lo que hace pensar que, una vez que han realizado fagocitosis, éstos son de algún modo removidos de la circulación por mecanismos desconocidos.

La capacidad de los TBCs del pollo para internalizar protozoarios ha sido estudiada recientemente¹⁵. El estudio sugiere que los protozoarios (*Toxoplasma gondii*) son en realidad “internalizados” y no fagocitados, proceso dependiente más del parásito que del trombocito. Prueba de ello, la citocalasina D (que inhibe la fagocitosis) no inhibe dicha internalización. El estudio abre un interrogante acerca de la verdadera capacidad fagocítica de los trombocitos de las aves. Por otro lado, los mismos autores reevaluaron su capacidad para fagocitar bacterias, comprobando que no son tan fagocíticos como parecía en un principio. A diferencia de los macrófagos, los TBCs no presentan receptores Fc para inmunoglobulinas. Además, en contraste con otros tipos de

fagocitos, los TBCs no son capaces de una respuesta oxidativa³³, es decir, no pueden producir peróxido de hidrógeno o utilizar una vía dependiente de oxígeno para degradar el material fagocitado. Los TBCs de las aves expresan el complejo mayor de histocompatibilidad de clase IV (MHC IV) en su membrana⁴¹. Este complejo proteico de membrana sólo ha sido identificado en aves y es compartido con otras células del sistema inmune, lo que permite suponer en los TBCs alguna función en reacciones de tipo inmunológico aunque esto no ha sido investigado. Hay pocos datos a favor de la participación de los trombocitos en reacciones de tipo inflamatorio. Su presencia en los focos inflamatorios ha sido afirmada por algunos autores⁹ y negada por otros³⁹. No obstante, se ha visto que aparecen en implantes subcutáneos de cubreobjetos, hasta 2 días post implantación, aunque no en lesiones más viejas²³. Los trombocitos son capaces de migrar por tubos capilares, y esta actividad migratoria puede inhibirse por factores solubles liberados por linfocitos T y B activados⁴⁴. Por otro lado, factores solubles derivados de trombocitos favorecen el desarrollo de fibroblastos en cultivos²⁷ y causan migración linfocitaria³³. Toda esta evidencia sugiere que, aunque no participen activamente en las reacciones defensivas, al menos serían capaces de secretar sustancias con funciones regulatorias. Las funciones de migración y fagocitosis de los TBCs son afectadas por la infección viral. Además, los trombocitos se adhieren a las células infectadas por el virus, lo que sugiere una interacción de membrana de tipo específico y algún rol en el sitio de la infección³³.

Cinética de los trombocitos

La cinética de los TBCs es uno de sus aspectos menos conocidos. No existen datos publicados sobre sobrevivencia de los trombocitos

en circulación. En medios de cultivo se sabe que desarrollan apoptosis a las 24 h¹⁶. Observaciones realizadas en nuestro laboratorio en trombocitos de pollo marcados con indio radiactivo y mediante inyección de tinta china indican que el hígado es el principal órgano de destrucción de trombocitos circulantes, y en segundo lugar el bazo¹³.

ASPECTOS CLÍNICOS

Las dificultades que impone el recuento absoluto de TBCs hace que rara vez se evalúen sus variaciones cuantitativas en la clínica rutinaria, lo que se refleja en la escasez de publicaciones referidas a su importancia clínica en las patologías aviarias. Trombocitopenias han sido asociadas a enfermedades virales como la anemia de los pollitos (Chicken anemia) y la enfermedad de Newcastle. TBCs infectados con virus Newcastle son incapaces de replicar el virus³². Este virus es capaz de lisar plaquetas de mamíferos⁴⁹, pero no ocurre lo mismo en aves, y los trombocitos infectados, en cambio, desarrollan apoptosis a las 3 horas. Esto podría tener relación con las trombocitopenias que se observan en las infecciones virales u otras infecciones graves. En el caso de la anemia de los pollitos¹ se ha relacionado la trombocitopenia con depresión de la trombocitopoyesis a nivel medular.

Por otro lado, sometiendo pollos a diversos tipos de agresiones experimentales (social, térmica, microbiológica) se observó la aparición de variaciones morfológicas en los trombocitos pero no cuantitativas. Dichas variaciones parecen corresponder con algún tipo de activación o bien de envejecimiento de los TBCs²⁴.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 ADAIR, B.M. 2000: Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Dev. Comp.*

- Immunol. 24 (2-3): 247-255.
2. AWADHIYA, R. P.; VEGAD, J. L. & KOLTE, G. N. 1980: Demonstration of the phagocytic activity of chicken thrombocytes using colloidal carbon. Res. In Vet. Sci. 29: 120-122.
 3. BELAMARICH, F. A.; SHEPRO, D. & KIEN, M. 1968: ADP is not involved in thrombin induced aggregation of thrombocyte of a non-mammalian vertebrate. Nature 220: 509-510.
 4. BELAMARICH, F. & SIMONEIT, L.W. 1973: Aggregation of duck thrombocytes by 5-hydroxytryptamine. Microvasc. Res. 6 : 229.
 5. BERTRAM, E. M. 1998: Characterization of duck thrombocytes. Res. in Vet. Sci. 64: 267-270.
 6. BRADLEY, B. 1937: Observations on the comparative anatomy of blood. Med. J. Austr. 24: 992-999.
 7. CAMPBELL, T. W. 1988: Avian Hematology and Cytology. Iowa State Univ. Press, Ames.
 8. CARLSON, H. C.; SWEENEY, P. R. & TOKARYK, J. M. 1968: Demonstration of phagocytic and trephocytic activities of chicken thrombocytes by microscopy and vital staining techniques. Avian Dis. 12: 700-715.
 9. CARLSON, H. C. & ALLEN, J. R. 1969: The acute inflammatory reaction in chicken skin: blood cellular response. Avian Dis. 12: 700.
 10. CHANG, C. & HAMILTON, P. B. 1976: Phagocytic properties of chicken thrombocytes. Poultry Science 55: 2018.
 11. CHANG, C. & HAMILTON, P.B. 1979: Refractory phagocytosis by chicken thrombocytes during aflatoxicosis. Poultry Science 58: 559-561.
 12. CHANG, C. & HAMILTON, P.B. 1979: The thrombocyte as the primary circulating phagocyte in chickens. J. Reticuloend. Soc. 25: 585-590.
 13. CLAVER, J. A.; ROSA, J. M.; STANGENELLI, C. G. & CYMBERKNOP, D. C. 2004: The role of the mononuclear phagocytic system in chicken thrombocyte sequestration. Biocell 28 (2): 239.
 14. DA MATTA R. A.; MANHAES, L.; SEABRA, S. H. & DE SOUZA, W. 1998: Coculture of chicken thrombocytes and monocytes: Morphological changes and lectin Binding. Biocell 22 (1): 45-52.
 15. DA MATTA, R.A.; SEABRA, S. H. & DE SOUZA, W. 1998: Further studies on the phagocytic capacity of chicken thrombocytes. J. Submicrosc. Cytol. Pathol. 30: 271-277.
 16. DA MATTA R. A.; MANHAES, L.; LASSOUNSKAIA, E. & DE SOUZA, W. 1999: Chicken thrombocytes in culture: lymphocyte-conditioned medium delays apoptosis. Tissue & Cell 31 (3): 255-263.
 17. DAWSON, A. B. 1933: The leucocytic reaction in *Necturus maculosus* to intravascular injections of colloidal carbon, with special reference to the behavior of the basophiles and thrombocytes. Anat. Rec. 57: 351 - 359.
 18. EDMONDS, R.H. 1970: Electron microscope studies on the hemostatic process in bird embryos. II: In vivo Phagocytosis by nucleated thrombocytes. J. Ultrastruct. Res. 30: 184-194.
 19. ENGBEGS, H. & KRIESTEN, K. 1968: Zytoplasmatische Feinstrukturen der Thrombozyten des Haushuhns. Experientia 24: 597-598.
 20. FORKNER, C.E. 1929: Blood and bone marrow cells of the domestic fowl. J. Exp. Med. 50: 121-142.
 21. GLICK, B.; SATO, K. & COHENOUR, F. 1964: Comparison of the phagocytic ability of normal and bursectomized birds. J. Reticuloendothel. Soc. 1:442- 449.
 22. GRANT, R. A. & ZUCKER, M. B. 1973: Avian thrombocyte aggregation and shape change in vitro. Am. J. Physiol. 225 (2): 340-343.
 23. GRECCHI, R.; SALIBA, A. M. & MARIANO, M. 1980: Morphological changes, surface receptors and phagocytic potential of fowl mono-nuclear phagocytes and thrombocytes *in vivo* and *in vitro*. J. Pathol. 130: 23-31.
 24. GROSS, W. B. 1989: Factors affecting chicken thrombocyte morphology and the relationship with heterophil : limphocyte ratios. British Poultry Science 30: 919-925.
 25. HARTMANN, E. 1925: Beiträge zur

- Thrombozytengnese bei niederen Vertebraten, sowie zur Frage ihrer Stellung zum Megacaryozyten der Säuger. *Fol. Haem.* 32: 1-14.
26. HODGES, R. D. 1974: The Circulatory System. I: Blood cells. In: *The Histology of the Fowl*. Accad. Press. pp 150-171.
27. HORIUCHI, H.; MATSUDA, H. & MURATA, M. 1990: Preliminary evidence of growth factor(s) from chicken thrombocytes. Growth effects on chicken embryo fibroblast culture. *Jap. J. Vet. Sci.* 52 (3): 559-564.
28. HORIUCHI, H.; TANAKA, K.; SHIGETA, A.; YOSHIDA, K.; KUSHIMA, K.; OHTA, H.; FURUSAWA, S. & MATSUDA, H. 2004: A monoclonal antibody against chicken thrombocytes reacts with the cells of thrombocyte lineage. *J. Vet. Med. Sci.* 66: 243-250.
29. JAIN, N.C. 1993: *Essentials of Veterinary Hematology*. Lea & Febiger.
30. JANZARIK, H.; MORGENSTERN, E. 1979: The nucleated thrombocytoid cells. I. Electron microscopic studies on chicken blood cells. *Thromb. Haemost.* 41: 608-621.
31. KURUMA, Y.; OKADA, T.; KATAOKA, T. & SORIMACHI, M. 1970: Ultrastructural observation of 5-hydroxytryptamine-storing granules in the domestic fowl thrombocytes. *Z. Zellforsch.* 108: 262-281.
32. LACOSTE-ELAUME, A. S.; BLEWX, C.; QUÉRÉ, P.; COUDERT, F.; CORBEL, C. & KANELLOPOULOS-LANGEVIN, C. 1994 Biochemical and functional characterization of an avian homolog of the Integrin GP IIb IIIa present in chicken thrombocytes. *Exp. Cell. Res.* 213: 198-209.
33. LAM, K. M. 1997: Activation, adhesion, migration and death of chicken thrombocytes. *Comp. Haematol. Int.* 1: 81-87.
34. LEMEZ, L. 1972: Thrombocytes of chick embryos from the 2nd. day of incubation till the 1st. postembryonic day. *Acta Univ. Carol. (Med. monogr.)* 53: 365-371.
35. LUCAS, A.M. & JAMROZ, C. 1961: Atlas of avian hematology. Agricultural Monograph. 25, United States Department of Agriculture, Washington D.C.
36. MAXWELL, M. H. & TREJO, F. 1970: The ultrastructure of white blood cells and thrombocytes of the domestic fowl. *Br. Vet. J.* 126: 583-592.
37. MESEGUER, J.; ESTEBAN, M. A.; GARCIA AYALA, A. & LOPEZ RUIZ, A. 1992: Ultrastructural study of the phagocytosis mechanism in blood thrombocytes of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Electron Microsc.* 3: 589-590.
38. MESEGUER, J.; ESTEBAN, M. A. & RODRIGUEZ, A. 2002: Are thrombocytes and platelets true phagocytes? *Microsc. Res. & Technique* 57: 491-497.
39. NAIR, M. K. 1973: The early inflammatory reaction in the fowl. A light microscopical, ultrastructural and autoradiographic study. *Acta Vet. Scandin.* Suppl. : 1-103.
40. ROWLEY, A.F.; HILL, D.J.; RAY, C.E. & MUNRO, R. 1997. Hemostasis in fish, an evolutionary perspective. *Thromb. Haemost.* 77: 227-233.
41. SALOMONSEN, J.; DUNON, D.; SKJODT, K.; THORPE, D.; VAINO, O. & KKAUFMAN, J. 1991: Chicken major histocompatibility complex encoded B-G antigens are found in many cell types that are important for the immune system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 1359-63.
42. SALVIDIO, E. & CROSBY, W. H. 1960: Thrombocytopenia after intravenous injection of India Ink. *J. Lab. Clin. Med.* 56: 711-716.
43. STALSBERG, J. & PRYDZ, H. 1963: Studies on chick embryo thrombocytes II: Function in primary hemostasis. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 81: 311-312.
44. STINSON, R. S.; MASHALY, M. M. & GLICK, B. 1979: Thrombocyte migration and the release of thrombocyte inhibitory factor (ThrIF9) by T and B cells in the chicken. *Immunology* 36 (4): 769-774.
45. SWEENEY, P. R. & CARLSON, H. C. 1968: Electron microscopy and histochemical demonstration of lysosomal structures in chicken

- thrombocytes. *Avian. Dis.* 12: 636-644.
46. TAFFAREL, M. & OLIVEIRA, M.P. 1993: Cytochemical analysis of the content of chicken thrombocytes vacuoles. *Cell. Biol. Int.* 17: 993-999.
47. TAHARA, Y.; OMORI, S. & HASHIMOTO, A. 1983: Formation of embryo thromboblats in chick blastoderm: morphology, site of production and time of emergence in the blood. *Dev. Growth Differ.* 25: 75-83.
48. TAHARA, Y & MORINAKA, T. 1990: The blood islands is asite of formation of the primary embryo thrombocyte in the chick blastoderm. *Dev. Growth Differ.* 32: 403-409.
49. TRAILL, K. N.; BÖCK, G.; BOYD, R. & WICK, G. 1983. Chicken thrombocytes. Isolation, serological and functional characterization using the fluoescence activated cell sorter. *Dev. Comp. Immunol.* 7: 111-125.
50. TURPIE, A.G.G.; CHERNESKY, M. A. & LARKE, R. P. 1973: Effect of Newcastle disease virus on human or rabit platelets. *Lab. Invest.* 28:575-583.