

Trastornos plaquetarios congénitos: ayer y hoy

Congenital platelet disorder: yesterday and today.

Rivera J, Palma-Barqueros V, Vicente V, Lozano ML

Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia,

IMIB-Arrixaca, CB15/00055-CIBERER, Murcia, España

Jose.rivera@carm.es



PLENARIA III

HEMATOLOGÍA

Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 191-209
Septiembre 2018

Palabras claves: trombocitopenias,
trombocitopatías,
trastornos plaquetarios congénitos.

Keywords: thrombocytopenias,
thrombocytopathies,
congenital platelet disorders.

Objetivos educacionales

- Revisar la etiología y característica de TPC (trombocitopenias y trombocitopatías hereditarias) más clásicos.
- Introducir los nuevos tipos de TPC identificados en los últimos años.

Resumen

Las plaquetas se generan a partir del citoplasma de los megacariocitos (MKs), y éstos, a su vez, se originan de células madre hematopoyéticas que se alojan en la médula ósea. En este proceso tiene un papel importante el eje TPO/Mpl y también son esenciales distintos factores de transcripción. Los MKs maduros contienen toda la maquinaria celular necesaria

para la formación y la función de las plaquetas generadas de ellos. Alteraciones genéticas en cualquiera de estos elementos, puede afectar de manera crítica a la trombopoyesis y/o a las funciones de las plaquetas, hemostáticas y otras, dando lugar a lo que conocemos como trastornos plaquetarios congénitos (TPC).

Los TPC integran un grupo de enfermedades raras de baja prevalencia y una considerable heterogeneidad clínica, de laboratorio y molecular. Esta heterogeneidad ha sido una limitación grande para su diagnóstico, que ha repercutido muchas veces en un manejo clínico no óptimo, o incluso perjudicial e innecesariamente invasivo, de los pacientes.

La generalización de la biología molecular en los últimos 25 años, y sobre todo la fulgurante aparición en la última década de la secuenciación de alto rendimiento (HTS) (antes conocida como NGS), ha incrementado enormemente nuestro conocimiento de estas enfermedades. En la actualidad, conocemos la base molecular de cerca de 70 tipos de TPC y la lista sigue creciendo poco a poco. Pero incluso usando la poderosa tecnología HTS, un porcentaje elevado de pacientes quedan aún sin diagnosticar haciendo un abordaje de casos individuales. Al tratarse de enfermedades raras, es fundamental la colaboración entre investigadores, que permita disponer de series grandes de pacientes en las cuales reconocer enfermos con fenotipo similar y base genética desconocida. En este sentido, en los últimos años se han iniciado diferentes proyectos multicéntricos de colaboración en el estudio de TPC, a nivel nacional e internacional. Tal es el caso del proyecto denominado “Caracterización funcional y molecular de pacientes con TPC”, que iniciamos en España hace diez años bajo la cobertura científica del Grupo de Trabajo de Patología Hemorrágica de la Sociedad Española de Trombosis y Hemorragia. Como se mostrará en la

ponencia, en el contexto de este proyecto español se han reunido cerca de 160 enfermos, de otras tantas familias no relacionadas, incluyendo tanto TPC clásicos, como SBS o TG, como otros síndromes plaquetarios nuevos como patología molecular en los genes *RASGRP2*, *DIAPH1* o *KDSR*. En esta revisión presentamos una breve descripción de los principales tipos de TPC.

Formación de las plaquetas

Las plaquetas son discos anucleados de 1-3 µm que circulan en la sangre a alta concentración 150-450 x10⁹/L durante aproximadamente 10 días antes de entrar en senescencia y ser eliminadas en el bazo e hígado fundamentalmente. Estas pseudocélulas se originan a partir de los megacariocitos (MKs) por un mecanismo(s) de fragmentación muy complejo y no completamente conocido denominado trombopoyesis. A su vez, los MKs derivan de las células madre hematopoyéticas (HSCs) que residen principalmente en la médula ósea, a través de otro proceso con múltiples etapas de diferenciación y maduración llamado megacariopoyesis^(1,2) (**Figura 1**).

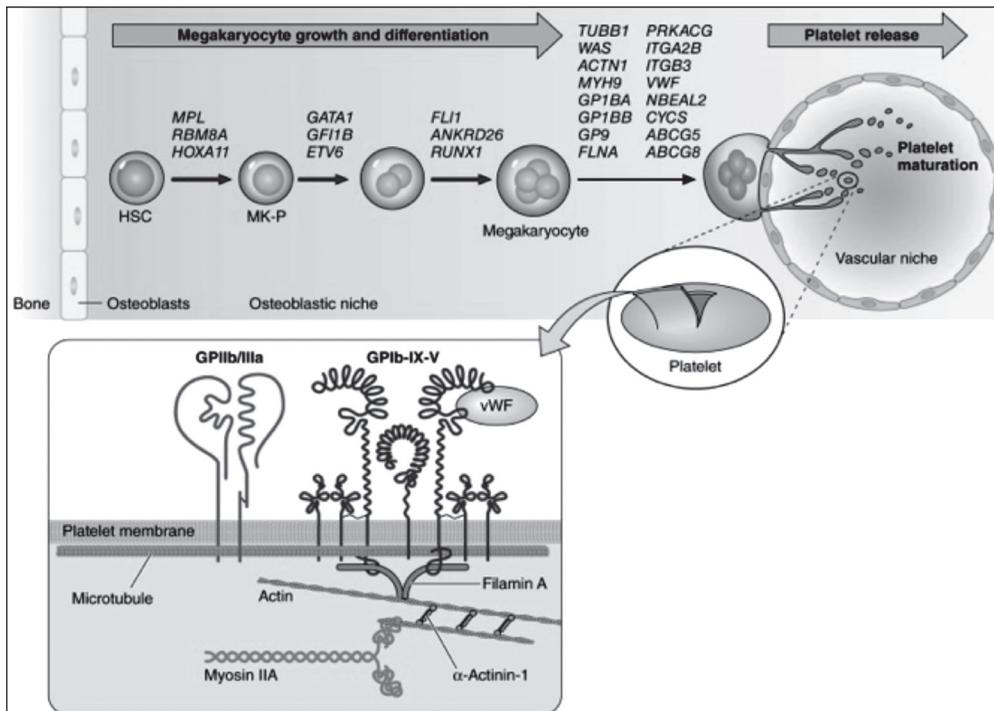


Figura 1. Genes implicados en la formación de megacariocitos y plaquetas

En la imagen se muestra el proceso de diferenciación y maduración de los megacariocitos y liberación plaquetaria, además de los genes implicados en las diferentes etapas. La imagen inferior muestra las glicoproteínas de la membrana plaquetaria y los diferentes elementos que componen la estructura del citoesqueleto (Figura usada con permiso de los autores⁽¹⁾).

Multitud de estudios en los últimos 25 años han demostrado que el eje de trombopoyetina (TPO) y su receptor Mpl tiene un papel central en la regulación de los estadios tempranos y tardíos de la megacariopoyesis. Bajo el control de la TPOs, los megacariocitos iniciales o promegacariocitos diploides sufren un proceso proliferativo con una progresión normal a través del ciclo, seguido de varias rondas de endomitosis en los que hay replicación del ADN sin división celular, para acumular un contenido de ADN de 4N hasta 128N en un núcleo multilobular embebido en un citoplasma de gran volumen. Después de esta poliploidización nuclear se produce una etapa progresiva de maduración en la que se forma un extenso sistema de membrana continuo, invaginado en el citoplasma y ligado a la membrana plasmática que sirve de reservorio membranoso para soportar la posterior formación de las proplaquetas. Además, se produce el desarrollo de gránulos alfa (α) y densos (δ) en el citosol y la expresión en la membrana de los receptores que soportarán la adhesión y agregación plaquetaria. Los megacariocitos maduros son por tanto células grandes, $\geq 150 \mu$ de diámetro, que contienen toda la maquinaria celular necesaria para el funcionamiento de las plaquetas. Aunque en los últimos años se ha avanzado mucho en el conocimiento de la megacariopoyesis y de la trombopoyesis, el mecanismo(s) preciso por el cual las plaquetas derivan de los MKs aún no se entiende completamente. Genéricamente, se cree que los MKs maduros desarrollan múltiples extensiones, largas y ramificadas, conocidas como proplaquetas, que contienen en toda su extensión protrusiones del tamaño de las plaquetas, conectados por puentes citoplasmáticos. Estas proplaquetas se extienden a través de los vasos sanguíneos de la médula ósea, y el flujo sanguíneo da como resultado la salida de sus brotes terminales a la circulación como plaquetas. A través de este proceso, los MKs son capaces de liberar a la circulación aproximadamente 10^{11} plaquetas por día, manteniendo una renovación constante de estas pseudocélulas. El proceso de formación de proplaquetas es dependiente del funcionamiento normal del citoesqueleto y en particular de los microtúbulos, estructuras que soportan el alargamiento de las extensiones de proplaquetas y la acumulación de gránulos de plaquetas y otros componentes celulares en los brotes de las proplaquetas^(1,2). Como ya hemos mencionado, el eje TPO/Mpl es clave en

este proceso, regulando sobre todo la diferenciación de las HSCs a los MKs tempranos o inmaduros. Adicionalmente, en los últimos años se ha puesto de manifiesto el papel también esencial de otros factores de transcripción expresados en HSCs y progenitores derivados, entre los que se encuentran *GATA1*, *RUNX1*, *FLII*, *ETV6*, *HOXA11*, *MECOM*, y *GFI1B*^(3,4).

Las alteraciones en cualquiera de los elementos (TPO/Mpl, factores de transcripción, proteínas del citoesqueleto, que participan de forma relevante en la regulación de la megacariopoyesis y la trombopoyesis), puede dar lugar a una producción ineficaz de plaquetas y/o alteraciones en su morfología y funcionalidad.

Función de las plaquetas

Es conocido desde hace mucho tiempo que las plaquetas desempeñan un papel principal tanto en la hemostasia, el mecanismo fisiológico de prevención del sangrado, como en la trombosis^(5,6).

El pequeño tamaño de las plaquetas favorece su función hemostática pues, al ser desplazadas por la acción del flujo sanguíneo y el mayor volumen del resto de células, circulan en estrecho contacto con el endotelio de la pared del vaso sanguíneo. Así, al pasar por una zona de lesión vascular, las plaquetas se adhieren, inicialmente de forma lábil, a la pared del subendotelio dañado mediante la interacción del complejo GPIIb/IX/V plaquetario con el factor von Willebrand (FvW) inmovilizado sobre las fibras de colágeno, la unión directa a las fibras de colágeno con sus receptores (GPVI y $\alpha 2\beta 1$ integrina) creando así una monocapa de plaquetas sobre la superficie dañada. Las interacciones de estos receptores con sus correspondientes ligandos inducen eventos de señalización intraplaquetaria de dentro hacia fuera (*inside-out*) y del exterior al interior (*outside-in*) que conducen a eventos de activación tales como el cambio de forma, la movilización de calcio intracelular, la generación de tromboxano (TxA_2) y la liberación del contenido granular (gránulos alfa, α , y densos, δ). En una segunda fase de extensión, los agonistas solubles como ADP, TxA_2 , epinefrina y trombina, liberados/sintetizados por las plaquetas adheridas a la zona dañada del subendotelio, actúan de forma autocrina y paracrina en las plaquetas de la zona, uniéndose a sus receptores de membrana específicos, lo que desencadena una nueva oleada de se-

ñales intraplaquetarias que refuerzan y promueven la activación de las plaquetas y su incorporación al trombo en formación, en el proceso que conocemos como agregación plaquetaria. A medida que el agregado crece se inicia un proceso de estabilización del mismo sobre la zona lesionada. Esta estabilización se lleva a cabo gracias al contacto estrecho entre las plaquetas dentro del trombo que favorece la formación de puentes directos o indirectos entre moléculas de plaquetas adyacentes, y la mayor concentración de agonistas plaquetarios y de sustancias bioactivas en el seno del trombo⁽⁶⁾.

Aparte de su implicación en hemostasia y trombosis, hay ya una evidencia incontestable de la importante participación de las plaquetas en otros muchos procesos como la biología vascular, la inflamación, la inmunidad o el cáncer^(7,8).

Trastornos plaquetarios congénitos

Los trastornos plaquetarios congénitos (TPC) comprenden un grupo muy heterogéneo de enfermedades raras causados por alteraciones moleculares en alguno de los genes que codifican proteínas con un papel relevante en la formación de las plaquetas (megacariopoyesis o trombopoyesis), o proteínas importantes para la estructura y función plaquetaria (receptores plaquetarios, proteínas de señalización y/o secreción, elementos del citoesqueleto..., etc.). Para una clasificación simple, los TPC se suelen agrupar en trombocitopenias hereditarias (TH), que son aquéllos en los que el defecto principal es la cifra de plaquetas en la sangre^(9,10) y trombocitopatías, que sería aquéllos donde las plaquetas tiene una función hemostática defectuosa^(11,12). Sin embargo, no son infrecuentes los TPC que combinan trombocitopenia con cierto grado de disfunción plaquetaria, y viceversa. El rasgo común de todos estos TPC es una predisposición de los enfermos al sangrado mucocutáneo, típico en alteraciones de la hemostasia primaria, aunque con una enorme variabilidad individual, incluso entre sujetos con el mismo tipo de trastorno. En algunos de estos TPC, los considerados más severos, el sangrado aparece ya en la infancia y puede ser clínicamente muy relevante (incluso de compromiso vital). Por el contrario, en otros trastornos la clínica hemorrágica puede aparecer sólo en situaciones de compromiso hemostático como tratamientos con drogas, cirugías o partos⁽¹¹⁾. Igualmente, en muchos TPC el defecto genético subya-

cente no afecta de forma exclusiva a las plaquetas, sino que también se dan anomalías en otros órganos y tejidos (alteraciones auditivas, renales, cardíacas, cognitivas, músculo-esqueléticas, fibrosis, inmunodeficiencia, etc.), son los que llamamos TPC sindrómicos⁽¹¹⁻¹⁵⁾. La prevalencia individual de los TPC no se conoce. Tradicionalmente se ha estimado en 1:10⁴ a 1:10⁶, pero es bastante aceptado que los TPC están infradiagnosticados y que globalmente estas enfermedades pueden representar hasta el 10% de los trastornos hemorrágicos.

Los TPC, particularmente en el grupo de TH, es una de las áreas de la hematología en la que se ha producido mayor innovación (introducción de nuevas ideas y tecnología) en los últimos 25 años. Así, si a principios del nuevo milenio sólo conocíamos unos pocos tipos de TPC y apenas había caracterización molecular de los enfermos, hoy reconocemos cerca de 50 tipos diferentes de TPC, fruto de la patología molecular en similar número de genes^(16,17). Este avance tan notable ha sido producto de la puesta en marcha de proyectos multicéntricos de estudio de pacientes con TPC, muchos de ellos multinacionales, la generación del uso de la biología molecular y, muy recientemente, el advenimiento fulgurante de la tecnología de secuenciación masiva (HTS)⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Pese a ello, aún estamos lejos de conocer todos los tipos de TPC y los genes implicados en estas patologías. Persiste un porcentaje relevante de pacientes en los que desconocemos su patología molecular, pero de forma continuada se están identificando nuevos genes causantes de estas enfermedades.

En la **Figura 2** se identifican las diferentes proteínas de las plaquetas, o de factores implicados en su formación, cuya alteración genética da lugar a TPC. A continuación presentamos una descripción breve los tipos más comunes y/o graves de estas trombocitopenias y trombocitopatías. Para el resto, en las **Tablas 1 a 4** se resumen los rasgos principales.

Trombocitopenias hereditarias

Como ya hemos dicho, las trombocitopenias hereditarias son un grupo muy heterogéneo de síndromes caracterizados por un defecto congénito en la cifra de plaquetas en la circulación sanguínea^(9,10). Aproximadamente el 50% de los casos son cuadros sindrómicos en los que el defecto de plaquetas se asocia, o tiene un alto riesgo de asociarse, con patologías en otros tipos celulares, órganos o tejidos, o

con enfermedad neoplásica. El resto son trombocitopenias asindrómicas en las que el defecto de plaquetas es prácticamente el único y/o más relevante rasgo clínico.

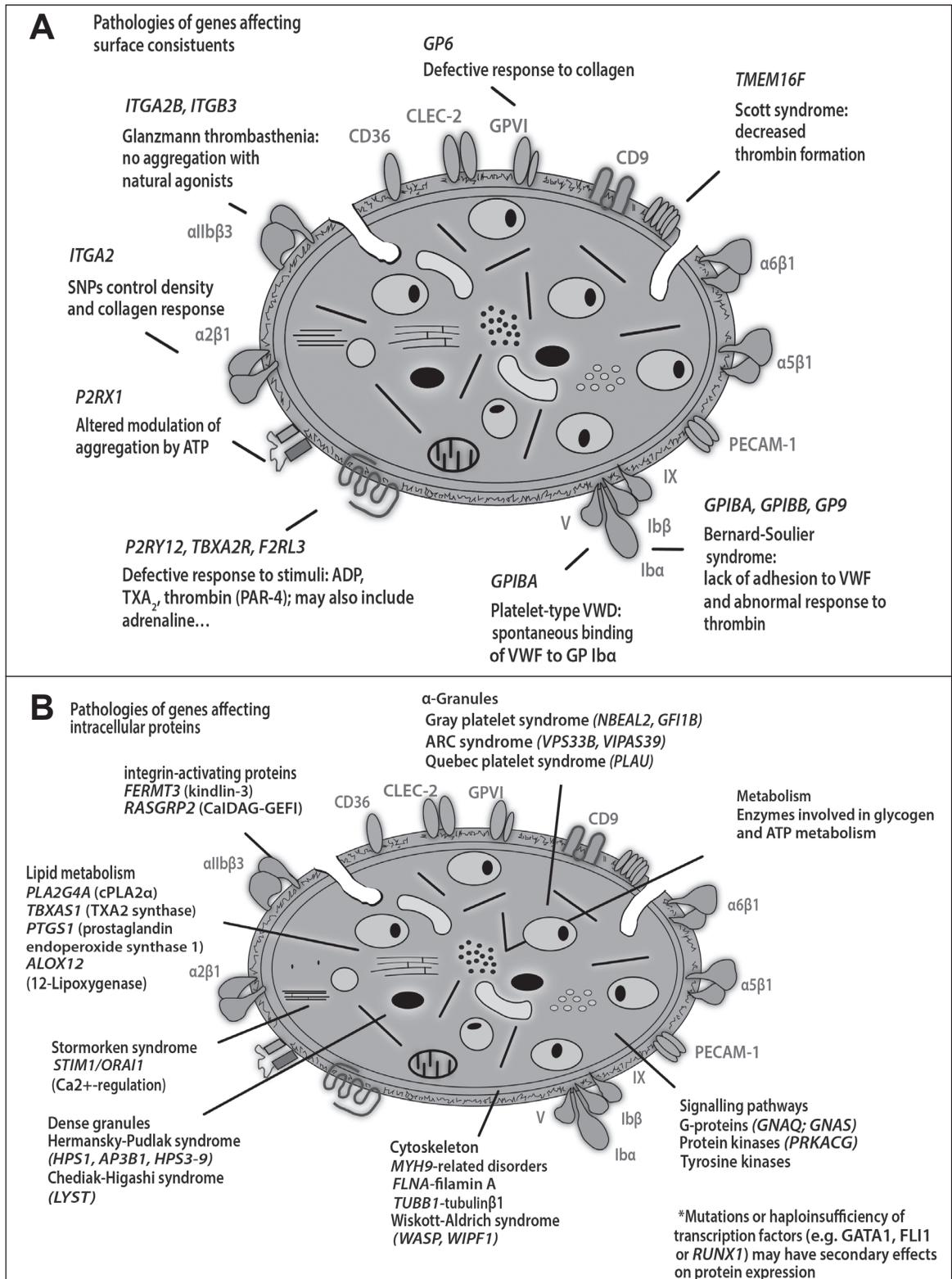


Figura 2. Trastornos plaquetarios congénitos

En la imagen A se muestran los TPC por defectos en receptores plaquetarios y en la imagen B por alteraciones en proteínas intraplaquetarias y orgánulos (Figura usada con el permiso de los autores⁽¹³⁾).

Tabla 1. Características generales de las trombocitopenias hereditarias

Nombre	Herencia	Gen	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual
TAMAÑO PLAQUETAR NORMAL			
Trombocitopenia amegacariocítica congénita	AR	<i>c-MPL</i>	Trombocitopenia neonatal muy severa, amegacariocítica; evolución a anemia aplásica en la infancia.
Trombocitopenia con sinostosis radio-cubital	AD/AR	<i>HOXA11</i> <i>MECOM</i>	Trombocitopenia neonatal moderada a severa; megacariocitos reducidos/ausentes. Sinostosis de radio y cúbito con/sin otras alteraciones esqueléticas; probable pérdida de audición neurosensorial. Fenotipo hematológico más severo en cuadro AR.
Trombocitopenia con ausencia de radio	AR	<i>RBM8A</i> Microdelección + SNP (rs139428292 o rs201779890)	Trombocitopenia neonatal central severa que mejora con la edad; ausencia bilateral del radio con/sin anomalías cardíacas o del esqueleto.
Enfermedad familiar con predisposición a leucemia mieloblástica aguda	AD	<i>RUNX1</i>	Defecto de función plaquetaria “ <i>aspirina-like</i> ”. Expresión de MYH10 en plaquetas. Alto riesgo (>40%) de síndrome mielodisplásico, leucemia mieloblástica aguda a edad temprana, o tumor sólido.
Trombocitopenia asociada a ANKRD26 (trombocitopenia tipo-2)	AD	<i>ANKRD26</i>	Tendencia hemorrágica leve, asociada a situaciones de estrés hemostático alto. Algunos pacientes con altos niveles de hemoglobina y/o leucocitosis. Aproximadamente un 10% de los pacientes adquieren neoplasias mieloides.
Trombocitopenia ligada a ETV6	AD	<i>ETV6</i>	Hematíes con alto VCM. Plaquetas con gránulos α alargados. Número elevado de células CD34+ circulantes. Predisposición a leucemia linfóide.
Trombocitopenia ligada a citocromo C (trombocitopenia tipo-4)	AD	<i>CYCS</i>	Trombocitopenia moderada y asintomática. También plaquetas de tamaño reducido.
Trombocitopenia ligada a SLFN14	AD	<i>SLFN14</i>	Trombocitopenia moderada. Defecto de secreción y gránulos densos. Aumento del número de plaquetas inmaduras.
TAMAÑO PLAQUETAR GRANDE			
Síndrome de Bernard-Soulier	AR	<i>GPIBA</i> , <i>GPIBB</i> , <i>GP9</i>	Ver Tabla 2.
Síndrome de Bernard-Soulier monoalélico o trombocitopenia mediterránea	AD	<i>GPIBA</i> , <i>GPIBB</i>	Trombocitopenia moderada (70-100 x 10 ⁹ /L) asintomática.
Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario	AD	<i>GPIBA</i>	Ver Tabla 3.
Trombocitopenia ligada a patología molecular monoalélica de <i>ITGA2B</i> o <i>ITGB3</i>	AD	<i>ITGA2B</i> e <i>ITGB3</i>	Trombocitopenia y sangrado variable. Algunos casos con fenotipo similar a trombocitopenia de Glanzmann variante. Algunas mutaciones causan activación constitutiva de la integrina α IIb β 3.
Síndrome de DiGeorge/velocardiofacial (síndrome de delección 22q11.2)	AD	<i>TBX1/GPIBB</i> Otros genes en 22q11.2	Trombocitopenia moderada; anomalías cardíacas, insuficiencia de paratiroides y timo, retraso cognitivo, dismorfia facial.

CONTINÚA EN LA PÁGINA SIGUIENTE

Síndromes de Paris-Trousseau /Jacobsen	AD	<i>FLII</i>	Malformaciones cardíacas, faciales, del tracto urinario, renales, o del sistema nervioso central; retraso mental; gránulos plaquetarios gigantes.
Trombocitopenia ligada a GATA-1	Ligada a X	<i>GATA1</i>	Diseritropoyesis con o sin anemia, b-talasemia, neutropenia. Megacariocitos displásicos. Plaquetas con déficit de gránulos y defecto de agregación.
Trombocitopenia ligada a GFI1b	AD	<i>GFI1B</i>	Hematíes con anisopokilocitosis, megacariocitos displásicos, emperipolesis. Plaquetas con déficit de gránulos a y defecto de agregación. Expresión de CD34+ en plaquetas.
Síndrome de plaqueta gris	AD	<i>NBEAL2</i>	Ver Tabla 4.
Enfermedad relacionada con MYH9	AD	<i>MYH9</i>	En algunos casos inclusiones neutrofílicas (cuerpos Döhle), pérdida audición, nefritis, cataratas; relación genotipo-fenotipo.
Trombocitopenia asociada con sitosterolemia	AR	<i>ABCG5, ABCG8</i>	Tendón y xantomas tuberosos. Aterosclerosis prematura; anemia hemolítica con estomatocitosis. También cuadro no sindrómico.
Filaminopatía	Ligada a X	<i>FLNA</i>	Heterotropía periventricular nodular. Anormalidades esqueléticas, retraso mental, distrofia válvulas cardíacas, obstrucción intestinal, displasia ósea; también puede ser trombocitopenia no sindrómica.
Trombocitopenia asociada a tubulina-β1	AD	<i>TUBB1</i>	Trombocitopenia y disfunción plaquetaria moderada.
Trombocitopenia asociada a actinina-1	AD	<i>ACTN1</i>	Trombocitopenia y disfunción plaquetaria moderada.
Trombocitopenia asociada a DIAPH1	AD	<i>DIAPH1</i>	Trombocitopenia muy moderada (incluso ausente); neutropenia moderada sin aparente riesgo infeccioso alto; sordera neosensorial precoz.
Trombocitopenia asociada a PRKACG	AR	<i>PRKACG</i>	Macrotrombocitopenia severa. Defecto de fosforilación de proteínas (filamina A, GPIIb dependiente de PKA).
Trombocitopenia asociada a SCR	AD	<i>SCR</i>	Trombocitopenia moderada (plaquetas grandes y también pequeñas), defecto de gránulos a, mielofibrosis y edentulismo precoz, dismorfia facial. Cifra alta de megacariocitos, con rasgos inmaduros como núcleos hipolobulados.
Trombocitopenia asociada trastorno de keratinización	AR	<i>KDSR</i>	Trombocitopenia moderada a severa, con tamaño plaquetar discretamente aumentado. Hiperkeratosis palmoplantar y/o anogenital y/o ictiosis tipo arlequín. Defecto en síntesis de dihidroesfingosina y subsiguiente alteración de la síntesis de ceramidas.
TAMAÑO PLAQUETAR PEQUEÑO			
Síndrome de Wiskott-Aldrich	Ligada a X	<i>WAS</i>	Trombocitopenia severa (5-50 x 10 ⁹ /L). Inmunodeficiencia, eccema, trastornos linfoproliferativos y autoinmunes.
Trombocitopenia ligada al cromosoma X	Ligada a X	<i>WAS</i>	Forma leve de Wiskott-Aldrich. Posible inmunodeficiencia moderada.
Trombocitopenia ligada a ADAP	AR	<i>FYB</i>	Hiperactivación plaquetaria basal. Defecto de activación de aIIbβ3. Defecto de maduración de megacariocitos.

AD: autosómica dominante; **AR:** autosómica recesiva

Tabla 2. Trombocitopatías por defecto de receptores de membrana

Receptor	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
Ib/IX/V	Síndrome de Bernard-Soulier (SBS)	Trombocitopenia moderada a severa y plaquetas gigantes. PFA-100 > 300s. Ausencia de LTA con ristocetina, no corregible con plasma; LTA normal con otros agonistas. Defecto de adhesión a FvW. Ausencia o disminución de GPs Iba, Ibb y IX por citometría de flujo (SBS clásico). En homocigotos clínica hemorrágica moderada a grave desde la infancia (epistaxis, púrpura, sangrado gingival, menorragia). Sangrado excesivo grave en situaciones de riesgo (partos, cirugía, intervenciones dentales, ingesta de aspirina). Heterocigotos asintomáticos.	AR	<i>GPIBA</i> , <i>GPIBB</i> , <i>GP9</i>
	Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario (EVW-TP)	Macrotrombocitopenia más moderada que en SBS. Adhesión al FvW anormalmente alta; agregados de plaquetas en frotis sanguíneo. Hiperagregación con dosis bajas de ristocetina. Expresión normal o moderadamente reducida de GPs Iba por citometría de flujo. Agregación de plaquetas lavadas inducible con crioprecipitado (no en EVW tipo 2B). Ausencia de multímeros de alto peso molecular (como en EVW 2B). Sintomatología hemorrágica cutáneo-mucosa o sangrado tras cirugía.	AD	<i>GPIBA</i>
$\alpha_{Ib}\beta_3$	Trombastenia de Glanzmann (TG)	Recuento y morfología plaquetaria normal. PFA-100 > 300s. LTA ausente o severamente reducida con todos los agonistas (ADP, TxA ₂ , colágeno, trombina,). LTA con ristocetina normal o 2ª onda reducida. Ausencia o disminución de $\alpha_{Ib}\beta_3$ demostrable por citometría de flujo: tipo I <5%; tipo II 10-20%; TG variante incluso >50% de $\alpha_{Ib}\beta_3$ no funcional. Retracción de coágulo ausente o severamente reducida. Clínica hemorrágica similar al SBS.	AR	<i>ITGA2B</i> , <i>ITGB3</i>
P2Y ₁₂	Defecto de receptor de ADP	Recuento y morfología plaquetaria normal. Cambio de forma con ADP normal. LTA severamente disminuida con ADP. Con otros agonistas normal o 2ª onda reducida. Ausencia de inhibición con ADP de la síntesis de AMPc inducida con PGE ₁ . Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	<i>P2RY12</i>
TxA ₂ -R (TPa)	Defecto de receptor de TxA ₂	Recuento y morfología plaquetaria normal. LTA severamente disminuida con ácido araquidónico o análogos de TxA ₂ como U46619 o STA ₂ . Normal con otros agonistas o 2ª onda reducida. Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	<i>TBXA2R</i>
GPVI	Defecto de receptor de colágeno	Recuento y morfología plaquetaria normal. LTA severamente disminuida con colágeno y normal con otros agonistas. Defecto de activación por colágeno y agonistas de GPVI como convulxina. Sin clínica hemorrágica espontánea o muy moderada. Sangrado anormal asociado a ingesta de antiagregante, intervenciones dentales, u otras situaciones de riesgo hemorrágico.	AR	<i>GP6</i>

AD: autosómica dominante; **AR:** autosómica recesiva; ; **LTA:** agregación plaquetaria;

FvW: factor von Willebrand; **GP:** glicoproteínas; **EvW:** enfermedad de von Willebrand; **ADP:** adenosin difosfato; **P2Y₁₂:** receptor de ADP P2Y₁₂; **TxA₂:** tromboxano A₂

Tabla 3. Trombocitopatías por defecto de gránulos plaquetarios

Gránulos	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
α y δ	Déficit de gránulos idiopático	Recuento plaquetario normal o discretamente disminuido. Morfología plaquetaria normal. Defecto de gránulos- δ y/o α por microscopía electrónica. LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de liberación de proteínas granulares por citometría de flujo. Clínica hemorrágica ausente o muy moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto.	AR/AD	Nc
α	Síndrome de plaqueta gris (SPG)	Trombocitopenia moderada (30-100 x 10 ⁹ /L). Plaquetas grandes y grisáceas. LTA normal o reducida con agonistas débiles/bajas dosis (colágeno, ADP, epinefrina, trombina). En algunos pacientes defecto selectivo de GPVI y activación por colágeno. Defecto de proteínas α -granulares por ensayos bioquímicos (b-TG, PDGF, etc.). Ausencia selectiva de gránulos α demostrable por microscopía electrónica de sección fina. Mielofibrosis precoz; clínica hemorrágica leve, normalmente asociada a situaciones de riesgo (ingesta de antiagregantes intervenciones dentales, cirugía, partos, traumas.), esplenomegalia ocasional.	AR/AD	<i>NBEAL2</i> <i>GFI1B</i>
	Síndrome de Quebec (SQ)	Trombocitopenia moderada (\approx 100 x 10 ⁹ /L), morfología normal. LTA ausente o reducida con epinefrina y normal con otros agonistas. Defecto de actividad plaquetaria procoagulante. Actividad fibrinolítica aumentada. Defecto de proteínas α -granulares por CF (selectina-P, factor V). Clínica hemorrágica cutáneo-mucosa, o visceral, y sangrado post-cirugía. Respuesta a anti-fibrinolíticos. No respuesta a transfusiones de plaquetas.	AD	<i>PLAU</i>
δ	Síndrome de Hermansky-Pudlak (SHP)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Defecto selectivo de gránulos- δ por microscopía electrónica. LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de captación de serotonina marcada radiactivamente, y de captación de mepacrina y liberación de CD63 por CF. Albinismo oculocutáneo; acumulación de material ceroide tipo lipofucina en células del sistema mononuclear fagocítico.; Fibrosis pulmonar; colitis granulomatosa.	AR	<i>HPS1</i> a <i>HPS10</i>
	Síndrome de Chediak-Higashi (SCH)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Defecto de gránulos- δ por microscopía electrónica. LTA reducida y/o ausencia de 2ª onda con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de captación de serotonina y mepacrina y de liberación de CD63 por CF. Albinismo oculocutáneo, gránulos lisosomales gigantes peroxidasa-positivos en neutrófilos y otras células no hematopoyéticas; disfunción inmune, neutropenia, función quimiotáctica, bactericida y de células NK disminuida; infecciones frecuentes; fase acelerada linfoproliferativa en la forma infantil con alta mortalidad antes de los 10 años.	AR	<i>LYST</i>
	Síndrome de Griscelli (SG)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Defecto de gránulos- δ como en SHP y SCH. Albinismo, pelo plateado, defectos neurológicos, linfocitosis, función citotóxica de células NK y linfocitos-T disminuida.	AR	<i>RAB27</i> , <i>MYO5A</i> <i>MLPH</i>

AD: autosómica dominante; **AR:** autosómica recesiva; **Nc:** no conocido; **LTA:** agregación plaquetaria;

CF: citometría de flujo; **β -TG:** β - tromboglobulina; **PDGF:** factor de crecimiento derivado de las plaquetas

Tabla 4. Otras trombocitopatías

Defecto de	Denominación	Fenotipo clínico y de laboratorio habitual	Herencia	Genes
Transmisión de señales de activación	Déficit de enzimas de las vía de TxA2	Recuento y morfología plaquetaria normal. Ocasionalmente trombocitopenia moderada. LTA selectivamente reducida con ácido araquidónico y normal con análogos de TxA2 como U46619. Reducida con agonistas débiles/bajas dosis (ADP, epinefrina, colágeno). Defecto de generación de TxA2 en suero. Clínica hemorrágica ausente o moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto.	AR	<i>PTGS1</i> <i>TBXAS1</i> <i>PLA2G4A</i>
	Déficit de proteínas Ga (Gi, Gq, Gs, Gz)	Recuento y morfología plaquetaria normal. Hiperfunción Gs puede asociarse discreta macrotrombocitopenia y trastornos neurológicos. LTA y secreción reducida en respuesta a múltiples agonistas solubles. Clínica hemorrágica moderada y normalmente asociada a situaciones de riesgo hemorrágico alto.	-	<i>GNAS</i> <i>GNAQ</i> <i>GNAZ</i> <i>GNAI1</i>
	Defecto de CalDAG-GEF1	Recuento y morfología plaquetaria normal. Defecto de LTA y secreción con agonistas débiles. Defecto de activación de integrina αIIb3 con agonistas débiles (déficit de unión a fibrinógeno, PAC-1). Respuesta a PMA normal o moderadamente reducida. Clínica hemorrágica variable (moderada a severa).	AR	<i>RASGRP2</i>
Actividad procoagulante	Síndrome de Scott	Recuento y morfología plaquetaria normal. Disminución de la generación de micropartículas y de expresión plaquetaria de anexina V post-activación demostrable con citometría de flujo. Formación y retracción de coágulo anormal. Sangrado significativo en situaciones de riesgo (parto, intervenciones dentales).	AR	<i>ANO6</i>
	Síndrome de Stormorken	Alta expresión sistémica de anexina V en plaquetas. Formación y retracción de coágulo anormal; trombocitopenia, disfunción plaquetaria, asplenia, anemia leve, miopatía, miosis congénita y migraña. Sangrado significativo en situaciones de riesgo (parto, intervenciones dentales).	AD	<i>STIM1</i> <i>ORAI</i>

AD: autosómica dominante; *AR*: autosómica recesiva; *Nc*: no conocido;
LTA: agregación plaquetaria; *TxA2*: tromboxano A₂

Trombocitopenias sindrómicas

Trombocitopenia congénita amegacariocítica (CAMT)

Se trata de un cuadro de fallo medular raro que se presenta como trombocitopenia hipomegacariocítica al nacimiento sin otras características físicas. La mayoría de los pacientes desarrollan una anemia aplásica severa y citopenia trilineal durante los primeros años de vida. Esto es un indicador del papel de la trombopoyetina (TPO) en la diferenciación de progenitores hematopoyéticos⁽²¹⁾.

La CAMT es un trastorno autosómico recesivo y se debe a mutaciones en el gen *c-MPL* que causan la expresión de un receptor de TPO disfuncional. Existe una correlación entre genotipo y fenotipo, de manera que las mutaciones sin sentido exhiben el patrón más agresivo con una rápida progresión a una

médula hipocelular durante la primera década de la vida, mientras que los pacientes con mutaciones de cambio de aminoácido, en los que continúa existiendo una actividad residual de MPL, pueden mostrar un incremento temporal de las cifras de plaquetas y desarrollar más tardíamente anemia o pancitopenia^(21,22).

A diferencia de otras trombocitopenias detectadas en periodos perinatales, los niveles plasmáticos de TPO en este defecto pueden ser más de 10 veces superiores a los normales.

La importancia del eje MPL-TPO en la hematopoyesis es resaltada por la reciente identificación de una familia con aplasia medular recesiva causada

por una mutación de pérdida de función en el gen *THPO* que codifica la TPO. El trasplante de progenitores hematopoyéticos es la única opción curativa en enfermos con CAMT⁽²²⁾.

Trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) y trombocitopenia amegacariocítica con sinostosis radiocubital (RUSAT).

La TAR es un cuadro que se presenta en el recién nacido como trombocitopenia severa con VPM normal y reacción leucemoide. En general el número de plaquetas tiende a aumentar desde el primer año de vida, y la edad adulta puede incluso normalizarse. Se puede acompañar de anomalías cardíacas, renales, de extremidades inferiores y malformaciones del SNC. La base molecular de la TAR es una curiosa herencia recesiva combinada de un polimorfismo regulador de baja frecuencia en el gen *RBM8A* (rs139428292 o rs20177989) y de una microdeleción en 1q21.1 que incluye a *RBM8A*. La consecuencia es una haploinsuficiencia de Y14, proteína implicada en el procesamiento del RNA. Las variantes moleculares en *RBM8A* pueden afectar su interacción con el factor de transcripción represor EV11, lo que a su vez altera la señalización del eje trombopoyetina/Mpl (señalización aberrante de JAK2) causando un defecto de diferenciación y maduración de los megacariocitos. Es menos frecuente la trombocitopenia amegacariocítica con sinostosis radiocubital (RUSAT), un trastorno caracterizado por fusión proximal del radio y del cúbito, con trombocitopenia amegacariocítica congénita con VPM normal. Los pacientes que presentan alelos nulos pueden evolucionar a aplasia medular trilineal. Se transmite como rasgo autosómico dominante causado por mutaciones muy raras en los genes que codifican los factores de transcripción HOXA11 y MECOM, que ocasionan un defecto en diferenciación de los megacariocitos^(9,22).

Síndromes velocardiofacial o de DiGeorge, Paris-Trousseau y síndrome de Jacobsen

Los síndromes de DiGeorge y velocardiofacial se asocian, aparte de la trombocitopenia, con malformaciones cardíacas marcadas, retraso cognitivo y de aprendizaje, dismorfia facial, insuficiencia de paratiroides, que resulta en hipocalcemia, y de timo, que lleva a un déficit de linfocitos T y a defectos inmunitarios. Están causados por una microdeleción

intersticial monoalélica del brazo largo del cromosoma 22 (del22q11.2), que es, tras el síndrome de Down, la segunda causa más frecuente de enfermedad por desbalance genético con una prevalencia estimada de 1/4000 nacimientos vivos. En el 10 a 20% de los casos, la microdeleción 22q11 se transmite de forma autosómica dominante, pero en la mayor parte de casos la anomalía cromosómica aparece de novo. Los genes principales afectados por esta microdeleción 22q11 son *TBX1*, que codifica un factor de transcripción implicado en procesos clave de la diferenciación embrionaria de órganos, y el gen *GPIBB* que codifica la GP IbB del complejo GPIb/IX/V, principal receptor plaquetario del factor de Von Willebrand^(22,23).

Los síndromes de Paris-Trousseau y de Jacobsen son cuadros clínicos relacionados que comparten los rasgos de macrotrombocitopenia, tendencia hemorrágica moderada y variable, disfunción plaquetar, retrasos de crecimiento y mental, y anomalías faciales y cardíacas. Estas últimas anomalías son mucho más notorias en el síndrome de Jacobsen. Una proporción de las plaquetas pueden presentar, además del tamaño aumentado, gránulos gigantes, déficit de gránulos densos y defecto de secreción con trombina. Estos defectos cualitativos y cuantitativos de las plaquetas pueden mejorar con la edad. Estas enfermedades se deben a anomalías moleculares en el gen *FLII*, que codifica Fli-1, un factor de transcripción de la familia ETS importante en la megacariopoyesis. Fli-1 regula la expresión de diferentes genes relevantes en megacariocitos y plaquetas como *ITGA2B*, *GP1BA*, *GP9*, *c-MPL*, o *PF4*. En la mayoría de pacientes descritos con síndrome de Jacobsen y Paris-Trousseau asociado, se da una hemicigosis de *FLII* por deleción de parte del brazo largo del cromosoma 11. Una consecuencia funcional de la deficiencia de Fli-1, y también del defecto en RUNX-1 [ver abajo], es la persistencia anormal de expresión de la proteína MYH10 en la línea megacariocítica^(22,24).

Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)

Es una enfermedad de herencia ligada al cromosoma X que afecta casi exclusivamente a varones. Se caracteriza por microtrombocitopenia moderada a severa (volumen plaquetario medio [VPM]: 3,5-5 fL vs. normal 7-11 fL; plaquetas entre 5 y 50

$\times 10^9/L$), inmunodeficiencia humoral y celular, eczema, alergia, infecciones recurrentes y enfermedades autoinmunitarias o tumorales.

El WAS se debe a patología molecular en el gen *WAS* (Xp11.22), que codifica la proteína WASP y que se expresa principalmente en linfocitos y megacariocitos. El diagnóstico definitivo se alcanza mediante análisis genético de *WAS* y la cuantificación de la proteína WASP. Se han descrito unas 300 mutaciones distintas en pacientes con *WAS*, y se ha observado que la severidad clínica de la enfermedad es, en parte, predecible por el genotipo. Las mutaciones con efecto severo en la expresión/funcionalidad de WASP ocasionan un fenotipo más severo. En estos casos graves (trombocitopenia, eczema, severo, infecciones graves frecuentes y/o enfermedad inmune), la vida media de los pacientes ronda los 20 años, siendo la causa más frecuente de exitus los linfomas inducidos por virus de Epstein-Barr, pudiéndose producir también muerte por las infecciones asociadas o por hemorragias. En el espectro clínico de la enfermedad se incluye la trombocitopenia ligada al cromosoma X (XLT) crónica o intermitente, una forma relativamente leve de WAS, y la neutropenia ligada al cromosoma X (XLN), debida a un paro madurativo de la mielopoiesis.

El tratamiento del WAS abarca desde inmunoglobulinas profilácticas, transfusiones de concentrados de hemáties y plaquetas en caso de sangrados, tratamiento con agonistas del receptor de trombopoyetina, hasta, en casos graves, intervenciones curativas como el trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos. La terapia génica es una opción en fase de ensayos clínicos en pacientes, principalmente niños, sin un donante compatible⁽²⁵⁾.

Enfermedad relacionada con el gen *MYH9* (MYH9-RD)

Se trata de la causa más común de trombocitopenia hereditaria en todo el mundo, e incluye las anomalías antes conocidas como síndromes de May-Hegglin, Fechtner, Sebastian y Epstein.

El MYH9-RD es una patología autosómica dominante debida alteraciones en el gen *MYH9* que codifica la cadena pesada IIA de una miosina no muscular (proteína NMM-IIA), implicada en la contractilidad del citoesqueleto. Además de macrotrombocitopenia y tendencia hemorrágica moderada, los pacientes pueden presentar, de forma heterogénea, inclusiones nucleofílicas, cataratas, sordera o enfer-

medad renal. Así, en el diagnóstico es muy relevante examinar la sangre periférica para detectar plaquetas gigantes (cifras de entre 30 y 100 $\times 10^9/L$) y cuerpos de inclusión en neutrófilos (similares a los cuerpos de Döhle). Las inclusiones neutrofilicas pueden ser más evidentes mediante tinción con inmunofluorescencia para agregados de NMM-IIA.

El número de pacientes diagnosticados de MYH9-RD es actualmente muy alto. Se han identificado unas 80 mutaciones y se ha mostrado una buena correlación entre el genotipo *MYH9* y el fenotipo clínico (gravedad de la trombocitopenia, sangrado y complicaciones sindrómicas). Por ello, el diagnóstico genético precoz es fundamental para establecer el pronóstico y el manejo adecuado de los enfermos. Los individuos con enfermedades relacionadas con *MYH9* no suelen requerir transfusiones sanguíneas, excepto si van a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos, y el riesgo fundamental es la aplicación de tratamientos inadecuados, al confundir estos cuadros con trombocitopenia inmunitaria primaria (PTI). En casos seleccionados pueden ser útiles los agonistas del receptor de la trombopoyetina^(15,22,26).

Trombocitopenia asociada a *ANKRD26* (ANKRD-RT), enfermedad plaquetaria familiar con predisposición a leucemia mieloblástica aguda (EPFPLM) y trombocitopenia ligada a *ETV6* (ETV6-RT).

Estos tres tipos de trombocitopenias hereditarias comparten el hecho de que la tendencia hemorrágica puede no ser un problema mayor, salvo que coincida con situaciones de estrés hemostático como cirugía o parto, pero en cambio se ha demostrado que los individuos afectados sufren un riesgo incrementado de sufrir neoplasias mieloides (LMA). Por ello, el diagnóstico genético precoz de estos pacientes es muy importante para su pronóstico y seguimiento clínico^(22,27).

La ANRKR26-RT, junto a MYH9-RD y el síndrome de Bernard-Soulier monoalélico (ver abajo), está en la terna de trombocitopenias hereditarias más frecuentes, pero a diferencia de ellas el VPM es normal. Los pacientes afectados también pueden presentar un defecto moderado de gránulos densos, y algunos muestran niveles de hemoglobina y/o leucocitosis. Este tipo de trombocitopenia autosómica dominante está causada por mutaciones (unas 25 distintas) en una región de 22 nucleótidos del extremo 5'UTR

del gen *ANKRD26* (gen con repeticiones en dominio de ankirina ubicado en 10p11-12). Estas mutaciones parecen afectar la unión en esta zona del gen de factores de transcripción como RUNX-1 y FLI1, encargados normalmente de inhibir la expresión de *ANKRD26*. La expresión aberrante de *ANKRD26* en los megacariocitos causa hiperactivación de las vías de señalización de MPL afectando la formación normal de plaquetas. En el estudio medular muestra megacariocitos pequeños e hipolobulados, sugerente de un defecto de maduración. Se ha demostrado que aproximadamente un 8% de los individuos ANKRD26-RT sufren neoplasias mieloides (LMA)^(27,28).

La EPFPLMA es un trastorno autosómico dominante causado por mutaciones en el gen *RUNXI*, que codifica un factor de transcripción esencial en la hematopoyesis que regula el balance entre proliferación y diferenciación de las células madre. Muchos pacientes con EPFPLMA, pero no todos, tienen recuentos plaquetarios moderadamente bajos o defectos de funcionalidad plaquetaria similar a aspirina^(3,4). Se han identificado cerca de 50 familias con EPFPLMA, pero posiblemente el diagnóstico de esta enfermedad está subestimado. Muchos casos son diagnosticados inicialmente de trombocitopenia inmune y posteriormente recatalogados como síndromes mielodisplásicos (SMD). La incidencia de SMD/LMA en esta patología se estima en un 40%, con una mediana de edad de 35 años⁽²⁷⁾. Se han identificado unas 40 mutaciones en *RUNXI*. Muchas son mutaciones sin sentido o deleciones que causan haploinsuficiencia de RUNX-1, pero también se han descrito mutaciones de cambio de aminoácido (*missense*) que tiene un efecto dominante negativo. Estas últimas parecen asociarse a un mayor riesgo de malignidad. La relación del genotipo con el riesgo leucémico aumenta la importancia de establecer lo antes posible el diagnóstico de los pacientes^(3,4,29). Como se mencionó arriba, la deficiencia en RUNX-1 resulta en la expresión aberrante de MYH10 en plaquetas, y su detección se podría usar como biomarcador de esta enfermedad.

Por último en este grupo, la ETV6-RT está causada por la patología molecular de *ETV6*. Este actor de transcripción también está implicado en megacariopoyesis (**Figura 1**) y actúa principalmente reprimiendo la expresión de genes relevantes en plaquetas como *PF4* y *MMP3*, así como la actividad de otros factores de transcripción como Fli-1. La

trombocitopenia en los pacientes es variable, severa a moderada, y las plaquetas muestran alteraciones morfológicas, gránulos α alargados y un defecto de adhesión-extensión. Adicionalmente, los pacientes presentan niveles circulantes elevados de células CD34+. Como en los dos tipos anteriores de trombocitopenia, la mayor relevancia clínica de esta enfermedad radica en que también predispone al desarrollo de neoplasias hematológicas, principalmente leucemia linfóide, con una incidencia que alcanza el 25%. Se han descrito hasta la fecha unas 20 familias con este tipo de trombocitopenia y en algunas series representa hasta el 5% de casos de trombocitopenias congénitas. Pero es muy posible que muchos pacientes no estén identificados por ser clínicamente asintomáticos^(27,30).

Trombocitopenias relacionadas con anomalías congénitas en otros factores de transcripción: GATA-1 y GFI-1b

Un tipo de trombocitopenia familiar asociada, no uniformemente en todos los enfermos, a diseritropoyesis, anemia, reticulocitosis y síntesis de globinas mal balanceada que asemeja una talasemia *minor* (β -talasemia), es debida a patología molecular en *GATA-1*. El factor de transcripción GATA-1, de la familia de factores GATA, se expresa ampliamente en hematíes, megacariocitos, eosinófilos y mastocitos, y es un regulador clave de la eritropoyesis y megacariopoyesis (**Figura 1**). Como enfermedad ligada al cromosoma X, debe sospecharse en varones con trombocitopenia severa, plaquetas normales-grandes, anemia moderada con morfología atípica de hematíes, y médula ósea hipercelular. Las mujeres pueden resultar también afectadas si existe una inactivación clonal del cromosoma X. Hasta la fecha, se han descrito menos de una decena de mutaciones causantes del síndrome, con un efecto variable en el fenotipo clínico, en función del tipo de variante (tipo de cambio de aminoácido, alteración del empalme) y de su efecto en la interacción de GATA-1 con su cofactor FOG1 o con sus genes diana (*GP1BA*, *GP1BB*, *ITGA2B*, *GP9*, *PF4*, *c-MPL*, y *NF-E2* entre otros)^(4,31).

Otro factor de transcripción relevante en la hematopoyesis normal y en particular el desarrollo de las líneas eritroide y megacariocítica, es GFI-1b. Mutaciones en su gen codificante *GFI1B*, se han identificado en pacientes raros (unas 10 familias no relacionadas) como causa de un nuevo tipo de

macrotrombocitopenia congénita moderada. Los pacientes afectados muestran una clínica hemorrágica variable, y plaquetas con déficit de gránulos α , defectos de agregación, expresión elevada de CD34+, hematíes con anisopokilocitosis. En la biopsia ósea de algunos casos se distingue fibrosis y emperipolesis con neutrófilos dentro de los megacariocitos. La localización y tipo de mutación en *GF1B* parece ser relevante en el fenotipo clínico^(3,4,31).

Trombocitopenias asindrómicas

Síndrome de Bernard-Soulier monoalélico (SBSm)

El SBSm es una forma relativamente frecuente de macrotrombocitopenia moderada ($\approx 100 \times 10^9/L$) en el sur de Europa y sobre todo en Italia, que se detecta generalmente en análisis rutinarios de sujetos asintomáticos. Esta patología, antes conocida como macrotrombocitopenia mediterránea, está frecuentemente causada por unas pocas mutaciones heterocigotas dominantes en los genes *GPIBA* (4 mutaciones; responsable de la mayoría de casos descritos) y *GPIBB* (2 variantes), los cuales codifican respectivamente las subunidades Iba y Ib β del complejo IB/IX/V^(32,33). Entre estas variantes genéticas, la variante Bolzano (c. 515 C>T; p. A172V) es la más frecuente sobre todo en Italia debido a un efecto fundador. En homocigosis, esta mutación da lugar al síndrome de Bernard-Soulier (SBS) clásico, una de las trombocitopatías/trombocitopenias clínicamente más severas (ver abajo).

Trombocitopenias asindrómicas relacionadas con alteraciones en componentes del citoesqueleto

La patología congénita de algunas proteínas claves en la organización/funcionalidad del citoesqueleto plaquetario afecta a la liberación de las plaquetas en el último estadio de la trombopoyesis. En algunos casos da lugar a trombocitopenias congénitas sindrómicas, como WAS y enfermedad asociada a *MYH9* (comentados arriba), filaminopatías (mutaciones en *FLNA* que codifica la filamina A), o sordera neurosensorial precoz por mutaciones en el gen *DIAPH1*. En otros casos la afectación de componentes clave del citoesqueleto se asocia a trombocitopenias esencialmente asindrómicas. Se integran aquí las trombocitopenias causadas por mutaciones heterocigotas en los genes que codifican la tubulina $\beta 1$ (*TUBB1*) o la actinina-A (*ACTN1*). Estudios recientes en series grandes de pacientes, han mostrado que se tratan de

trombocitopenias bastante frecuentes, representando un 5-10% de los casos^(10,22,34).

Otras trombocitopenias asindrómicas

Se encuadran aquí las trombocitopenias por patología molecular monoalélica en *ITGA2B* o *ITGB3*, la asociada a *PRKACG*, la trombocitopenia tipo 4 o ligada a citocromo C, o la trombocitopenia por mutaciones en *SLFN14*^(10,22,34).

Trombocitopatías hereditarias

Este segundo gran grupo heterogéneo de enfermedades plaquetarias hereditarias se caracteriza por un funcionalismo anormal de las plaquetas asociado o no con trombocitopenia. Su diagnóstico precoz es relevante para prevenir el sangrado asociado a situaciones de alto riesgo hemorrágico -como intervenciones dentales, cirugías o parto- y para evitar tratamientos médicos y farmacológicos inapropiados^(11,12,35). El diagnóstico de las trombocitopatías requiere una investigación clínica exhaustiva, un estudio de laboratorio con pruebas generales de bioquímica y coagulación, hemograma y frotis, con especial atención a la cifra de plaquetas y su morfología, así como el análisis del funcionalismo de las plaquetas con distintas pruebas⁽³⁵⁻³⁷⁾. La confirmación del diagnóstico se alcanza con la identificación de las variantes genéticas patogénicas en los genes responsables, algo que actualmente se aborda mediante secuenciación de alto rendimiento o HTS (antes NGS)^(19,20,38).

Las trombocitopatías se suelen clasificar, entre otros criterios, según el tipo de elemento funcional:

- i) defectos de los receptores de membrana plaquetaria;
- ii) defectos de los gránulos;
- iii) defectos de la transmisión de señales de activación;
- iv) otros defectos.

A continuación comentamos brevemente las principales trombocitopatías.

Defectos de los receptores de membrana

Patología del complejo Ib/IX: síndrome de Bernard-Soulier (SBS) y enfermedad de von Willebrand de tipo plaquetario (EVW-TP)

El SBS es uno de los trastornos plaquetarios más severos y más estudiados, caracterizado por trombo-

citopenia moderada o severa y plaquetas gigantes y disfuncionales. La alteración de laboratorio singular del SBS es la ausencia de aglutinación plaquetaria con ristocetina, que no se corrige con plasma normal, a diferencia de una enfermedad de von Willebrand (EVW) severa. Por el contrario, la agregación con otros agonistas como ADP, colágeno o trombina, etc. es normal. La citometría de flujo permite la demostración rápida del déficit selectivo del receptor Ib/IX/V y del aumento del VPM.

El SBS se debe a mutaciones recesivas en los genes *GPIBA*, *GPIBB* y *GP9*, que codifican las glicoproteínas (GP) Ib α , Ib β , IX, respectivamente, del receptor adhesivo Ib/IX/V. Se han descrito más de 100 mutaciones diferentes que causan la ausencia del complejo Ib/IX/V en las plaquetas (SBS clásico) o, en casos excepcionales, la expresión de un receptor no funcional (SBS variante)⁽³²⁾.

El SBS debe distinguirse lo antes posible de otras macrotrombocitopenias y, sobre todo, de la PTI para evitar terapias inadecuadas o la esplenectomía que se ha aplicado en el pasado a muchos de estos enfermos^(32,35).

Por otra parte, la EVW-TP se debe a mutaciones muy raras en el gen *GPIBA*, cinco mutaciones de cambio de aminoácido y una extraña deleción de 9 aminoácidos, que provocan la expresión de un receptor Ib/IX/V con una afinidad anormalmente alta por el FVW. Esto se traduce en hipersensibilidad plaquetaria al antibiótico ristocetina, y en una razón baja entre la actividad funcional y el nivel antigénico del FVW plasmático (FVW:RCo/FVW:Ag <0,6), reflejo de la pérdida de los multímeros de FVW de alto peso molecular. El diagnóstico diferencial con la enfermedad de von Willebrand (EVW) de tipo IIB es muy importante, dado que ambas patologías tienen fenotipos clínico y de laboratorio similares pero requieren tratamientos distintos⁽³⁹⁾.

Anormalidades del receptor de fibrinógeno α Ib β 3: trombostenia de Glanzmann

La integrina α Ib β 3 es el principal receptor plaquetario del fibrinógeno (Fg) y la principal responsable de soportar el proceso de la agregación plaquetaria durante la respuesta hemostática. Alteraciones moleculares recesivas en los genes *ITGA2B* e *ITGB3*, que codifican el complejo α Ib β 3, ocasionan la trombostenia de Glanzmann (TG), cuadro severo conocido desde hace más de un siglo. Los pacien-

tes con TG presentan un recuento y una morfología plaquetaria normales, así como un defecto severo de agregación con múltiples agonistas (ADP, colágeno, ácido araquidónico y trombina), mientras que la aglutinación con ristocetina es normal o moderadamente disminuida en su segunda onda. La citometría de flujo permite una demostración del déficit del receptor α Ib β 3^(35,36). En función de la severidad del defecto cuantitativo de α Ib β 3 se definen tres tipos de TG: i) tipo I, con ausencia total (< 5%) de α Ib β 3; ii) tipo II, con un 10-20% de α Ib β 3 residual; y iii) TG variante, con expresión (> 50%) de α Ib β 3 no funcional.

Se han descrito unas 200 mutaciones distintas (deleciones, inserciones, mutaciones puntuales, etc.) en unos 200 pacientes, y estas cifras crecen constantemente^(40,41). La TG clásica es un trastorno autosómico recesivo, por lo que sólo los enfermos con TG homocigotos presentan desde la infancia clínica de sangrado mucoso-cutáneo de moderado a severo, mientras que los sujetos heterocigotos suelen ser asintomáticos. Sin embargo, se ha identificado algunas mutaciones heterocigotas en *ITGA2B* e *ITGB3* con un efecto dominante negativo que causan TG^(42,43). Además, recientemente se han identificado algunas mutaciones heterocigotas en *ITGA2B* e *ITGB3* como causa de macrotrombocitopenia moderada de herencia dominante^(9,22).

Anomalías de otros receptores de membrana plaquetaria

Las plaquetas tienen en su membrana, además de Ib/IX/V y α Ib β 3, receptores de otras proteínas adhesivas (colágeno, fibronectina, etc.) y agonistas solubles (ADP, tromboxano A2 [TxA2], trombina, etc.), que participan activamente en la reactividad plaquetaria y en la formación de trombo⁽⁶⁾. En general, los defectos congénitos de estos receptores son menos graves que los del SBS o la TG, pero también pueden incrementar el riesgo hemorrágico. Así, se han descrito pacientes raros, menos de una decena, con sangrado moderado y fallo selectivo de la adhesión y activación plaquetaria por colágeno, debido a mutaciones en el gen GP6 que codifica el receptor de colágeno GPVI. También se han identificado algunos pacientes con diátesis hemorrágica asociada a defectos genéticos en los receptores P2Y12 (uno de los receptores plaquetarios de ADP) y TP α o TPXA2R (receptor del TxA2)^(12,38,44-46).

Defectos congénitos de gránulos plaquetarios

Las plaquetas tienen gránulos α (50-100) y δ (5-10) cuyo contenido (α : factor plaquetario 4 [PF4], β -tromboglobulina [β -TG], factor de crecimiento derivado de las plaquetas [PDGF], factor V [FV], Fg, FvW; δ : ADP, trifosfato de adenosina [ATP], calcio, serotonina) se libera en los estadios tempranos de la activación plaquetaria para potenciarla.

Diversas alteraciones congénitas causan una deficiencia cuantitativa o cualitativa de los gránulos plaquetarios α , δ o, más raramente, de ambos. Los pacientes con estas alteraciones presentan una diátesis hemorrágica moderada y anomalías variables de la agregación plaquetaria con distintos agonistas, sobre todo a dosis bajas. La microscopía electrónica ofrece la demostración más clara del déficit granular^(12,36,37,47).

Defectos de los gránulos α

El síndrome de plaqueta gris (SPG) es la deficiencia congénita más severa de gránulos α , causada en la mayoría de casos por mutaciones en el gen *NBEAL2*^(12,47). Los pacientes con este raro trastorno de herencia autosómica recesiva presentan diátesis hemorrágica mucoso-cutánea moderada, trombocitopenia moderada con plaquetas grandes y pálidas, mielofibrosis y, en algunos casos, esplenomegalia. El SPG es un trastorno progresivo, de manera que estos pacientes pueden mostrar cifras de plaquetas normales durante la infancia, y progresar durante la adolescencia y edad adulta a trombocitopenias severas, acompañadas de un grado progresivo de mielofibrosis. Estudios en modelos de ratones genéticamente deficientes para *NBEAL2* sugieren que los pacientes con SPG pueden estar protegidos frente a la inflamación y el cáncer⁽⁴⁸⁾.

Pero aparte de *NBEAL2*, otros genes que han sido implicados en la deficiencia congénita de gránulos α , incluyendo *GATA1*, *VPS33B*, o *VIPAS39* en el síndrome ARC (artrogriposis, disfunción renal y colestasis), y muy recientemente *GFI1B*. Las diferencias fenotípicas considerables entre los pacientes con mutaciones en estos genes suscita la controversia de si todos los trastornos hereditarios de la biogénesis gránulos α deben o no calificarse como SPG⁽⁴⁹⁾.

Otra patología de los gránulos α es el síndrome de Quebec (SQ), causado por una mutación de herencia dominante en el gen *PLAU* que codifica el u-PA. Cursa con cifras de plaquetas normales o reducidas y un exceso del activador de plasminógeno de tipo

urocinasa (u-PA) en los gránulos α , que se refleja en un exceso de plasmina y la proteólisis anormal de otras proteínas de estos gránulos, como el FV, el FvW, el Fg o la selectina-P. El sangrado se caracteriza tanto por diátesis cutáneo-mucosa como por hemartrosis y sangrado visceral⁽⁵⁰⁾.

Defectos de los gránulos δ

En este grupo se encuentran tres enfermedades plaquetarias autosómicas recesivas de presentación poco frecuente^(47,51-53)

- El síndrome de Hermansky-Pudlak (SHP), caracterizado por albinismo oculocutáneo, acúmulo de material de tipo ceroides en las células del sistema mononuclear-fagocítico, fibrosis pulmonar variable, enfermedad inflamatoria intestinal y diátesis hemorrágica.
- El síndrome de Chediak-Higashi (SCH), que se manifiesta con albinismo oculocutáneo parcial, pelo plateado, gránulos lisosomales gigantes, cuerpos de inclusión en neutrófilos y otras células, infecciones piógenas frecuentes, neuropatía periférica y fase acelerada hasta en el 85% de los casos
- El síndrome de Griscelli (SG), con albinismo parcial, pelo plateado, defectos neurológicos centrales y/o linfohistiocitosis.

El SHP tiene una base molecular heterogénea, con mutaciones hasta en 10 genes diferentes (*HPS1*, *AP3B1* [*HPS2*], *HPS3*, *HPS4*, *HPS5*, *HPS6*, *DTNBPI* [*HPS7*], *BLOC1S3* [*HPS8*], *BLOC1S6* [*HPS9*] y, muy recientemente identificado, *AP3D1* [*HPS10*]). Todos ellos implicados directa o indirectamente en el tráfico intracelular de vesículas. También el SG se debe a mutaciones en los genes de varias proteínas (MYO5A, RAB27A y melanosina), mientras que el SCH se debe a mutaciones en el gen *LYST*, que codifica la proteína CHS1, un regulador del tráfico lisosomal. En todos estos cuadros las cifras de plaquetas son normales, pero su funcionalidad está moderadamente alterada^(12,47,51-53).

Defectos congénitos en la transmisión de señales de activación plaquetaria

Este grupo de trombocitopatías es muy heterogéneo e incluye deficiencias congénitas de enzimas como nucleótido ciclasas, fosfolipasas, ciclooxigenasas y cinasas, así como alteraciones en proteínas G (G α q,

Gai, Gas) acopladas a receptores de 7 dominios transmembrana, canales de calcio (ORA1 y STIM1), o proteínas como kindlina-3 (gen *FERMT3*) y CalDAG-GEF1 (gen *RASGRP2*) que intervienen en la activación de integrinas como $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ^(12,45,46,54,55). En general, los pacientes con estas anomalías presentan diátesis hemorrágica moderada y anomalías de la agregación, secreción y activación inducida con agonistas débiles, a semejanza de los sujetos con déficit aislado de gránulos o de receptores de agonistas solubles. La patología molecular en *FERMT3* ocasiona el cuadro conocido como defecto de adhesión leucocitaria III (LAD-III) y se asocia a inmunodeficiencia severa⁽⁵⁶⁾.

Otros defectos congénitos de las plaquetas

Entre una miscelánea de TPC, destacaremos también el síndrome de Scott. Se trata de un trastorno hemorrágico raro caracterizado por una externalización deficiente de fosfatidilserina durante la activación plaquetaria. Ésta ocasiona un defecto de la actividad procoagulante de las plaquetas que se traduce en una menor activación local de la coagulación, con menor generación de trombina y formación de fibrina en la zona de lesión vascular. Su causa molecular es la patología molecular del gen *ANO6* (también conocido como *TEMEM16*) que codifica la proteína 16F, un canal de calcio esencial para la externalización de calcio dependiente de los fosfolípidos negativos en la membrana plaquetaria^(12,57).

Para terminar, mencionar el síndrome de Stormorcken, caracterizado, al contrario que en el de Scott, por una actividad plaquetaria procoagulante anormalmente alta ligada a niveles elevados de calcio intracelular. Sin embargo, esto no se traduce en mayor riesgo de trombosis sino, paradójicamente, en una tendencia moderada al sangrado. El cuadro se presenta clínicamente con una amplia variedad de alteraciones, incluyendo trombocitopenia, disfunción plaquetaria, asplenia, anemia leve, miopatía, miosis congénita, y migraña. Se debe a mutaciones heterocigotas de ganancia de función en el gen *STIM1*, que codifica la proteína del mismo nombre que interacciona y regula el funcionamiento del canal calcio ORA1^(58,59). La patología molecular en *ORA1* y *STIM1* también se asocia a inmunodeficiencia severa⁽⁵⁶⁾.

Declaración de conflictos de interés:

El Dr José Rivera declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

- Eto K, Kunishima S. Linkage between the mechanisms of thrombocytopenia and thrombopoiesis. *Blood*. 2016; 127(10): 1234-41.
- Geddis AE. Megakaryopoiesis. *Seminars in Hematology*. 2010; 47(3): 212-9.
- Songdej N, Rao AK. Hematopoietic Transcription Factors Mutations - Important Players in Inherited Platelet Defects. *Blood*. 2017.
- Daly ME. Transcription factor defects causing platelet disorders. *Blood Reviews*. 2017; 31(1): 1-10.
- Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *The New England Journal of Medicine*. 2007; 357(24): 2482-94.
- Rivera J, Lozano ML, Navarro-Nunez L et al. Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica*. 2009; 94(5): 700-11.
- Ware J, Corken A, Khetpal R. Platelet function beyond hemostasis and thrombosis. *Current Opinion in Hematology*. 2013; 20(5): 451-6.
- Mancuso ME, Santagostino E. Platelets: much more than bricks in a breached wall. *British Journal of Haematology*. 2017.
- Noris P, Pecci A. Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *Hematology American Society of Hematology Education Program* 2017; 2017(1): 385-99.
- Savoia A. Molecular basis of inherited thrombocytopenias: an update. *Current Opinion in Hematology*. 2016; 23(5): 486-92.
- Bolton-Maggs PH, Chalmers EA, Collins PW et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *British Journal of Haematology*. 2006; 135(5): 603-33.
- Nurden AT, Nurden P. Congenital platelet disorders and understanding of platelet function. *British Journal of Haematology*. 2014; 165(2): 165-78.
- Nurden AT, Nurden P. Inherited disorders of platelet function: selected updates. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2015; 13 Suppl 1: S2-9.
- Orsini S, Noris P, Bury L et al. Bleeding risk of surgery and its prevention in patients with inherited platelet disorders. The Surgery in Platelet disorders And Therapeutic Approach (SPATA) study. *Haematologica*. 2017.
- Pecci A. Diagnosis and treatment of inherited thrombocytopenias. *Clinical Genetics*. 2016; 89(2): 141-53.
- Balduini CL, Noris P. Innovation in the field of thrombocytopenias: achievements since the beginning of the century and promises for the future. *Haematologica*. 2016; 101(1): 2-4.
- Lentaigne C, Freson K, Laffan MA et al. Inherited platelet disorders: toward DNA-based diagnosis. *Blood*. 2016; 127(23): 2814-23.
- Freson K, Turro E. High-throughput sequencing approaches for diagnosing hereditary bleeding and platelet disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2017; 15(7): 1262-72.

19. Heremans J, Freson K. High-throughput sequencing for diagnosing platelet disorders: lessons learned from exploring the causes of bleeding disorders. *International Journal of Laboratory Hematology*. 2018; 40 Suppl 1: 89-96.
20. Sivapalaratnam S, Collins J, Gomez K. Diagnosis of inherited bleeding disorders in the genomic era. *British Journal of Haematology*. 2017; 179(3): 363-76.
21. Ballmaier M, Germeshausen M. Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2011; 37(6): 673-81.
22. Balduini CL, Melazzini F, Pecci A. Inherited thrombocytopenias-recent advances in clinical and molecular aspects. *Platelets*. 2017; 28(1): 3-13.
23. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE, Marino B et al. 22q11.2 deletion syndrome. *Nature Reviews Disease Primers*. 2015; 1: 15071.
24. Mattina T, Perrotta CS, Grossfeld P. Jacobsen syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2009; 4: 9.
25. Buchbinder D, Nugent DJ, Fillipovich AH. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, current management, and emerging treatments. *The Application of Clinical Genetics*. 2014; 7: 55-66.
26. Pecci A, Klersy C, Gresele P et al. MYH9-related disease: a novel prognostic model to predict the clinical evolution of the disease based on genotype-phenotype correlations. *Human Mutation*. 2014; 35(2): 236-47.
27. Melazzini F, Zaninetti C, Balduini CL. Bleeding is not the main clinical issue in many patients with inherited thrombocytopenias. *Haemophilia: the Official Journal of the World Federation of Hemophilia*. 2017; 23(5): 673-81.
28. Noris P, Favier R, Alessi MC et al. ANKRD26-related thrombocytopenia and myeloid malignancies. *Blood*. 2013; 122(11): 1987-9.
29. Morgan NV, Daly ME. Gene of the issue: RUNX1 mutations and inherited bleeding. *Platelets*. 2017; 28(2): 208-10.
30. Poggi M, Canault M, Favier M et al. Germline variants in ETV6 underlie reduced platelet formation, platelet dysfunction and increased levels of circulating CD34+ progenitors. *Haematologica*. 2017; 102(2): 282-94.
31. Millikan PD, Balamohan SM, Raskind WH et al. Inherited thrombocytopenia due to GATA-1 mutations. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2011; 37(6): 682-9.
32. Savoia A, Kunishima S, De Rocco D et al. Spectrum of the mutations in Bernard-Soulier syndrome. *Human Mutation*. 2014; 35(9): 1033-45.
33. Sivapalaratnam S, Westbury SK, Stephens JC et al. Rare variants in GP1BB are responsible for autosomal dominant macrothrombocytopenia. *Blood*. 2017; 129(4): 520-4.
34. Favier R, Raslova H. Progress in understanding the diagnosis and molecular genetics of macrothrombocytopenias. *British Journal of Haematology*. 2015; 170(5): 626-39.
35. Sanchez-Guiu I, Anton AI, Padilla J et al. Functional and molecular characterization of inherited platelet disorders in the Iberian Peninsula: results from a collaborative study. *Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2014; 9: 213.
36. Gresele P. Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2015; 13(2): 314-22.
37. Gresele P, Bury L, Falcinelli E. Inherited Platelet Function Disorders: Algorithms for Phenotypic and Genetic Investigation. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2016; 42(3): 292-305.
38. Bastida JM, Lozano ML, Benito R et al. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica*. 2018; 103(1): 148-62.
39. Othman M, Kaur H, Favalaro EJ et al. Platelet type von Willebrand disease and registry report: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2016; 14(2): 411-4.
40. Nurden AT, Pillois X, Fiore M et al. Expanding the Mutation Spectrum Affecting alphaIIb beta3 Integrin in Glanzmann Thrombasthenia: Screening of the ITGA2B and ITGB3 Genes in a Large International Cohort. *Human Mutation*. 2015; 36(5): 548-61.
41. Nurden AT, Pillois X. ITGA2B and ITGB3 gene mutations associated with Glanzmann thrombasthenia. *Platelets*. 2018; 29(1): 98-101.
42. Bury L, Zetterberg E, Leino EB et al. A novel variant Glanzmann thrombasthenia due to co-inheritance of a loss- and a gain-of-function mutation of ITGB3: evidence of a dominant effect of gain-of-function mutations. *Haematologica*. 2018; 103(6): e259-e63.
43. Jayo A, Conde I, Lastres P et al. L718P mutation in the membrane-proximal cytoplasmic tail of beta 3 promotes abnormal alpha IIb beta 3 clustering and lipid microdomain coalescence, and associates with a thrombasthenia-like phenotype. *Haematologica*. 2010; 95(7): 1158-66.
44. Cattaneo M. The platelet P2Y(1)(2) receptor for adenosine diphosphate: congenital and drug-induced defects. *Blood*. 2011; 117(7): 2102-12.
45. Leo VC, Morgan NV, Bem D et al. Use of next-generation sequencing and candidate gene analysis to identify underlying defects in patients with inherited platelet function disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2015; 13(4): 643-50.
46. Watson SP, Lowe GC, Lordkipanidze M et al. Genotyping and phenotyping of platelet function disorders. *Journal of Thrombosis and Haemostasis: JTH*. 2013; 11 Suppl 1: 351-63.
47. Bariana TK, Ouwehand WH, Guerrero JA et al. Dawning of the age of genomics for platelet granule disorders: improving insight, diagnosis and management. *British Journal of Haematology*. 2017; 176(5): 705-20.
48. Guerrero JA, Bennett C, van der Weyden L et al. Gray platelet syndrome: proinflammatory megakaryocytes and alpha-granule loss cause myelofibrosis and confer metastasis resistance in mice. *Blood*. 2014; 124(24): 3624-35.

49. Nurden AT, Nurden P. Should any genetic defect affecting alpha-granules in platelets be classified as gray platelet syndrome? *American Journal of Hematology*. 2016; 91(7): 714-8.
50. Hayward CP, Rivard GE. Quebec platelet disorder. *Expert Review of Hematology*. 2011; 4(2): 137-41.
51. Gunay-Aygun M, Huizing M, Gahl WA. Molecular defects that affect platelet dense granules. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2004; 30(5): 537-47.
52. Sanchez-Guiu I, Anton AI, Garcia-Barbera N et al. Chediak-Higashi syndrome: description of two novel homozygous missense mutations causing divergent clinical phenotype. *European Journal of Haematology*. 2014; 92(1): 49-58.
53. Sanchez-Guiu I, Torregrosa JM, Velasco F et al. Hermansky-Pudlak syndrome. Overview of clinical and molecular features and case report of a new HPS-1 variant. *Hamostaseologie*. 2014; 34(4): 301-9.
54. Westbury SK, Canault M, Greene D et al. Expanded repertoire of RASGRP2 variants responsible for platelet dysfunction and severe bleeding. *Blood*. 2017; 130(8): 1026-30.
55. Lozano ML, Cook A, Bastida JM et al. Novel mutations in RASGRP2, which encodes CalDAG-GEFI, abrogate Rap1 activation, causing platelet dysfunction. *Blood*. 2016; 128(9): 1282-9.
56. Nagy M, Mastenbroek TG, Mattheij NJA et al. Variable impairment of platelet functions in patients with severe, genetically linked immune deficiencies. *Haematologica*. 2018; 103(3): 540-9.
57. Boisseau P, Bene MC, Besnard T et al. A new mutation of ANO6 in two familial cases of Scott syndrome. *British Journal of Haematology*. 2018; 180(5): 750-2.
58. Lacruz RS, Feske S. Diseases caused by mutations in ORAI1 and STIM1. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015; 1356: 45-79.
59. Morin G, Bruechle NO, Singh AR et al. Gain-of-Function Mutation in STIM1 (P.R304W) Is Associated with Stormorken Syndrome. *Human mutation*. 2014; 35(10): 1221-32.