

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA.  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO.

AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO DE LOS TRASTORNOS PLAQUETARIOS  
HEREDITARIOS; IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPÉUTICAS.

Trabajo final de graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa de  
Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar el título de Especialidad en  
Hematología.

LUIS ALEJANDRO GUIDO MARTÍNEZ.

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2024

## AGRADECIMIENTO

A la Dra. Melissa Granados y al Dr. Walter Rodríguez, por la compañía, enseñanzas y apoyo durante todo este proceso de posgrado.

A la Dra. María José Suarez, por la guía como tutora en la elaboración de este trabajo.

A la Dra. Karen Ulate y a la Dra. Daniela Villalobos, quienes brindaron valiosas observaciones y puntos de vista que permitieron moldear una mejor versión del mismo.

Este trabajo final de graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Especialidad en Hematología.



---

Esp. María José Suárez Sánchez.  
**Profesora tutora**



---

Esp. Karen Ulate Oviedo.  
**Lectora**



---

Esp. Daniela Villalobos Zúñiga.  
**Lector o Lectora**



---

Luis Alejandro Guido Martínez.  
**Sustentante**

## TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTO.....	ii
HOJA DE APROBACIÓN .....	iii
TABLA DE CONTENIDO.....	iv
RESUMEN.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
JUSTIFICACIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
METODOLOGÍA .....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
CAPÍTULO 1: ORIGEN, BIOLOGÍA, ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PLAQUETAS.....	5
CAPÍTULO 2: TRASTORNOS PLAQUETARIOS HEREDITARIOS CUANTITATIVOS; DIAGNÓSTICO E IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPÉUTICAS.....	19
CAPÍTULO 3. TRASTORNOS PLAQUETARIOS HEREDITARIOS CUALITATIVOS; DIAGNÓSTICO E IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPÉUTICAS.....	41
CONCLUSIONES.....	59
BIBLIOGRAFÍA.....	60

## **RESUMEN.**

Los trastornos plaquetarios cuantitativos y cualitativos surgen tras perturbaciones de procesos fisiológicos como lo son la megacariocitopoyesis y trombopoyesis; la adhesión y activación plaquetaria; la liberación de sus gránulos, así como su aclaramiento y eliminación. Estos trastornos, se manifiestan principalmente como diátesis hemorrágicas de variable severidad.

Clínicamente, la presentación de los trastornos plaquetarios con algún componente hereditario es indistinguible de la de aquellos que son adquiridos; por lo que se vuelve indispensable una correcta valoración del paciente, evaluación del tipo de sangrado, y además, un estudio a nivel familiar, para así poder realizar asociaciones que lleven a la sospecha, estudio y diagnóstico de estos trastornos.

El advenimiento y mayor diseminación de metodologías de diagnóstico molecular han permitido la caracterización y diagnóstico de trastornos plaquetarios hereditarios para los cuales las metodologías diagnósticas tradicionales carecían de la suficiente resolución para realizarlo, es por ellos que, actualmente se propone que el adecuado diagnóstico de dichos trastornos debe realizarse empleando metodologías de biología molecular como la secuenciación, secuenciación de nueva generación y la hibridación genómica comparativa.

## LISTA DE ABREVIATURAS

aCGH = ensayo de hibridación genómica comparativa  
ADP = Adenosina difosfato  
AGK = Acil glicerol quinasa  
ATP = Adenosina trifosfato  
BSS = Síndrome de Bernard-Soulier  
CAMT = Trombocitopenia amegacariocítica congénita  
CD = Cluster de diferenciación  
COX = Ciclooxygenasa  
ECM = Matriz extracelular  
EPO = Eritropoyetina  
ERKs = quinasas relacionadas a señales extracelulares  
FPFMM = Desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia mieloide aguda  
GM-CSF = Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos  
GP = Glicoproteína  
GPS = Síndrome de la plaqueta gris  
GT = Trombastenia de Glanzmann  
HPS = Síndrome de Hermansky-Pudlak  
HSCs = células madre hematopoyéticas  
IL = Interleucina  
ISTH = Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia  
JAK = Janus quinasa  
LTA = Agregometría por transmisión de luz  
MHA = Anomalía de May-Hegglin  
miRNAs = micro ARN  
MYH= Cadena pesada de la miosina  
NGS = Secuenciación de nueva generación  
NMMHC-IIA = Cadena pesada de la miosina no-muscular IIA  
PAF = Factor activador de plaquetas

PAR = Receptor activado por proteasas  
PCR = Reacción en cadena de la polimerasa  
PDGF = Factor de crecimiento derivado de plaquetas  
PF4 = Factor plaquetario 4  
PI3K = Fosfatidilinositol 3 quinasa  
PT-VWD = Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario  
QPD = Desorden plaquetario de Quebec  
RIPA = Aglutinación plaquetaria inducida por ristocetina  
SNAREs = Receptores de proteínas solubles de unión a factor sensible a la N-etilmaleimida  
SNP = Polimorfismo de un solo nucleótido  
STAT = Transductores de señal y activadores de transcripción  
TAR = Trombocitopenia con ausencia de radio  
TCR = Receptor de células T  
TLR = Receptores tipo Toll  
TPO = Trombopoyetina  
uPA = Activador del plasminógeno tipo uroquinasa  
VPM = Volumen plaquetario medio  
VWD2B = Enfermedad de von Willebrand tipo 2B  
vWF = Factor de von Willebrand  
WAS = Síndrome de Wiskott-Aldrich  
XLN = Neutropenia ligada al X  
XLT = Trombocitopenia ligada al X  
YPS = Síndrome plaquetario de York

## JUSTIFICACIÓN.

Los trastornos plaquetarios hereditarios conforman un grupo de enfermedades raras de baja prevalencia y una considerable heterogeneidad clínica, de laboratorio y molecular (Rivera et al., 2018), incluyendo herencias autosómicas dominantes, recesivas o inclusive herencias ligadas al cromosoma X (Nurden A. & Nurden P., 2014). Lo anterior ha significado una gran limitante a la hora de su diagnóstico, lo que se refleja en un manejo clínico subóptimo de los pacientes y en algunos casos inclusive perjudicial e innecesariamente invasivo (Rivera et al., 2018)

Sumada a la limitante que representa la heterogeneidad de estos síndromes, el abordaje de laboratorio se ha relegado tradicionalmente en pruebas de escasa reproducibilidad y especificidad, como las pruebas de agregación o función plaquetaria. Esto ha repercutido en que los pacientes alcancen la edad adulta sin diagnóstico o con un diagnóstico erróneo expuestos a un mal manejo por parte de los clínicos (Palma-Barqueros et al., 2021).

Debido a las complicaciones que se puedan derivar de estos padecimientos, el entendimiento que lleve a una sospecha, diagnóstico temprano y preciso de los trastornos plaquetarios hereditarios, así como un buen seguimiento médico es de gran importancia. Adicionalmente, la asociación entre el genotipo y el fenotipo en muchos de estos trastornos hacen que el diagnóstico molecular sea relevante y necesario para un apropiado manejo clínico. Al ser enfermedades raras, los esfuerzos en la difusión de conocimiento en esta materia deben ir enfocados en la colaboración entre clínicos e investigadores, tanto nacional como internacionalmente con el fin de una adecuada comprensión y diagnóstico de estas patologías. (Palma-Barqueros et al., 2021).

## OBJETIVOS.

**Objetivo general:** Analizar los trastornos plaquetarios hereditarios y los avances en sus diagnósticos, así como las implicaciones clínicas y terapéuticas derivadas.

### **Objetivos específicos:**

1. Detallar el origen, biología, estructura y función de las plaquetas.
2. Describir los principales trastornos plaquetarios hereditarios cuantitativos, sus diagnósticos e implicaciones clínicas y terapéuticas.
3. Describir los principales trastornos plaquetarios hereditarios cualitativos, sus diagnósticos e implicaciones clínicas y terapéuticas.

## METODOLOGÍA.

Se realizó una revisión bibliográfica a partir de información obtenida de bases de datos que se encuentran en el Sistema de Bibliotecas, Documentación e información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI), en dicha plataforma se llevó a cabo una búsqueda de artículos científicos y libros relacionados a hematología, hemostasia y trastornos plaquetarios publicados a partir del año 2014. Para dicho propósito, se utilizaron criterios de búsqueda que incluyeron las siguientes palabras clave: trastornos plaquetarios, plaquetas, función plaquetaria, receptores plaquetarios, trombocitopenia, hemostasia, proceso de coagulación, problemas de sangrado.

Dada la gran cantidad de trastornos plaquetarios hereditarios, se realizó la revisión de los más frecuentes: Trombocitopenia amegacariocítica congénita, trombocitopenia con ausencia de radio, trastorno plaquetario familiar con predisposición a leucemia aguda, trombocitopenia Paris-Trousseau y síndrome de Jacobsen, síndrome de la plaqueta gris, enfermedad relacionada a *MYH9*, síndrome de Wiskott-Aldrich, síndrome de Bernard-Soulier, enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario, síndrome de Hermansky-Pudlak, desorden plaquetario de Quebec y trombostenia de Glanzmann.

## INTRODUCCIÓN.

Las plaquetas son de gran importancia en la hemostasia primaria, ya que se adhieren, expanden y agregan en las lesiones vasculares para tratar de detener el sangrado. Por medio de sus glicoproteínas, se unen a moléculas clave en este proceso, como el factor de von Willebrand y el colágeno. Posteriormente, estas sufren cambios conformacionales, liberan sustancias activas de sus gránulos y activan vías de señalización que terminan en la formación de un agregado. Este agregado funge como sitio de adhesión para factores de coagulación que propicia el proceso de hemostasia secundaria y la resolución de los daños vasculares (Vinholt, 2019).

Los desórdenes de sangrado son complicaciones hematológicas comunes, estos surgen como consecuencia de deficiencias o afectaciones de cualquiera de los dos componentes principales de la hemostasia; factores de coagulación o plaquetas (Tsai & Battinelli, 2021). Los trastornos plaquetarios hereditarios, que afectan ya sea el recuento o la función plaquetaria, comprenden un grupo heterogéneo de al menos 60 entidades que se consideran enfermedades raras causadas por anomalías genéticas, estos se clasifican en dos grupos principales: trombocitopenias hereditarias y desórdenes hereditarios de la función plaquetaria. La relevancia clínica de estos desórdenes es muy variable de acuerdo con el tipo o subtipo de desorden, presentándose desde formas casi asintomáticas hasta formas que amenazan la vida de los pacientes (Palma-Barqueros et al., 2021).

Los estudios de laboratorio para estos trastornos hereditarios comprenden evaluación del conteo, tamaño y morfología plaquetaria mediante microscopía de luz, técnicas de agregación plaquetaria, pruebas para evaluar la cantidad, contenido y liberación de gránulos plaquetarios, análisis de glicoproteínas plaquetarias mediante citometría de flujo, evaluación de estructura plaquetaria mediante microscopía electrónica y, más recientemente, pruebas de diagnóstico molecular (Bourguignon et al., 2022).

## **CAPÍTULO 1.**

### **ORIGEN, BIOLOGÍA, ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PLAQUETAS.**

En la sangre, las plaquetas representan el segundo linaje celular más abundante después de los eritrocitos; sus recuentos normales oscilan entre 150 000/ $\mu$ L y 450 000/ $\mu$ L. Dada su forma y tamaño, el flujo sanguíneo las empuja hacia su parte externa, en dirección próxima al endotelio de los vasos sanguíneos, brindándoles la posición óptima para cumplir su función hemostática: el mantenimiento de la integridad vascular (Firestein et al., 2022).

La mayoría de las plaquetas no participan en procesos hemostáticos y son eliminadas de circulación a través del sistema reticuloendotelial, teniendo una vida media de aproximadamente 10 días. Por lo anterior, y para mantener los recuentos plaquetarios normales, el organismo humano produce alrededor de 100 000 millones de plaquetas al día (Firestein et al., 2022).

Las plaquetas derivan de los megacariocitos, quienes, a su vez, derivan de células madre ubicadas en médula ósea (Firestein et al., 2022). La megacariocitopoyesis, que es la síntesis de los megacariocitos, comienza con células madre pluripotentes que dan lugar a células progenitoras mieloides, que a su vez dan origen a unidades formadoras de colonias de megacariocitos grandes y abundantes, para luego generar unidades formadoras de colonias megacariocíticas. Durante este proceso de diferenciación, se reconocen cuatro diferentes etapas o estadios celulares; los megacarioblastos que son células pequeñas y de características más inmaduras, seguidos de los promegacariocitos, megacariocitos granulares y finalmente los megacariocitos maduros, estos últimos presentan un gran tamaño, citoplasma más eosinófilo que sus predecesores y además tienen un núcleo dividido en múltiples lóbulos, características que evidencian la madurez de la célula (Gleason & Juul, 2019).

La megacariocitopoyesis ocurre en subregiones de la médula ósea denominadas “nichos”, la celularidad de la médula ósea varía en conformidad con estos nichos; los

megacariocitos inmaduros residen en áreas más cercanas al hueso, mientras que los megacariocitos maduros se encuentran en el espacio perivascular y vascular de la médula ósea, ubicación que es fundamental para que puedan llevar a cabo su función biológica más importante, la formación y liberación de plaquetas a la circulación (Di Buduo et al., 2023).

En el proceso de megacariocitopoyesis participan múltiples citocinas; el factor estimulante de células madre y las interleucinas (IL) IL-3 y IL-6, cuya función es aumentar la ploidía y el tamaño de los megacariocitos; la IL-11, encargada de estimular la proliferación de progenitores de megacariocitos e inducir su maduración; y otros factores de crecimiento como la eritropoyetina (EPO), el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), la IL-1, el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y el interferón y, juegan un papel menos definido y la magnitud de influencia de estos factores de crecimiento cambia con el desarrollo (Gleason & Juul, 2019).

Aunque está influenciado por muchos mediadores, la producción de estos megacariocitos está principalmente pautada por la acción de la trombopoyetina (TPO), una hormona de síntesis hepática y renal que dicta su tasa de maduración, crecimiento, proliferación y apoptosis (Firestein et al., 2022).

Fue en el año 1994 cuando se aisló la trombopoyetina por primera vez. La TPO se compone de 332 aminoácidos, y contiene un dominio amino-terminal como dominio activo que tiene una marcada homología con la eritropoyetina (Gleason & Juul, 2019). La trombopoyetina es una molécula soluble de 80-90 kDa que lleva a cabo su función mediante la unión a su receptor, conocido como c-Mpl, que se expresa tanto en megacariocitos como en plaquetas. Personas con recuentos plaquetarios menores, presentan una concentración plasmática de trombopoyetina mayor, lo que estimula la síntesis y actividad de los megacariocitos. Adicionalmente, ciertas citoquinas como las interleucinas 1, 3, 6 y 11, el

ligando de Kit y el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, también estimulan la producción de megacariocitos (Firestein et al., 2022).

La TPO al unirse a su receptor Mpl, activa en primera instancia a proteínas de la familia Janus quinasa (JAK), las cuales al estar asociadas al receptor, cumplen un papel fundamental al regular una gran serie de vías de señalización corriente a bajo a través de las JAKs; incluyendo transductores de señal y activadores de transcripción (STAT), vías Ras/Raf/MAPK y la vía de señalización de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K)/Akt, que al final van a promover la supervivencia, proliferación y aumento en la ploidía de los megacariocitos (Li et al., 2022).

La vía de señalización TPO/Mpl/JAK2/Stat3 es la más estudiada en la regulación de la megacariocitopoyesis y la producción de plaquetas. El estímulo que ejerce la TPO sobre las células madre hematopoyéticas (HSCs) incrementa su metabolismo mitocondrial, este aumento de la actividad mitocondrial promueve que estas células salgan de un estado de latencia y se comprometan hacia un linaje mielóide orientado a un desarrollo megacariocítico. A través de la Janus quinasa 2 (JAK2), se activa el transductor y activador de transcripción 3 (Stat3) que se va a fosforilar, translocar dentro de la mitocondria y estimular la función mitocondrial al activar los complejos I y II de la cadena de transporte de electrones. Posteriormente, a consecuencia de este incremento de actividad, la acil-glicerol quinasa (AGK), ubicada en la membrana interna de la mitocondria, va a participar en la diferenciación de los megacariocitos y la producción de plaquetas (Li et al., 2022).

Al mismo tiempo, la unión de la TPO al receptor c-Mpl estimula la vía de señalización PI3K/Akt, la cual reduce la apoptosis e incrementa la proliferación de los megacariocitos. Paralelamente, la vía de señalización MAPK, principalmente la cascada de señalización que involucra a las quinasas relacionadas a señales extracelulares (ERKs), conocida como MAPK/ERK, es una vía clave asociada a la proliferación y diferenciación celular, jugando

un papel muy importante en los pasos de la diferenciación de los megacariocitos y teniendo un efecto directo sobre la formación de proplaquetas (Li et al., 2022).

Muchos factores de transcripción como; RUNX1, GATA1, FLI1, MKL-1, TAL-1 y NF-E2, también juegan un rol crítico en la megacariocitopoyesis y la trombopoyesis al unirse a secuencias específicas de ADN y promover la expresión de genes específicos de linaje (Li et al., 2022). Sumado a ellos, se ha destacado la acción de los micro-ARNs (miRNAs); estos son cadenas cortas de alrededor de 22 nucleótidos de ARN no codificantes que, más recientemente se han descrito como críticos en procesos desde proliferación y maduración de megacariocitos, hasta en reactividad, adhesión y agregación de plaquetas (Li et al., 2023).

Una vez maduros, los megacariocitos alcanzan hasta los 100  $\mu\text{m}$  de diámetro. Esto es posible debido a que la célula sufre repetidos ciclos de endomitosis o endoreplicación, proceso en el cual existe replicación de ADN sin que ocurra la división celular. Secundario a la replicación del ADN, ocurre una amplificación de genes y aumento en síntesis de proteínas, lo cual es necesario para la generación de plaquetas (Firestein et al., 2022). Los megacariocitos de las personas adultas poseen típicamente una ploidía celular de 16N, mientras que, en muestras de lactantes, se evidencian ploidías de menos de 8N en los megacariocitos, y aunque estos presentan características de megacariocitos maduros, son en general más pequeños que los de los adultos. La morfología se normaliza alrededor del segundo año de edad (Gleason & Juul, 2019).

En el proceso de formación de plaquetas, se forman extensiones llamadas “procesos plaquetarios”; estos consisten en largas extensiones citoplasmáticas de hasta milímetros de longitud que protruyen hacia el interior de sinusoides vasculares. Estas extensiones, alargadas gracias a microtúbulos del citoesqueleto del megacariocito, funcionan como rieles por los cuales se transportan membranas, micro-ARNs, ARN mensajeros y gránulos hacia las proplaquetas nacientes en forma de brotes (Firestein et al., 2022).

La liberación de las plaquetas individuales de estas estructuras, se le atribuye a la hidrodinamia sanguínea y a la velocidad y distribución de su flujo (Di Buduo et al., 2023). Una vez liberadas estas proplaquetas en forma globular, continúan su maduración en circulación sanguínea (Li et al., 2022) (Firestein et al., 2022).

Se describe una alternativa a la formación de proplaquetas y posteriormente de plaquetas; la ruptura del megacariocito, lo que significa una fragmentación citoplasmática y una rápida liberación de un alto número de plaquetas de forma directa. Se dice que este último mecanismo puede darse como respuesta ante una necesidad aguda de plaquetas en procesos inflamatorios, usualmente bajo el control de la IL-1 $\alpha$ . Adicionalmente, otro mecanismo que se ha descrito como responsable de sostener la liberación de plaquetas por parte de los megacariocitos es mediante la gemación de su membrana, de esta forma las plaquetas son liberadas directamente hacia circulación (Di Buduo et al., 2023).

En reposo, las plaquetas tienen una estructura que asemeja la de un disco irregular de 2-5  $\mu\text{m}$  de diámetro con un volumen de 6-10 fl (Firestein et al., 2022). Se propone que la forma de disco les permite un flujo más eficiente a través de los vasos sanguíneos, y una mayor dispersión de elementos procoagulantes presentes en la sangre (Hoffman et al., 2022). Esta forma discoide se mantiene gracias a su citoesqueleto; un citoesqueleto capaz de mantener su integridad aun ante elevadas fuerzas de cizallamiento del medio, pero que también permite que se den cambios conformacionales al activarse, creando filopodios y pseudópodos (Firestein et al., 2022).

La membrana plasmática de las plaquetas es lisa y se constituye principalmente por fosfolípidos. Su superficie lisa se ve interrumpida por canales e invaginaciones de membrana que se denominan "sistema canicular abierto"; algunos componentes como serotonina y fibrinógeno ingresan a las plaquetas mediante este sistema, mientras que otras sustancias mediadoras son liberadas por estas al medio (Firestein et al., 2022). Por lo tanto, este sistema canicular sirve como pasadizo en el intercambio de moléculas entre las

plaquetas y el medio, siendo de gran importancia a la hora de liberar contenido de los gránulos  $\alpha$ . También, a este sistema canicular se le atribuye la función de ser un reservorio de membrana, de receptores y proteínas útiles para que la plaqueta desempeñe su función (Hoffman et al., 2022).

Las plaquetas, en la superficie de su membrana, poseen glicoproteínas que funcionan como receptores que sirven como moléculas de adhesión al interactuar con diferentes ligandos. Aunque se utilizan varios sistemas de nomenclatura para nombrar estas glicoproteínas de superficie, el más utilizado y aceptado es el que las designa de acuerdo con la migración electroforética. De esta forma, se tienen las glicoproteínas GP I, II, III, etc., siendo la GPI la de menor peso molecular. Utilizando técnicas con mayor resolución se han logrado identificar subdivisiones de esas glicoproteínas, teniendo algunas como GPIa, GPIb, GPIc, GPIIa y GPIIb; muchas de estas existiendo en forma de complejos en la superficie de la plaqueta. Adicionalmente, estas moléculas se nombran por el sistema de nomenclatura  $\alpha\beta$ -integrina; siendo la GPIa-IIa designada como  $\alpha2\beta1$ , la GPIIb-IIIa como  $\alpha11b\beta3$ , etc. (Hoffman et al., 2022).

Estas integrinas pertenecen a una superfamilia de receptores de adhesión ampliamente distribuidos que median las interacciones célula-matriz y célula-célula. Estas se componen de subunidades polipeptídicas  $\alpha$  y  $\beta$  asociadas de forma no covalente. Actualmente, se conocen cinco diferentes integrinas plaquetarias;  $\alpha2\beta1$ ,  $\alpha5\beta1$ ,  $\alpha6\beta1$ ,  $\alpha11b\beta3$  y  $\alpha\nu\beta3$  (Hoffman et al., 2022).

El estudio de estas glicoproteínas de superficie cobra relevancia ya que se describen relaciones directas de receptor con proteínas de adhesión presentes en la matriz subendotelial; así, por ejemplo, la GPIa-IIa ( $\alpha2\beta1$ ) y la GPVI establecen uniones con el colágeno, mientras que otras como la GPIb-IX-V y la GPIIb-IIIa ( $\alpha11b\beta3$ ) se enlazan con el factor de von Willebrand. Estas interacciones son necesarias para el correcto

funcionamiento de las plaquetas, y defectos en estas se han asociado a diversos trastornos plaquetarios (Hoffman et al., 2022).

Esta membrana se continúa con el citoplasma, en el que su citoesqueleto compuesto principalmente por espectrina mantiene la integridad de la forma discoide de la plaqueta. Este citoesqueleto de espectrina forma una red continua con filamentos de actina como soporte de la estructura; la actina es la proteína más abundante en las plaquetas y forma filamentos que se entrelazan para dar rigidez a la red citoplasmática. Hay otras proteínas de entrecruzamiento en el citoesqueleto como lo son la filamina A y filamina B; las interacciones entre la filamina A/B y las colas citoplasmáticas de los receptores de factor de von Willebrand (GPIb $\alpha$ ) proveen estabilidad estructural al citoesqueleto plaquetario. Pérdida de estas uniones, ya sea por deficiencia de GPIb $\alpha$  o de filamina, da como resultado el desmantelamiento del entramado de espectrina, lo que genera inestabilidad en el citoesqueleto y fragilidad plaquetaria que aumenta la tasa con las que estas son removidas de circulación (Hoffman et al., 2022)

En su citoplasma, englobados con otras organelas y sistemas especializados como el retículo endoplasmático, las plaquetas poseen numerosos gránulos que se clasifican principalmente como gránulos  $\alpha$ , gránulos densos y lisosomas. Los gránulos  $\alpha$  son los más abundantes, encontrándose entre 40-80 gránulos  $\alpha$  en cada plaqueta; estos son redondeados, con un diámetro de entre 200-500 nm y poseen proteínas como factor de von Willebrand (vWF), P-selectina, factor V, trombospondina, fibrinógeno, factor plaquetario 4 (CXCL4), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante  $\beta$ , etc; mientras que por otra parte, los gránulos densos son menos abundantes, encontrándose entre 4-8 por plaqueta y son ricos en sustancias como calcio, magnesio, adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), histamina y serotonina (Firestein et al., 2022); por último, los gránulos lisosomales contienen enzimas involucradas

en la degradación de proteínas, carbohidratos y lípidos como catepsinas, elastasas, colagenasas, galactosidasas, glucuronidasas y fosfatasas (Hoffman et al., 2022).

Se ha descrito cierta heterogeneidad entre las plaquetas; ensayos de separación por gradiente de densidad han revelado que existen plaquetas más grandes, metabólicamente más activas y con mayor densidad en gránulos que otras. Estas diferencias se dan de forma independiente a la edad, y se dice que están establecidas por mecanismos regulatorios a nivel de factores de transcripción (van der Meijden & Heemskerk, 2019).

Diferentes poblaciones de plaquetas pueden identificarse basándose en los diferentes perfiles de expresión de glicoproteínas de membrana que estas tengan. También pueden subdividirse por los niveles de receptores de señales que expresan, esto mediante citometría de flujo. Se propone que esta heterogeneidad entre plaquetas se da principalmente porque provienen de diferentes megacariocitos, además, porque en el proceso de formación de proplaquetas en un mismo megacariocito, hay variabilidad entre los componentes y organelas que se suministran a estas (van der Meijden & Heemskerk, 2019).

Se describe en las plaquetas la capacidad de reconocer un vaso sanguíneo dañado y actuar sobre él formando un tapón (Firestein et al., 2022).

El endotelio en su estado normal produce moléculas como prostaciclina, óxido nítrico y trombomodulina que inhiben la activación plaquetaria. Por lo que, en situaciones normales, las plaquetas no se unen al endotelio vascular (Di Buduo et al., 2023) (Panigrahi & Liu, 2020).

La formación del tapón plaquetario se inicia cuando las plaquetas circulantes entran en contacto con la matriz extracelular subendotelial, la cual se debe entender como una interfase dinámica que provee múltiples sustratos que median en la adhesión de las

plaquetas; entre estos sustratos tenemos moléculas como diferentes tipos de colágenos, vWF, fibronectina, laminina y trombospondina (Hoffman et al., 2022).

Al ocurrir una afección a nivel endotelial, se expone una amplia serie de moléculas; entre ellas el factor de von Willebrand. El complejo proteico GPIb-IX-V ubicado en la membrana de las plaquetas se une al vWF de la matriz subendotelial, generando una adhesión transitoria y reversible que desempeña el papel de anclaje y permite a las plaquetas llevar a cabo un rodamiento sobre la superficie endotelial. Además de funcionar como un receptor para el vWF en el endotelio, el complejo GPIb-IX-V es un receptor para agonistas solubles como la trombina. Es por esto que, una expresión disminuida de GPIb-IX-V afecta el proceso de adhesión plaquetaria y puede resultar en diátesis hemorrágicas importantes (Hoffman et al., 2022).

Posteriormente, la glicoproteína VI (GPVI) y la integrina  $\alpha 2\beta 1$  estabilizan la unión al enlazarse directamente con el colágeno, una importante molécula iniciadora de la respuesta plaquetaria y un sustrato clave en la adhesión de estas al endotelio. La activación de las plaquetas consecuente a la unión de GPIb-IX y GPVI, desencadena una señalización a lo interno de la plaqueta que culmina con la activación de GPIIb-IIIa y su unión al fibrinógeno, uniendo también plaquetas entre sí y promoviendo que se recluten más de ellas (Firestein et al., 2022).

En esta fase de activación plaquetaria, los agonistas solubles juegan un papel muy importante. La mayoría de los receptores de agonistas en las plaquetas son receptores asociados a proteínas G, que una vez se unen a su ligando inician una señalización intracelular mediada por proteínas G que se encargan de generar diversas respuestas plaquetarias; entre estos receptores tenemos receptores de trombina, ADP, tromboxano A2 y epinefrina. En las plaquetas, los receptores de trombina pertenecen a la familia de receptores activados por proteasas (PAR), siendo PAR1 y PAR4 los presentes en plaquetas

humanas; PAR1 es un receptor de alta afinidad para la trombina, mientras que PAR4 posee una menor afinidad (Hoffman et al., 2022).

El ADP es un importante agonista plaquetario que además amplifica la respuesta al participar en la secreción de sus gránulos. Las plaquetas poseen dos receptores para ADP; el P2Y1 y el P2Y12, los cuales son receptores asociados a proteínas G. Una vez el ADP se une a P2Y1, media un incremento del calcio intracelular que induce cambios estructurales en las plaquetas; mientras que la unión de ADP a P2Y12 resulta en la inhibición del adenilato ciclasa, la disminución del AMP cíclico y un incremento en las respuestas de agregación y secreción producidas por otros agonistas (Hoffman et al., 2022).

El ATP, a pesar de ser un agonista de P2Y1 y P2Y12, es un activador del canal iónico P2X1, por lo que ocasiona un rápido ingreso de calcio desde el medio extracelular y amplifica las respuestas de otros agonistas. Los efectos del ADP y ATP son modulados por CD39, una fosfatasa endotelial que se encarga de hidrolizar ATP y ADP para mantener la homeostasis y prevenir la activación plaquetaria no deseada (Hoffman et al., 2022)

La formación del tapón plaquetario requiere que las plaquetas sufran un rápido cambio en su conformación; de su estructura discoide en reposo a una forma activa que se pueda extender sobre el subendotelio dañado y que después pueda proveer una superficie aumentada para que se sigan dando interacciones con otras plaquetas, leucocitos y factores de la coagulación (Hoffman et al., 2022).

Tras su activación, las plaquetas en contacto con la ECM experimentan un aumento de calcio intracelular que activa la gelsolina, una proteína multidominio que tiene sitios de unión a calcio y actina que corta los filamentos de actina y promueve el desensamble de la actina en el citoesqueleto en reposo de la plaqueta y permite su cambio estructural. Las plaquetas cambian su forma inicialmente de discoides a esféricas, para posteriormente desarrollar filopodios, aplanarse y extenderse sobre la superficie. Durante esta etapa, los gránulos plaquetarios asumen una posición central (Hoffman et al., 2022).

Cuando las plaquetas se activan, su citoesqueleto de actina impulsa sus gránulos hacia la membrana plasmática; estos se van a fusionar con la membrana gracias a los complejos de receptores de proteínas solubles de unión al factor sensible a la N-etilmaleimida (SNAREs), logrando la liberación de los gránulos y sus moléculas contenidas a través del sistema canicular hacia el medio externo (Firestein et al., 2022). La actividad de estos complejos proteicos es altamente regulada por chaperonas (Hoffman et al., 2022).

Estas sustancias liberadas van a desempeñar diferentes funciones; estimular o inhibir las plaquetas, células endoteliales o sanguíneas, modificar las propiedades de los trombos, regular la coagulación, colaborar con la adhesión, modular la curación de heridas, la inflamación y angiogénesis. La importancia de la liberación y correcta función de estos gránulos se evidencia al estudiar diferentes problemas de sangrado derivados de la deficiente o defectuosa liberación de los gránulos plaquetarios (Hoffman et al., 2022).

Durante este proceso de activación, las plaquetas al adherirse al colágeno y, sinérgicamente, ser estimuladas por la trombina, pierden la asimetría de su membrana y empiezan a exponer fosfatidilserina en su porción externa. La fosfatidilserina trasladada a la porción externa de la membrana plasmática de las plaquetas facilita el ensamblaje de los complejos de factores de coagulación conocidos como “tenasa intrínseca” (factores VIIIa, IXa y X) y “complejo protrombinasa” (factores Va, Xa y protrombina), contribuyendo así a la generación de trombina que ocurre en la fase de propagación de la coagulación (Hoffman et al., 2022).

Por otra parte, los fosfolípidos funcionan como reservorios de ácidos grasos, ya que al ser escindidos por medio de la fosfolipasa A2 se generan lisofosfolípidos que pueden ser metabolizados para formar ácido araquidónico y factor activador de plaquetas (PAF). El ácido araquidónico es sustrato de la enzima ciclooxygenasa 1 (COX-1), la cual se encuentra en las plaquetas y es la responsable de la generación del tromboxano A2, el cual es un potente inductor de agregación plaquetaria (Firestein et al., 2022)

La integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  es la proteína de membrana más abundante en las plaquetas, con entre 40 000 – 80 000 copias en una plaqueta en estado de reposo, pudiéndose incrementar hasta en un 10% posterior a la activación plaquetaria. La integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  pasa de una conformación de baja a alta afinidad tras la activación, permitiéndole a las plaquetas unirse de forma divalente al fibrinógeno o de forma multivalente al vWF, y así formar un puente con otras moléculas  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  activadas en plaquetas aledañas, mediando así la agregación plaquetaria. La ausencia o disfunción de la integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  en la superficie de las plaquetas produce la trombostenia de Glanzmann, un desorden que se caracteriza por sangrado de moderado a severo. La activación de las plaquetas por los agonistas previamente mencionados genera toda una regulada cascada de vías de señalización que actúan de forma sinérgica para llevar a cabo la agregación plaquetaria, y a pesar de ser altamente regulado, es un proceso que ocurre en cuestión de segundos posterior a la exposición a agonistas (Hoffman et al., 2022).

Por los mecanismos anteriores, se produce un aumento de tamaño y estabilización del tapón plaquetario y se propicia el proceso de coagulación; generando trombina y posteriormente la formación del coágulo de fibrina (Firestein et al., 2022).

En los procesos inflamatorios, las plaquetas también son de gran importancia ya que reclutan leucocitos, y por su gran número y receptores adhesivos, son capaces de influir en la extravasación de células inmunitarias. Adicionalmente, las plaquetas poseen receptores tipo Toll (TLR), miembros de la familia de receptores de reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos; la estimulación de los TLR plaquetarios promueve la producción de factor de necrosis tumoral, y la activación específica del TLR4 plaquetario promueve la interacción de plaquetas y neutrófilos, facilitando su actividad antimicrobiana (Firestein et al., 2022). (Gleason & Juul, 2019)

Asimismo, además de la ya bien conocida y descrita acción de las plaquetas en la hemostasia, se le atribuyen otras propiedades no muy bien comprendidas; como lo es su

participación en el mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos. Se teoriza de la importancia de las plaquetas en este último apartado, debido a que se describen mayores anomalías endoteliales en pacientes con trombocitopenias, tales como adelgazamientos, fenestraciones y aumento en la permeabilidad (Firestein et al., 2022).

Tras cumplir con su vida media de aproximadamente 7 a 10 días, las plaquetas son eliminadas de circulación de diferentes formas; unas se “consumen” en el mantenimiento de la integridad vascular, otras se depositan en las paredes activas de endotelio para llevar a cabo la función hemostática anteriormente descrita, y también, pueden ser secuestradas en bazo y removidas de circulación por el sistema reticuloendotelial cuando envejecen (van der Meijden & Heemskerk, 2019).

Al envejecer, las plaquetas exhiben marcadas diferencias en cuanto a su composición; las plaquetas más viejas tienen un contenido de ARN significativamente menor que las más jóvenes, lo que implica una relación directa entre el envejecimiento plaquetario y su actividad transcripcional. También, se ha demostrado que las plaquetas más viejas presentan un menor contenido de proteínas que las más jóvenes, alcanzando niveles de hasta el 50% menos de proteínas; se plantea que esta disminución del contenido proteico de las plaquetas se relacione con procesos de endocitosis o autofagia. Por otra parte, se han estudiado diferentes perfiles de expresión de receptores de superficie en plaquetas más viejas en comparación a las jóvenes, y adicionalmente, descrito cambios estructurales, tales como; reducción de talla, pérdida de aparato de Golgi y retículo endoplasmático, reducción de tamaño y complejidad del sistema canicular, reducción del número de gránulos  $\alpha$ , etc. (Harriet et al., 2023)

De forma similar, se ha demostrado que las plaquetas envejecidas tienen una limitada capacidad para modificar su estructura y formar pseudópodos para unirse al endotelio dañado, y presentan una menor activación y respuesta ante agonistas. Asimismo, estas plaquetas van a tener una reducción en la síntesis de sustancias mediadoras de la

agregación como el tromboxano A2 y prostaglandina E2, significando un desequilibrio en la amplificación de la respuesta requerida para la formación del coágulo (Harriet et al., 2023).

Análisis de la expresión de fosfatidilserina en la membrana, que sirve como un marcador de apoptosis, revelan que las plaquetas cercanas a cumplir su vida útil tienen una expresión mayor en su estado basal, lo que serviría como principal marcador de senescencia para plaquetas que están listas para continuar hacia el proceso de ser removidas de circulación sanguínea (Harriet et al., 2023).

## **CAPÍTULO 2.**

### **TRASTORNOS PLAQUETARIOS HEREDITARIOS CUANTITATIVOS; DIAGNÓSTICO E IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPÉUTICAS.**

Los trastornos plaquetarios hereditarios son un grupo heterogéneo de desórdenes de sangrado que comprenden defectos en la función plaquetaria y defectos en el número de plaquetas; debido a que estos últimos están asociados con recuentos bajos o disminución en el número de plaquetas, se les conoce como trombocitopenias hereditarias (Hoffman et al., 2022).

La historia de las trombocitopenias hereditarias se remonta al año 1948, con las primeras descripciones de pacientes que sufrían desórdenes de sangrado congénitos. Tras aproximadamente 70 años desde esas primeras anotaciones sobre estos trastornos, los avances clínicos y biomédicos han definido alrededor de 33 formas diferentes de trombocitopenias hereditarias, y se les ha asociado con defectos moleculares en al menos 32 genes. Para la definición y estudio de estos trastornos plaquetarios hereditarios cuantitativos, se requirió del desarrollo y diseminación de tecnologías como; analizadores celulares automatizados, secuenciación de Sanger, secuenciación de genoma completo y secuenciación de nueva generación (NGS) (Noris & Pecci, 2017).

En la mayoría de estos trastornos, los conteos bajos de plaquetas se explican por defectos en una o más etapas del proceso de biosíntesis de las plaquetas, mientras que, en otros la trombocitopenia es el resultado de una disminución de la vida media de las mismas (Noris & Pecci, 2017)

El principal mecanismo patogénico que lleva a las trombocitopenias hereditarias es el defecto en la diferenciación de células madre hematopoyéticas a megacariocitos, lo que provoca ausencia o reducción severa del número de estos precursores en médula ósea. En un segundo lugar, se tienen aquellos trastornos en los cuales lo que se ve afectada es la correcta maduración de esos megacariocitos, lo que lleva a una producción anormal de

plaquetas y a un aumento de megacariocitos disfuncionales y dismórficos. Otros trastornos plaquetarios cuantitativos surgen como consecuencia de mutaciones en factores de transcripción que tienen roles clave en la megacariopoyesis; en estos casos pueden ocurrir alteraciones en la poliploidización de los megacariocitos, afectación en la formación de proplaquetas e inclusive se asocian a una mayor predisposición a desarrollar neoplasias malignas como leucemia mieloide aguda. También, existen casos en los cuales la biogénesis y maduración de los megacariocitos es adecuada, pero existe un defecto en la formación de proplaquetas, en la liberación de estas o en su conversión a plaquetas en el torrente sanguíneo (Noris & Pecci, 2017).

Aunque el sangrado se identifica como la principal presentación clínica de estos trastornos plaquetarios, la tendencia al sangrado y su severidad es bastante heterogénea entre ellos; algunos no presentan sangrado del todo, otros presentan sangrados únicamente al enfrentarse a retos hemostáticos y una parte de los pacientes llegan a tener sangrados espontáneos que incluso pueden llegar a poner en riesgo su vida. En las trombocitopenias hereditarias donde no hay alteraciones en la función plaquetaria, la tendencia al sangrado correlaciona de forma inversa con el conteo plaquetario; presentándose principalmente como un sangrado mucocutáneo con petequias, equimosis, epistaxis, menorragia y hemorragias gastrointestinales (Noris & Pecci, 2017).

En la mayoría de estos trastornos hereditarios, el grado de la trombocitopenia se mantiene estable a lo largo de la vida. Sin embargo, dependiendo del tipo de trastorno que sufran, los pacientes pueden sufrir aumentos o disminuciones de sus recuentos, los cuales pueden ser sostenidos en el tiempo o pasajeros (Noris & Pecci, 2017).

Las alteraciones moleculares que llevan al desarrollo de estos trastornos también pueden ocasionar alteraciones en el fenotipo de los pacientes, y se pueden manifestar de diversas formas como; deformidades esqueléticas, desarrollo cognitivo deficiente,

malformaciones en el sistema nervioso central o sistema cardiovascular, e inclusive como inmunodeficiencias (Noris & Pecci, 2017)

La sospecha y posterior diagnóstico de pacientes con trombocitopenias hereditarias puede ser más direccionado en aquellos con historia familiar bien documentada o con trombocitopenias reportadas desde el nacimiento, sin embargo, esto no siempre es así y la identificación del origen genético de las trombocitopenias hereditarias usualmente es complicado, lo que se refleja en la gran cantidad de pacientes que alcanzan la vida adulta con un diagnóstico erróneo. Las características típicas de pacientes que sufren de trastornos plaquetarios hereditarios son: historia de larga data de sangrados de diferente severidad, una tendencia a sangrado mayor a la esperada basada en el recuento plaquetario, hallazgos de plaquetas gigantes o dismórficas en el estudio de frotis de sangre periférica (Noris & Pecci, 2017).

Hasta hace unos años, el algoritmo a seguir una vez que se sospechaba que una trombocitopenia tenía un componente genético hereditario, era la realización de pruebas como agregación plaquetaria, citometría de flujo para glicoproteínas de la superficie plaquetaria, análisis morfológicos de plaquetas en el frotis sanguíneo y ensayos de inmunofluorescencia. Actualmente, se cuenta con novedosas tecnologías de biología molecular, como la secuenciación de nueva generación (NGS) que permite tener una plataforma diagnóstica más dirigida hacia genes causantes de estos trastornos. Sin embargo, a pesar de la aplicación de NGS, las bases moleculares de algunos trastornos permanecen sin identificar, y son necesarios estudios de secuenciación de exoma o genoma completo para identificarlos (Noris & Pecci, 2017).

En cuanto al manejo clínico de los pacientes con trombocitopenias hereditarias, la mayoría al no tener sangrados espontáneos y en el caso de tenerlos ser leves, principalmente se mantienen únicamente bajo supervisión médica periódica y con intervenciones profilácticas al momento de someterse a retos hemostáticos como cirugías,

procedimientos invasivos o partos. En el caso de pacientes que presentan hemorragias, el manejo se basa principalmente en medidas locales y transfusión de plaquetas (Noris & Pecci, 2017).

A continuación, se abordarán de forma más detallada los principales trastornos plaquetarios hereditarios cuantitativos.

## **I. Anormalidades en la diferenciación de megacariocitos.**

### **Trombocitopenia amegacariocítica congénita (CAMT).**

La trombocitopenia amegacariocítica congénita, conocida por sus siglas en inglés como “CAMT”, es un desorden autosómico recesivo que clásicamente se presenta desde la infancia como una trombocitopenia aislada, causada por una reducción o ausencia de megacariocitos en médula ósea, sin afectación de leucocitos ni eritrocitos (Hoffman et al., 2022).

Este trastorno se atribuye a mutaciones en el gen *MPL*, que codifica por el receptor del mismo nombre, que funge como receptor de trombopoyetina. Las mutaciones descritas en *MPL* incluyen mutaciones sin sentido, mutaciones con cambio de sentido, cambio en el marco de lectura y mutaciones en el “splicing”. Estas mutaciones pueden causar una disminución de la expresión del receptor MPL en la membrana celular, o bien, un defecto en la unión y activación del receptor en respuesta a TPO (Hoffman et al., 2022).

Se han descrito al menos 63 mutaciones distintas en pacientes con CAMT, que se distribuyen a lo largo de los 12 exones del gen. Los individuos que poseen una mutación heterocigota de este gen tienen recuentos plaquetarios normales y no muestran síntomas característicos de este desorden. Por otro lado, los individuos afectados poseen la mutación en ambos alelos, ya sea en un estado homocigoto o heterocigoto compuesto (Germeshausen & Ballmaier, 2021).

Debido a correlaciones genotipo-fenotipo identificadas en CAMT, se establecieron dos grupos pronósticos dentro de esta entidad; En CAMT tipo I, se describen mutaciones sin sentido, cambios en el marco de lectura y mutaciones en el splicing que generan que se pierda por completo la función y señalización del receptor MPL, como consecuencia se tiene una trombocitopenia persistente y una rápida progresión a pancitopenia. Si bien el rol de la TPO es crítico en la proliferación, supervivencia y diferenciación de los megacariocitos, y eso explica la trombocitopenia, hay que tener en cuenta que las células madre hematopoyéticas también expresan MPL, y su señalización normalmente promueve su supervivencia; por lo que la afectación de este receptor puede resultar en una depleción de células progenitoras hematopoyéticas y pancitopenia. Por otra parte, en CAMT tipo II se tienen mutaciones sin sentido y de “splicing” que causan una expresión reducida del receptor MPL. Pacientes con estas mutaciones tienen un curso clínico menos severo (Hoffman et al., 2022).

Las primeras manifestaciones de CAMT se dan en los primeros días de vida los pacientes, estos se presentan con una trombocitopenia aislada y sostenida. Clínicamente, con el curso de afección, mayoría de los pacientes presentan petequias, moretones y sangrado durante los primeros años de vida, y no presentan anomalías físicas (Germeshausen & Ballmaier, 2021). Las anomalías más frecuentes son neurológicas, incluyendo varios grados de hipoplasia cerebelar, atrofia cerebral, atrofia cortical y lisencefalia. También se pueden presentar con malformaciones cardíacas como defectos en septos atriales, en septos ventriculares y coartación de la aorta (Hoffman et al., 2022).

En cuanto a hallazgos de laboratorio, lo más usual es que CAMT se presente como una trombocitopenia, con niveles normales de hemoglobina y recuento de leucocitos. Ante la visualización del frotis sanguíneo, las plaquetas exhiben un tamaño y apariencia normal. Los aspirados y biopsias de médula ósea muestran una celularidad normal, con la

particularidad de una marcada reducción o ausencia de megacariocitos (Hoffman et al., 2022).

Para el diagnóstico de CAMT, es necesario una buena documentación de la clínica e historial del paciente, la demostración de la trombocitopenia periférica y la ausencia de megacariocitos en médula ósea, además de la demostración molecular de la mutación en el gen *MPL* mediante secuenciación (Al-Huniti & Kahr, 2020).

En lo que a terapia respecta, las medidas de soporte habituales para trombocitopenias no han tenido mucho éxito en CAMT; usualmente se abordan con transfusiones de concentrados de plaquetas aquellos casos de trombocitopenias que ponen en riesgo la vida de los pacientes, y si se presenta pancitopenia, transfusiones de glóbulos rojos y antibióticos deben contemplarse. Es importante anotar que, las transfusiones de plaquetas deben utilizarse de forma discrecional y únicamente cuando corra riesgo la vida del paciente; lo que implica un estudio integral de los recuentos plaquetarios y la clínica (Germeshausen & Ballmaier, 2021). Se prefiere que las plaquetas provengan de un mismo donante, para minimizar riesgo de aloinmunización. La administración de trombopoyetina en estos pacientes no tiene ningún efecto terapéutico, dado a que ya de por sí cuentan con niveles endógenos de trombopoyetina elevados y son incapaces de responder a ella debido a la mutación en el receptor MPL (Hoffman et al., 2022).

Por lo anterior, ante un diagnóstico, se debe de empezar con la tipificación HLA de familiares y a preparar al paciente para un trasplante de progenitores hematopoyéticos, que ha probado ser la única terapia curativa para CAMT (Hoffman et al., 2022).

### **Trombocitopenia con ausencia de radio (TAR).**

La trombocitopenia con ausencia de radio, conocida por sus siglas en inglés como “TAR”, es un desorden congénito que se caracteriza por una aplasia bilateral de los radios en asociación con trombocitopenia. La prevalencia estimada de este síndrome es de al

menos uno de cada 100000 nacimientos mundialmente, con una proporción ligeramente mayor en el sexo femenino (Strauss et al., 2023).

Con respecto a la etiología de este desorden, TAR se considera un desorden congénito de herencia autosómica recesiva que implica mutaciones en el gen *RBM8A*, el cual se localiza en el brazo largo del cromosoma 1 (1q21.1). La vasta mayoría de los pacientes acarrean una microdelección heterocigota en uno de los cromosomas que compromete alrededor de 8-12 genes, incluyendo el *RBM8A*. En segundo lugar de frecuencia, se encuentran los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en una región no codificante de *RBM8A*, que resulta en un heterocigoto compuesto. (Strauss et al., 2023).

Aunque *RBM8A* es ampliamente expresado en el cuerpo, es incierto el motivo por el cual se ven principalmente afectados los linajes de osteoblastos y megacariocitos. Se dice que la mutación en 5'UTR introduce un sitio de unión para el factor de transcripción Evf1 que actúa como un represor transcripcional que va a reducir la expresión de *RBM8A*. Esto es importante, ya que el gen *RBM8A*, codifica por la proteína llamada Y14 que tiene un rol crucial en el correcto "splicing" alternativo de los genes (Strauss et al., 2023).

La trombocitopenia característica de TAR se le atribuye a la escasez de megacariocitos en la médula ósea de estos pacientes. La deficiencia o ausencia de los megacariocitos es consecuente a un defecto en el crecimiento específico del linaje de estas células, sin que haya una afectación en la señalización TPO-c-MPL, ya que, en estos pacientes el receptor MPL se expresa de forma normal y no se han descrito mutaciones asociadas. A pesar de lo anterior, la TPO no logra promover la diferenciación de progenitores hematopoyéticos hacia el linaje megacariocítico (Strauss et al., 2023). Usualmente la trombocitopenia perinatal mejora entre el primer y segundo año, pero nunca llegan a presentar recuentos plaquetarios normales (Brodie et al., 2019).

En cuanto a la presentación clínica de TAR, los pacientes nacen con recuentos bajos de plaquetas y usualmente presentan petequias. El rasgo más llamativo de estos pacientes

son las malformaciones esqueléticas, en las cuales se presenta un acortamiento de los antebrazos debido a la falta bilateral del radio y otras malformaciones en dedos de la mano, pero con la presencia del dedo pulgar. Sin embargo, también se pueden presentar con otras anomalías óseas como: dislocación de cadera, displasia de rodilla, baja estatura, y malformaciones en los pies. Estas malformaciones óseas varían de paciente a paciente y no se correlacionan con la severidad del cuadro ni con mutaciones en particular (Strauss et al., 2023). Adicionalmente, se ha reportado enfermedad cardíaca congénita en el aproximadamente el 10% de los pacientes, y anomalías renales en el 7% de los afectados por TAR (Brodie et al., 2019).

Es importante señalar que, por la presentación clínica y las afecciones esqueléticas, el principal diagnóstico diferencial para TAR es la anemia de Fanconi; a nivel físico se diferencian puesto a que en la anemia de Fanconi los pulgares presentan malformaciones o están ausentes, mientras que en TAR estos no presentan alteraciones; y a nivel molecular tienen mecanismos y diagnósticos completamente distintos (Brodie et al., 2019).

El diagnóstico genético apropiado de TAR no fue posible si no hasta el año 2012, cuando se comprendieron los mecanismos moleculares que llevaban a este trastorno. Antes, el diagnóstico de TAR se realizaba únicamente por la clínica del paciente y el examen físico. Actualmente, el método más apropiado para el diagnóstico de TAR es mediante análisis genético de *RBM8A*; esto mediante una combinación de secuenciación de Sanger, para detectar los SNPs, y un método que sea capaz de detectar microdeleciones, como una PCR cuantitativa empleando ADN genómico. Más actualmente se han desarrollado métodos para el estudio de estas mutaciones a través de plataformas de NGS, las cuales han sido satisfactorias en la detección de SNPs (Strauss et al., 2023).

El tratamiento de este síndrome se enfoca en resolver la trombocitopenia y las complicaciones de sangrado según se vayan presentando; el tratamiento es meramente sintomático y de soporte. La infusión de concentrados plaquetarios se debe relegar

estrictamente a aquellos casos en los cuales se presente un sangrado severo que ponga en riesgo la vida del paciente (Strauss et al., 2023).

## **II. Anormalidades en la maduración de megacariocitos**

### **Desorden plaquetario familiar con predisposición a leucemia mieloide aguda.**

El desorden plaquetario familiar con predisposición a malignidad mieloide, conocido por sus siglas en inglés como “FPFMM” es el nombre con el cual se le conoce a un síndrome de herencia autosómica dominante que se caracteriza por una trombocitopenia de leve a moderada, alterada función plaquetaria y predisposición para desarrollar malignidades hematológicas (Cunningham et al., 2023).

En este trastorno, el gen implicado es el gen *RUNX1*. Este gen codifica por el factor de transcripción *RUNX1*, el cual es un regulador clave del linaje megacariocítico, el cual participa en una compleja red transcripcional implicada en la biogénesis y función de las plaquetas. Su papel es tan importante, que se ha mostrado que, al silenciar este gen en ratones, se da un arresto en la maduración de megacariocitos y una subsecuente reducción sustancial en los conteos plaquetarios (Glembotsky et al., 2019).

Las mutaciones somáticas en *RUNX1* se encuentran entre los defectos más comúnmente asociados a malignidades hematológicas, sin embargo, las mutaciones de línea germinal se consideran bastante raras, habiendo sido descritas en apenas cerca de 200 familias alrededor del mundo (Cunningham et al., 2023).

Estudios funcionales demuestran que, las mutaciones que causen una ausencia de *RUNX1* resultan en un completo bloqueo de la diferenciación de células madre hematopoyéticas, y en este caso, se refleja como una maduración anormal de los megacariocitos, con afectación en la ploidía y formación de proplaquetas (Schlegelberger & Heller, 2017).

La predisposición a malignidades mieloides es la preocupación principal para los pacientes, sus familiares y personal de salud a cargo, ya que se han reportado incidencias de hasta 45% con una media de edad a la presentación de 33 años. Las entidades que se presentan más comúnmente en pacientes con FPDMM son los síndromes mielodisplásicos y la leucemia mieloide aguda. Sin embargo, también se han descrito otras malignidades como: leucemia linfoblástica aguda (B y T), tricoleucemia, linfoma no-Hodgkin y leucemia mielo-monocítica crónica (Cunningham et al., 2023).

Ya que esta transformación a malignidad mieloide ocurre con penetrancia incompleta y a edad variable, se sugiere el hecho de que las mutaciones de línea germinal del gen *RUNX1* son insuficientes por sí mismas para inducir la malignidad, por lo que se debe considerar la ocurrencia de otras alteraciones genéticas complementarias, en su mayoría somáticas, como requisito para el desarrollo de la leucemia, las cuales inclusive pueden ser mutaciones en el segundo alelo de *RUNX1* (Antony-Debre et al., 2016).

Los pacientes con FPDMM se presentan con una historia de conteos plaquetarios con una disminución de leve a moderada, con diátesis hemorrágica. Las plaquetas de estos pacientes no presentan alteraciones en su tamaño (Schlegelberger & Heller, 2017).

En cuanto a los criterios diagnósticos y la identificación de pacientes en riesgo, se debe primero evaluar que las características clínicas se asocien con el trastorno; por lo que aquellos pacientes que presenten una trombocitopenia persistente, con una función plaquetaria alterada, y además posean familiares en segundo y tercer grado con tendencias a sangrado o a presentar malignidades hematológicas, deben ser evaluados. Se debe realizar una evaluación genética integral que involucre una revisión del récord médico personal y familiar, incluyendo el análisis de pruebas moleculares y citogenéticas (Schlegelberger & Heller, 2017).

Actualmente, el diagnóstico de este desorden se realiza a través de la detección de mutaciones patogénicas en el gen *RUNX1*; lo cual tradicionalmente se ha realizado

mediante secuenciación de Sanger, pero ha sido poco a poco sustituido por el uso de NGS, la cual puede aplicarse tanto a muestras de sangre periférica como a médula ósea. En el gen *RUNX1* también se han descrito grandes deleciones que puedan generar esta afección, para estos casos se emplea el uso de microarreglos, los cuales permiten identificar deleciones grandes, incluyendo la pérdida completa del gen (Schlegelberger & Heller, 2017).

El tratamiento en pacientes con desorden plaquetario familiar con predisposición a malignidad se limita a ser de apoyo ante los síntomas; en el cual los concentrados de plaquetas, como en otros trastornos plaquetarios cuantitativos, únicamente deben reservarse para situaciones donde peligra la vida del paciente (Toratani et al., 2023).

La línea más moderna, y cada vez más accesible de tratamiento, es el trasplante de progenitores hematopoyéticos, el cual en la actualidad ha presentado una mayor tasa de éxito debido a los nuevos esquemas profilácticos para evitar la enfermedad de injerto vs huésped. En este apartado, se hace la anotación de que al tratarse de mutaciones germinales, hay que considerar que, si los donadores de células madre para el trasplante de progenitores son familiares de primer o segundo grado pueden acarrear estas mutaciones; en este caso es importante hacer una evaluación integral para definir si es necesario o prudente realizar un tamizaje antes de proceder con el trasplante o si se opta por donadores no relacionados al paciente. Hasta la fecha, el trasplante de progenitores hematopoyéticos es la única terapia curativa para este desorden (Toratani et al., 2023).

#### **Síndrome de Jacobsen y trombocitopenia de Paris-Trousseau.**

El síndrome de Jacobsen, también conocido como deleción 11q23, es una patología que afecta genes continuos ubicados en el cromosoma 11, con deleciones que varían entre las 7-20 Mb. Tiene una prevalencia estimada de 1 por cada 100 000 nuevos nacimientos y se presenta con una mayor frecuencia en mujeres que en hombres, con una razón de 2:1 (Serra et al., 2021).

Las principales manifestaciones del síndrome de Jacobsen son retrasos en el crecimiento y el desarrollo, malformaciones craneofaciales, desórdenes sanguíneos, malformaciones cardíacas, urogenitales y de tracto gastrointestinal, además de posibles afecciones a nivel cerebral, ocular, esqueleto y desbalances hormonales e inmunes. Al menos el 20% de los pacientes mueren en los primeros dos años de vida a consecuencia de enfermedad cardíaca congénita, y menos comúnmente, por sangrados (Serra et al., 2021).

El área de la delección abarca alrededor de 100 genes diferentes, entre los cuales se destacan algunos como; *JHY*, *BSX*, *NRGN*, *FEZ1*, *CHEK1*, *ETS1*, *FLI1*, *KCNJ1*, *ARHGAP32*, *ADAMTS8*, *JAM3* y *B3GAT1*. Y aunque se plantea que los pacientes con las delecciones más grandes, y, por ende, mayor número de genes afectados van a tener una clínica menos favorable, lo cierto es que el fenotipo varía de gran manera entre los pacientes (Serra et al., 2021).

Usualmente el diagnóstico de este síndrome se realiza en la infancia, basándose en la presentación clínica y hallazgos citogenéticos de los pacientes. Usualmente se realiza un análisis de cromosomas, también conocido como cariograma, mediante la técnica de bandeo, utilizando una tinción G para bandeo cromosómico y se pueden evidenciar las delecciones. También, se puede complementar con un estudio de polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) utilizando paneles de microarreglos para la detección de estos SNPs (Chen et al., 2020).

Aproximadamente el 90% de los pacientes con síndrome de Jacobsen, presentan entre sus complicaciones una macro-trombocitopenia denominada síndrome o trombocitopenia de Paris-Trousseau (Malia et al., 2015)

El síndrome París-Trousseau, es un trastorno plaquetario autosómico dominante, que se manifiesta como una macro-trombocitopenia neonatal y gránulos  $\alpha$  gigantes, estos últimos detectables mediante microscopía electrónica. A este trastorno se le ha asociado

con deleciones terminales en el cromosoma 11 que abarcan el gen *FLI1* que codifica por el factor de transcripción “friend leukemia integration 1” (FLI1) que es crucial en el proceso de diferenciación normal de los megacariocitos (Al-Huniti & Kahr, 2020).

El gen *FLI1* se encuentra en la posición 11q24. Es un proto-oncogén que interactúa con un gran número de genes involucrados en la vasculogénesis, hematopoyesis, adhesiones intercelulares, etc. La pérdida en forma heterocigota de este gen se asocia con dismegacariocitopoyesis y a la trombocitopenia de Paris-Trousseau. Por otra parte, la pérdida en estado homocigota de este gen causa muerte embrionaria, debido a hemorragias intracraneales incompatibles con la vida (Favier et al., 2015).

Se dice que la macro-trombocitopenia puede variar o resolver con el tiempo, pero a este síndrome también se le asocia con disfunción plaquetaria que persiste a lo largo de la vida del individuo. La médula ósea de estos pacientes exhibe una hiperplasia de megacariocitos inmaduros, lo que refleja una maduración anormal y retardada (Al-Huniti & Kahr, 2020).

En este síndrome la tendencia a sangrado es típicamente leve, sin embargo, se describe como clínicamente significativo ante retos hemostáticos, llegándose a reportar inclusive hemorragias intracraneales que ponen en riesgo la vida del paciente. También, se asocia con rasgos fenotípicos como defectos cardiacos congénitos, discapacidad intelectual, malformaciones en: tracto gastrointestinal, riñones, genitales, esqueleto y sistema nervioso central (Al-Huniti & Kahr, 2020).

Para el diagnóstico de este síndrome, la metodología actualmente recomendada es la hibridación genómica comparativa, conocida como ArrayCGH o aCGH. Mediante esta técnica, se utiliza la comparación del material genético del paciente contra uno de referencia para detectar anomalías pequeñas que no puedan ser detectadas mediante un estudio citogenético convencional, especialmente centrándose en la deleción del gen *FLI1*. Lo que

se debe complementar de forma integral con otros datos de laboratorio mencionados anteriormente, y la historia clínica (Serra et al., 2021).

En general, el tratamiento para aquellos casos que presenten una tendencia aumentada al sangrado incluye medidas de soporte, agentes antifibrinolíticos y transfusiones de plaquetas (Al-Huniti & Kahr, 2020).

### **Síndrome de la plaqueta gris (GPS).**

El síndrome de la plaqueta gris, conocido por sus iniciales en inglés como “GPS”, es un desorden autosómico recesivo, que morfológicamente presenta plaquetas anormalmente grandes y pálidas al frotis sanguíneo; las cuales al estudiarse mediante microscopia electrónica presentan una deficiencia de gránulos  $\alpha$ , lo que les da un aspecto grisáceo. Este trastorno es producido por variaciones del gen *NBEAL2*, que causan alteraciones en la proteína del mismo nombre, que da como resultado anomalías en los megacariocitos que incluyen la liberación ectópica de proteínas de los gránulos  $\alpha$ ; lo que explica la progresiva fibrosis de la médula ósea y la hematopoyesis extramedular que lleva a esplenomegalia en la mayoría de los pacientes (Al-Huniti & Kahr, 2020)

El gen *NBEAL2* se compone de 54 exones, y se localiza en el cromosoma 3p21. Este gen, codifica por la proteína NBEAL2, la cual participa en interacciones proteína-proteína, dinámica de membranas, tráfico vesicular, regulación del tamaño de lisosoma, etc. Esta proteína se expresa en células hematopoyéticas como megacariocitos, plaquetas, monocitos, neutrófilos y células NK (Glembotsky et al., 2021).

Se han descrito más de 89 variantes del *NBEAL2* en individuos homocigotos y heterocigotos; entre las cuales se encuentran cambios en el marco de lectura, mutaciones sin sentido, con cambio de sentido, en el “splicing” alternativo e inserciones y deleciones pequeñas. Sin embargo, hasta el momento no se han definido “hotspots” o “sitios calientes” para estas mutaciones, y tampoco se ha podido realizar asociaciones genotipo-fenotipo (Glembotsky et al., 2021).

Fisiológicamente, los gránulos  $\alpha$  se forman mediante la fusión de vesículas de la red de transporte asociada al aparato de Golgi; las proteínas de estos gránulos, como el factor plaquetario 4 (PF4), vWF, y la tromboespondina, son sintetizadas en el megacariocito y posteriormente son entregadas a estos gránulos mediante vías de transporte endógenas. Por lo anterior, los investigadores concluyen que la pérdida de función de *NBEAL2*, afecta principalmente el empaquetamiento de estas proteínas en esos gránulos, y no propiamente la síntesis del contenido de los gránulos (Glembotsky et al., 2021).

Estudios de cultivos de megacariocitos de sangre periférica y médula ósea de pacientes mostraron que, a pesar de que los megacariocitos de individuos con GPS tenían un desarrollo y maduración normal, presentan un defecto en la formación de proplaquetas; presentando una arquitectura aberrante con escasas ramificaciones, reducido número de brotes y tamaño aumentado de los mismos, lo que se traduce en problemas en la liberación de plaquetas y una consecuente disminución en sus conteos circulantes. Aunque se desconoce la participación *NBEAL2* en este mecanismo, se ha logrado reproducir el mismo defecto en ratones en los cuales se silencia el gen *NBEAL*, evidenciando una asociación (Glembotsky et al., 2021).

Los pacientes con GPS presentan trombocitopenia moderada en su gran mayoría, sin embargo, esta trombocitopenia puede ser progresiva conforme avanza la edad y se va desarrollando la fibrosis medular y la esplenomegalia. En el frotis sanguíneo de estos pacientes se van a encontrar plaquetas de gran tamaño, lo que es congruente con el volumen plaquetario medio aumentado que se reporta en estos individuos. La diátesis hemorrágica es usualmente de leve a moderada. Y aunque mediante citometría de flujo no se demuestra una anormalidad en la expresión de glicoproteínas de superficie plaquetaria, sí se ha descrito que los pacientes con GPS tienen una respuesta afectada a agonistas como trombina, colágeno, ADP y ristocetina en pruebas de agregación plaquetaria (Glembotsky et al., 2021).

La deficiencia de gránulos  $\alpha$ , la presentación más característica de este desorden se debe demostrar mediante microscopía electrónica, que es el estándar de oro en estos casos. Las plaquetas presentan una marcada disminución o ausencia de los gránulos  $\alpha$ , y frecuentemente también se puede evidenciar vacuolización citoplasmática. Además de la microscopía electrónica, también se puede utilizar inmunofluorescencia marcando el contenido de los gránulos  $\alpha$ , y de esa forma demostrar su presencia o ausencia en extendidos sanguíneos (Glembotsky et al., 2021).

En el síndrome de la plaqueta gris, la metodología diagnóstica más adecuada sigue siendo la secuenciación de Sanger del gen *NBEAL2* completo, con el fin de poder detectar la amplia gama de mutaciones que se han descrito y aquellas por describir. También, la demostración de las características fenotípicas, en conjunto con la secuenciación de alto rendimiento como los paneles de genes para desordenes plaquetarios hereditarios y la secuenciación de exoma completo son metodologías en las cuales se puede apoyar el diagnóstico (Glembotsky et al., 2021).

El tratamiento para el sangrado de estos pacientes varía de acuerdo con la severidad, desde medidas de manejo local, tratamiento de soporte, agentes antifibrinolíticos, transfusiones de plaquetas, administración de desmopresina y esplenectomía (Al-Huniti & Kahr, 2020). Aunque se ha demostrado que el tratamiento con eltrombopag ha sido útil en la corrección de la trombocitopenia en otros trastornos plaquetarios hereditarios, para el síndrome de la plaqueta gris sus beneficios aún permanecen inciertos, e incluso se dice que pueden acelerar la fibrosis medular (Glembotsky et al., 2021).

Se han documentado trasplantes de células madre exitosos en pacientes con mielofibrosis y pancitopenia con una recuperación total, por lo que se propone como un tratamiento curativo para pacientes con un curso clínico severo (Glembotsky et al., 2021).

### **III. Anormalidades en la formación de proplaquetas y liberación de plaquetas.**

#### **Enfermedades relacionadas a *MYH9*: Anomalía de May-Hegglin.**

La anomalía de May-Hegglin, conocida por sus siglas en inglés como “MHA”, forma parte del grupo de trastornos denominado “enfermedades relacionadas con *MYH9*” (*MYH9*-RD), el cual corresponde a un desorden de herencia autosómica dominante, consecuente a la mutación del gen *MYH9* (myosin heavy chain 9). Se propone que el trastorno *MYH9*-RD engloba cinco diferentes enfermedades; la anomalía de May-Hegglin, el síndrome de Sabastian, el síndrome de Fetcher, el síndrome de Epstein y la hipoacúsica autosómica dominante DFNA17. Sin embargo, en publicaciones más recientes, al estas compartir la mutación en *MYH9*, se teoriza que dichas entidades podrían corresponder a diferentes presentaciones clínicas de la misma enfermedad. Se han descrito más de 80 mutaciones de *MYH9*, y a la variación entre las mutaciones es a lo que se atribuye el amplio rango de fenotipos que se presenta (Reddy et al., 2021).

El gen *MYH9* se ubica en el cromosoma 22 (22q12-13) y codifica por la cadena pasada de la miosina no-muscular IIA (NMMHC-IIA). La proteína NMMHC-IIA se expresa en plaquetas, granulocitos, hígado, riñón, ojos, cóclea, etc; y se relaciona con motilidad celular, citoquinesis, fagocitosis, mantenimiento de la estructura celular y desarrollo (Yang et al., 2020).

Las anormalidades en esta proteína en las plaquetas, provoca fragmentación y maduración deficiente, lo que resulta en una macro-trombocitopenia; ya que a pesar de que los megacariocitos son normales, la ramificación de las proplaquetas se ve afectada, además que la alteración en la migración de los megacariocitos puede contribuir con la liberación ectópica de plaquetas (Fernandez-Prado et al., 2019). Por otra parte, esta proteína anormal tiende a precipitar en los granulocitos como cuerpos de inclusión similares a los cuerpos de Döhle. Adicionalmente, uno de los exones de *MYH9* es expresado en las

células distales del túbulo renal y en la cóclea, lo que explica por qué algunos pacientes se presentan con pérdida de la audición y fallo renal (Reddy et al., 2021).

MHA es una enfermedad que se puede presentar con una gran variedad de síntomas hemorrágicos; tanto en severidad, características o necesidad de tratamiento. Dada la baja frecuencia, la variabilidad de presentación y la falta de conocimiento respecto a esta enfermedad, los pacientes con MHA son maldiagnosticados o son sometidos a estudios diagnósticos invasivos innecesarios, como los aspirados de médula ósea (Reddy et al., 2021).

Los pacientes con MHA usualmente son asintomáticos, pero cuando se manifiestan clínicamente se presentan con sangrados que van desde mínimos con epistaxis ocasionales, hasta hematomas asociados a sangrados más extensos, menorragia o sangrados postoperatorios bastante importantes. Estos hallazgos, usualmente se continúan de un hemograma completo que presenta una característica trombocitopenia de rango variable (Reddy et al., 2021).

Ante este escenario, al tener las manifestaciones de sangrado y la trombocitopenia, el principal diagnóstico diferencial es la púrpura trombocitopénica inmune, es por ello que se vuelve crucial la revisión del frotis de sangre periférica y evidenciar características propias de MHA como lo son las macroplaquetas y las inclusiones en forma de medialuna en los neutrófilos. Estudios más especializados, como la microscopía electrónica, revelan plaquetas estructuralmente anormales debido a una anomalía en la organización de los microtúbulos (Reddy et al., 2021). Adicionalmente, se pueden emplear tinciones de inmunofluorescencia empleando anticuerpos marcados contra la proteína NMMHC-IIA en extendidos sanguíneos y así demostrar la presencia de estos agregados proteicos en los leucocitos, como una forma más específica de apoyo diagnóstico (Barros Pinto & Marques, 2019).

Para la confirmación del diagnóstico es necesario recurrir a estudios moleculares, con la salvedad de que al presentarse tanta variabilidad en las mutaciones de *MYH9*, se recomienda recurrir a técnicas como la secuenciación del gen o a la secuenciación dirigida del exoma, y de esa forma poder captar mutaciones aún no descritas (Yang et al., 2020).

En cuanto al tratamiento, la mayoría de los pacientes con MHA tienen un curso clínico que les permite ser abordados con medidas generales para evitar sangrados como transfusiones de plaquetas o agentes hemostáticos. Sin embargo, estudios recientes han propuesto la terapia con eltrombopag como una excelente alternativa para los pacientes con MHA u otra *MYH9*-RD; este medicamento actúa estimulando la producción de plaquetas mediante la activación del receptor de trombopoyetina, causando una corrección de la trombocitopenia y una disminución importante en la tendencia de sangrado. Existen otros medicamentos agonistas del receptor de TPO, como el romiplostim, que puede emplearse como una alternativa terapéutica (Reddy et al., 2021).

### **Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS).**

En 1973, el Dr. Alfred Wiskott realizó la anotación de tres hermanos que murieron temprano en la infancia con historia de una trombocitopenia de aparición temprana, complicada con infecciones frecuentes y eczema severo. Mediante observaciones del extendido sanguíneo se evidenció que las plaquetas de dichos pacientes tenían un tamaño reducido, en contraste a las plaquetas de tamaño aumentado que usualmente se encontraban en pacientes con otras trombocitopenias conocidas en la época. Posteriormente, 17 años después, el Dr. Robert Anderson Aldrich estudió una familia de varias generaciones en las que los niños morían durante la infancia por complicaciones similares, demostrando una herencia ligada al cromosoma X. Gracias a estos dos aportes, se definió el síndrome hasta ahora conocido como síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), en honor a ambos (Mallhi et al., 2021).

El síndrome de Wiskott-Aldrich, conocido por sus siglas en inglés como WAS, es un desorden ligado al X caracterizado por trombocitopenia, eczema, inmunodeficiencia y riesgo aumentado a desarrollar malignidades. Este síndrome surge como consecuencia de la mutación del gen *WAS*, localizado en el brazo corto del cromosoma X (Xp11.22-p11.23), que codifica por la proteína WASp, la cual es específica de linaje hematopoyético y es un importante reguladora y modeladora del citoesqueleto de actina (Ferrua et al., 2020).

Las mutaciones en *WAS* que resultan en una disminución, mas no ausencia, de la proteína WASp, causan una presentación menos severa denominada trombocitopenia ligada al X (XLT) que se asocia con trombocitopenia y más leve eczema e inmunodeficiencia; por otra parte, mutaciones de ganancia de función en el dominio de unión a GTPasa de la proteína WASp, causan otra presentación denominada neutropenia ligada al X (XLN), que se caracteriza por neutropenia y mielodisplasia variable (Bildik et al., 2022).

La proteína WASp es necesaria para varios procesos celulares en las plaquetas como la regulación de la formación del podosoma en los megacariocitos, que se asocia con la formación de proplaquetas, y por lo tanto se explica el defecto en el conteo, tamaño y morfología de las plaquetas encontradas en WAS. En la ausencia de WASp, se ve afectada la polimerización del citoesqueleto de actina en los megacariocitos, lo que genera una liberación prematura de las plaquetas y lleva a su acumulación en médula ósea. Finalmente, las plaquetas de los pacientes con WAS terminan teniendo formas y estructura irregular, carencia de pseudópodos, menor cantidad de gránulos  $\alpha$ , y además, problemas para dispersarse y agregar (Fathi et al., 2019).

En cuanto a la inmunodeficiencia asociada a WAS, se explica debido a que al ser WASp una de las principales proteínas involucradas en la dinámica del citoesqueleto, su ausencia o expresión residual, generan defectos funcionales en las células del sistema inmune. Principalmente, se afecta la formación de la sinapsis inmunológica entre los

linfocitos T, y los receptores de células T (TCR), por lo cual esta importante vía de activación inmune se ve truncada. Adicionalmente, se ve reducida la actividad citotóxica de células T, células NK y linfocitos T reguladores, lo que limita la eliminación de patógenos. Por último, la motilidad, adhesión y migración de los linfocitos B también es deficiente en pacientes con WAS (Sudhakar et al., 2021).

Al ser un trastorno asociado al cromosoma X, la historia familiar es muy importante para la sospecha y eventual diagnóstico de estos pacientes. Los hallazgos clínicos más comunes en los pacientes con WAS, son aquellos propios de una diátesis hemorrágica como petequias y equimosis. A nivel de laboratorio, estos pacientes se presentan con una trombocitopenia persistente, cuya mayor característica diferencial es un tamaño plaquetario reducido, evidente al frotis sanguíneo y a parámetros como el volumen plaquetario medio (VPM), el cual se encuentra disminuido. Adicionalmente, las infecciones recurrentes, entre las cuales destaca la otitis, y la anemia causada por la pérdida crónica de sangre, son otras presentaciones comunes en estos pacientes (Bildik et al., 2022).

Para su diagnóstico, al haber sido descritas más de 400 diferentes mutaciones causantes de WAS a lo largo de los 12 exones del gen, la metodología recomendada es la secuenciación del gen *WAS*. Idealmente, este proceso se puede realizar primero en una secuenciación masiva en paralelo en plataformas como Illumina, y posteriormente debe ser confirmada dicha mutación o delección mediante secuenciación de Sanger (Fathi et al., 2019).

El tratamiento de los pacientes con WAS usualmente se maneja de forma convencional con antibióticos profilácticos, infusiones de anticuerpos, medicamentos antivirales. Se emplean medicamentos como eltrombopag o romiplostim para tratar de corregir la trombocitopenia, y algunos pacientes hasta son candidatos a esplenectomía con el fin de lograrlo. Además, se evalúa la administración de concentrados plaquetarios para

corregir la trombocitopenia ante sangrados que amenacen la vida del paciente (Mallhi et al., 2021).

Hasta la fecha, el único tratamiento considerado como curativo para WAS es el trasplante de células madre hematopoyéticas, el cual presenta un mayor éxito cuando se realiza antes de los dos años y con donadores que sean familiares con HLA totalmente compatibles, de esta forma se alcanzan sobrevividas superiores al 91% (Bildik et al., 2022).

No obstante, investigaciones más recientes proponen la terapia génica como una mejor alternativa para pacientes que carezcan de donadores HLA-compatibles. Lo anterior mediante dos tecnologías; la primera mediante la técnica de edición genética CRISPR/Cas9 que ha demostrado ser capaz de corregir la mutación de la proteína WASp en alrededor del 60% de las células hematopoyéticas de los pacientes; y la otra mediante la administración de vectores virales con material genético modificado con el fin de inducir la expresión sostenida de la proteína WASp en células hematopoyéticas, logrando una sobrevivida de hasta un 100% en recientes estudios clínicos (Bildik et al., 2022).

### CAPÍTULO 3.

#### TRASTORNOS PLAQUETARIOS HEREDITARIOS CUALITATIVOS; DIAGNÓSTICO E IMPLICACIONES CLÍNICAS Y TERAPÉUTICAS.

Como se mencionó en apartados anteriores, la principal función fisiológica de las plaqueta es participar en la fase inicial de la hemostasia para prevenir un sangrado excesivo ante una injuria vascular; para esto, plaquetas en circulación se adhieren a la superficie vascular dañada mediante interacciones con el vWF y el colágeno, y desencadenan interacciones con otras moléculas y plaquetas que terminan formando el tapón o coágulo plaquetario, que provee una superficie de fosfolípidos cargada negativamente donde se puede dar el proceso de coagulación y formación de trombina (Lee & Poon, 2018).

Los trastornos plaquetarios hereditarios cualitativos o funcionales son un grupo heterogéneo de enfermedades, consideradas como poco comunes, que se caracterizan por una tendencia al sangrado de media a moderada que se mantiene a lo largo de la vida del individuo. Se dice que la complejidad de las vías de activación de las plaquetas, así como la necesidad de realizar las pruebas en muestras frescas, son los principales retos que dificultan la realización de estudios para investigar desórdenes plaquetarios cualitativos, lo que explica por qué se considera que son patologías subdiagnosticadas (Gresele et al., 2016).

Este grupo de enfermedades engloba defectos en la adhesión plaquetaria, deficiencia o disfunción de receptores para vWF o colágeno, deficiencia o disfunción de receptores para agonistas solubles, defectos en proteínas de citoesqueleto, en vías de señalización, en cantidad o contenido de gránulos plaquetarios, alteraciones en la agregación y en glicoproteínas de superficie como la  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ , entre otras (Rand et al., 2018).

Algunos de estos trastornos plaquetarios hereditarios funcionales pueden tener una presentación severa, como la trombostenia de Glanzmann o el síndrome de Bernard-Soulier, que permite que puedan ser identificados más directamente. Sin embargo, lo cierto es que para la gran mayoría de estos trastornos el diagnóstico es engorroso y complejo, ya que se carece de un consenso o formas estandarizadas para realizar un correcto abordaje diagnóstico. Lo anterior, lo soportan diversos estudios que han demostrado una gran heterogeneidad de aproximaciones diagnósticas, las cuales comprenden técnicas de laboratorio poco estandarizadas, laboriosas y poco reproducibles (Gresele et al., 2015).

En primera instancia, es importante evaluar el tipo, duración, severidad y tendencia al sangrado que presentan los pacientes que van a ser estudiados por trastornos plaquetarios cualitativos hereditarios. Esta evaluación incluye aspectos como; si el sangrado fue espontáneo o hubo alguna causa, si es único o tiene múltiples focos de sangrado, valoración de tipo y localización de los hematomas, duración del sangrado y tendencia a la recurrencia de este, e igual de importante, recolectar información sobre la historia clínica familiar en primer y segundo grado, con el fin de estudiar una asociación. Dicha anamnesis debe ser complementada con un examen físico, que evalúe la implicación de órganos y sistemas, con el fin de considerar una presentación sindrómica (Gresele et al., 2016).

La historia familiar es clave en dos aspectos; las trombocitopenias, ya sean aisladas o acompañadas de otras citopenias, son la presentación más común en los trastornos plaquetarios hereditarios, sin embargo, sin una correcta asociación familiar estas pueden llegar a diagnosticarse como púrpuras inmunes; además, determinar una posible consanguinidad del paciente que presente determinada afección plaquetaria puede hacer sospechar de trastornos de muy baja prevalencia en ciertas etnias, como el síndrome de Hermansky-Pudlak (Lee & Poon, 2018).

Estos trastornos plaquetarios cualitativos, usualmente se manifiestan con sangrados que ocurren a nivel cutáneo y en membranas mucosas como la nasal y el tracto genitourinario. El sangrado en estos trastornos no se da a nivel de articulaciones o músculos, a menos de que se acompañe también de defectos en factores o vías de coagulación (Gresele et al., 2016).

La Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), para estos propósitos, recomienda utilizar herramientas para la evaluación del sangrado, y de esa forma a través de un sistema de puntuación, lograr una caracterización objetiva del sangrado del paciente. Adicionalmente, demanda la evaluación de medicamentos ingeridos por el paciente que pueda alterar la función plaquetaria, como la aspirina y esteroides, ya que se pueden generar falsos positivos en estas valoraciones (Gresele et al., 2015).

Antes de iniciar un estudio para el eventual diagnóstico de estas alteraciones funcionales de las plaquetas, se debe considerar que estos análisis deben realizarse idealmente en laboratorios especializados con personal debidamente capacitado y un

volumen de trabajo que permita el mantenimiento de tecnologías y reactivos que cumplan con los estándares de calidad requeridos (Rand et al., 2018)

Cuando la evaluación clínica del paciente orienta hacia un posible desorden plaquetario, debe ser sometido a un tamizaje de laboratorio que incluye pruebas como: hemograma completo, tiempos de coagulación, fibrinógeno y cuantificación de vWF, junto con la actividad del FVIII con el fin de descartar enfermedad de von Willebrand. Si estas pruebas excluyen otros trastornos del sangrado o la coagulación, se debe iniciar un estudio especializado para poder determinar un posible trastorno cualitativo de las plaquetas (Gresele et al., 2016).

Dentro de los estudios especializados que se utilizan actualmente para dilucidar el origen de estos trastornos, se pueden mencionar algunos como: morfología plaquetaria en el frotis sanguíneo, pruebas de agregación plaquetaria, medición de contenido y liberación de gránulos plaquetarios, citometría de flujo para la evaluación de glicoproteínas de membrana, medición de tromboxano B2, microscopía electrónica de transmisión, estudios de formación de trombo, análisis de expresión de receptores, proteínas intracelulares y generación de segundos mensajeros, entre otros (Gresele et al., 2016).

La ISTH propone que las pruebas de laboratorio se realicen bajo el siguiente flujo diagnóstico:

Pruebas de primera línea: Estas deben incluir la evaluación de la morfología plaquetaria al frotis sanguíneo, que dependiendo del tamaño y alteraciones estructurales pueden sugerir trastornos plaquetarios específicos; La agregometría por transmisión de luz (LTA), la cual se recomienda realizar utilizando como agonistas la epinefrina, ADP, colágeno, ácido araquidónico y colágeno. Esta última se debería complementar con la evaluación de la liberación de los gránulos plaquetarios, que al menos incluya un marcador para gránulos  $\alpha$  y se realice en conjunto con un ensayo de detección de ATP/ADP; y finalmente, realizar un análisis de glicoproteínas de superficie mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos contra GPIIb/IIIa (CD41), GPIIIa (CD61), GPIb (CD42b) y GPIb/IX (CD42a) en plaquetas en reposo y contra el epítipo de activación de la GPIIb/IIIa (PAC-1) en plaquetas activadas. No se recomienda en ninguna circunstancia el uso de las pruebas de tiempo de sangrado o PFA-100 debido a su insuficiente especificidad y sensibilidad, y su baja reproducibilidad (Gresele et al., 2015)

Pruebas de segunda línea: Para los pacientes que no se logren diagnosticar en la primera etapa de pruebas diagnósticas se recomienda la repetición de la LTA, pero ampliándola para evaluar respuestas contra  $\alpha$ -trombina, TRAP-6, U46619, CRP, convulxina, PAR-4, PMA y A23287 para confirmar la disfunción plaquetaria y ampliar las opciones diagnósticas; Por otra parte, se recomienda ampliar el estudio de citometría de flujo evaluando glicoproteínas GPIa/IIa (CD31 y DC49b), GPIV (CD36) y GPVI para poder detectar otras anomalías. También, en este punto se recomienda la utilización de la microscopía electrónica de transmisión para contar los gránulos  $\alpha$  y gránulos densos de las plaquetas, y de esa forma detectar alteraciones cuantitativas, pero también, alteraciones estructurales (Gresele et al., 2015).

El estudio genético enfocado en el estudio de genes específicos, en el pasado ha servido como método de confirmación en el diagnóstico de los trastornos plaquetarios cuando las pruebas de laboratorio tradicionales no son concluyentes. Sin embargo, más recientemente estas pruebas genéticas han sido cada vez más empleadas; al punto de que desde la implementación de técnicas como la secuenciación de alto rendimiento han ido en aumento las descripciones de alteraciones genéticas relacionadas a patologías plaquetarias específicas, por lo que, se han llegado a proponer como metodologías diagnósticas de primera línea en trastornos plaquetarios (Gresele et al., 2016)

El diagnóstico por medio de biología molecular de estos trastornos facilitaría un mejor manejo clínico de las enfermedades, indicaría un pronóstico y dictaría medidas y tratamientos preventivos que serían de gran ayuda para estos pacientes, principalmente aquellos con afecciones y manifestaciones severas (Bastida et al., 2018).

Aunque el estudio genético por medio de secuenciación de Sanger para genes específicos se utiliza desde finales de los años 90, actualmente esta metodología que demanda mucho tiempo, no es aplicable para aquellos trastornos para los cuales no se tiene un gen candidato en específico tras la evaluación clínica; es por esto que la secuenciación de todo el genoma, secuenciación del exoma y la secuenciación de alto rendimiento de genes preespecificados ha revolucionado el campo del diagnóstico genético, y ha venido posicionándose como una práctica clínica frecuente y establecida (Bastida et al., 2018).

A lo largo de los años, la falta de consenso en su clasificación, la falta de adecuada estandarización de las pruebas de laboratorio y la larga heterogeneidad en los abordajes

diagnósticos de estos desórdenes, especialmente aquellos leves, han representado serias limitaciones para la identificación y diagnóstico de estos trastornos hereditarios. Afortunadamente, la evolución de los ensayos de laboratorio en conjunto con el aumento de conocimiento y alerta sobre estas patologías, han dado un giro positivo al estudio, comprensión y mejoramiento del diagnóstico de estos trastornos (Gresele et al., 2016).

El manejo de estos trastornos requiere de la acción coordinada de un equipo interdisciplinario de profesionales, incluyendo médicos, cirujanos, obstetras, ginecólogos, gastroenterólogos, dentistas, etc. Además, debe contemplar aspectos como la educación de los pacientes y sus familiares para evitar traumas que puedan empeorar la condición de estos, así como entrenamiento de pacientes y el personal médico a cargo en tácticas de manejo de sangrados leves como el uso de ellos de fibrina, cauterización, aplicación de compresas de gasa con geles hemostáticos o enjuagues bucales con ácido tranexámico para tratar gingivorragias (Lee & Poon, 2018)

A continuación, se abordarán de forma más detallada los principales trastornos plaquetarios hereditarios cualitativos.

## **I. Anormalidades en la adhesión plaquetaria**

### **Síndrome de Bernard-Soulier (BSS)**

El Síndrome de Bernard-Soulier (BSS), fue descrito por primera vez en el año 1948 por los doctores Bernard y Soulier. Actualmente se estima que este tiene una prevalencia de uno en un millón de habitantes, presentándose con mayor frecuencia en regiones del mundo con mayor consanguineidad. Debido a su baja prevalencia y espectro clínico inespecífico, se considera una enfermedad rara y subdiagnosticada (Monteiro, 2021).

El BSS es un trastorno autosómico recesivo hereditario del sangrado que se presenta principalmente como una macro trombocitopenia con tendencia al sangrado, esto a causa de afectación del complejo glicoproteico Ib-IX-V de la superficie plaquetaria. (Minkov et al., 2021). Usualmente se presenta en la infancia con epistaxis, sangrado gingival, aparición espontánea de hematomas y, menos frecuentemente, como menorragia y sangrado gastrointestinal (Monteiro, 2021).

El complejo GPIb-IX-V consiste en una cadena de cuatro polipéptidos (GPIb $\alpha$ , GPIb $\beta$ , GPIX y GPV) que se ensamblan respectivamente bajo una conformación 2:4:2:1.

Este complejo de glicoproteínas es crucial en la adhesión y activación plaquetaria, ya que funge como receptor para el factor de von Willebrand, y media las interacciones de la plaqueta con esta proteína necesarias para llevar a cabo la hemostasia primaria (Minkov et al., 2021).

Dicha cadena de polipéptidos está codificada por los genes respectivos; *GP1BA*, *GP1BB*, *GP9* y *GP5*. Mutaciones ya sea homocigotas o heterocigotas compuestas de los genes *GP1BA*, *GP1BB* y *GP9* son responsables de la forma autosómica recesiva de este desorden, mientras que las mutaciones en el gen *GP1BA* generan raras formas autosómicas dominantes (Minkov et al., 2021). Dependiendo del gen que se encuentre mutado, el BSS se clasifica como BSS tipo A1 (*GP1BA*), BSS tipo B (*GP1BB*) o BSS tipo C (*GP9*) (Martinez-Navajas et al., 2023).

Algunos autores proponen asociaciones genotipo-fenotipo en los cuales se ha demostrado que los pacientes con mutaciones homocigotas en *GP1BB* tienen una presentación clínica más severa, con mayores eventos de sangrado, que aquellos con mutaciones en *GP9*, los cuales tienden a tener una clínica más leve, esta última siendo la mutación más prevalente en Europa (Boeckelmann et al., 2017).

La mayoría de las mutaciones descritas en BSS, impiden la formación o el tráfico de las proteínas de dicho complejo a través del retículo endoplasmático o aparato de Golgi, y de esa forma se altera la expresión de dicho receptor. Lo más frecuente es que estas mutaciones se presenten en forma homocigota. En los casos de individuos que tienen un único alelo mutado, se consideran portadores asintomáticos de BSS, y a pesar de presentar recuentos plaquetarios normales, usualmente se puede evidenciar un tamaño ligeramente aumentado de las mismas, con una leve expresión disminuida de GPIb-IX-V y una moderada disminución de la agregación plaquetaria en pruebas de laboratorio (Boeckelmann et al., 2017).

Al momento de evaluar casos sospechosos de BSS, se debe empezar con el estudio de la morfología de las plaquetas, lo que se realiza mediante tinciones del extendido sanguíneo; en estos pacientes se evidencia la presencia de macro plaquetas. En este punto, lo siguiente es realizar la prueba de LTA, en la cual se espera obtener curvas de agregación normales para agonistas como ADP, epinefrina y colágeno, y que la agregación con ristocetina esté anormalmente reducida o ausente (Boeckelmann et al., 2017).

En lo que respecta a la citometría de flujo, se recomienda que se realice en sangre total citratada en proporción sangre-anticoagulante 9:1 y se someta a un marcaje con al menos los siguientes anticuerpos monoclonales: anti-CD42a, anti-CD42b, anti-CD41a y anti-CD36 (Minkov et al., 2021). Esta metodología es lo suficientemente sensible para la detección de disminuciones en CD42a (GPIX) y CD42b (GPIb $\alpha$ ), lo que apoya el diagnóstico de BSS (Monteiro, 2021).

Diferentes autores concuerdan en que la triada: trombocitopenia, macroplaquetas y expresión disminuida de GPIb-IX-V son características patognomónicas inequívocas para el diagnóstico del síndrome de Bernard-Soulier (Minkov et al., 2021).

Dada la heterogeneidad genética presente en BSS, se vuelve relevante la identificación específica del defecto genético en cada paciente, esto para establecer un diagnóstico concreto, pero también para conocer el tipo de herencia asociado a esa mutación y así, proveer a los miembros de la familia de un consejo genético confiable (Minkov et al., 2021). Además, se dice que la identificación del gen mutado puede ser de ayuda a la hora de estratificar el riesgo de sangrado del paciente, y en la selección de un mejor abordaje terapéutico del paciente con BSS (Boeckelmann et al., 2017).

Hasta el momento, se han descrito más de 100 mutaciones como deleciones, inserciones y mutaciones de pérdida de sentido en los genes *GP1BA*, *GP1BB* y *GP9* como causantes de BSS, mientras que para el gen *GP5* aún no se han reportado mutaciones asociadas (Boeckelmann et al., 2017)

Para el correcto abordaje del diagnóstico molecular de este trastorno plaquetario, se recomienda un estudio de hibridación genómica comparativa con microarreglos que permitan detectar deleciones u otras alteraciones. Sin embargo, el estándar de oro es la secuenciación completa de los genes implicados mediante secuenciación de Sanger (Ghalloussi et al., 2020)

En cuanto al tratamiento, no existe un tratamiento específico para el síndrome de Bernard-Soulier; el manejo se realiza de forma genérica atendiendo los sangrados, empleando medicamentos hemostáticos como desmopresina, agentes antifibrinolíticos como el ácido tranexámico, y administrando concentrados de plaquetas. En estos últimos, se recomienda únicamente ante sangrados severos que pongan en riesgo la vida del paciente, y se prefiere que sean derivados de la menor cantidad de donantes posible, esto para evitar la aloinmunización (Monteiro, 2021).

Se ha demostrado la eficacia del trasplante de progenitores hematopoyéticos HLA-idéntico en pacientes como tratamiento curativo. Sin embargo, la reversión genética del trastorno puede ser una alternativa más segura. En las últimas décadas, la terapia génica ha sido utilizada con éxito en enfermedades monogénicas; el BSS no es la excepción, ya que se han empleado lentivirus como vectores para conseguir la expresión de GPIX en pacientes con BSS tipo C, lo que promete un futuro alentador en el tratamiento de BSS (Martinez-Navajas et al., 2023).

### **Enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario autosómica dominante (PT-VWD)**

La enfermedad de von Willebrand tipo plaquetario, conocida por sus siglas PT-VWD, es un desorden del sangrado considerado raro. Tiene una herencia autosómica dominante, y se asocia con un defecto en la glicoproteína de superficie plaquetaria GPIIb/IIIa, la cual funge como receptor para la adhesión al factor de von Willebrand (Othman & Gresele, 2020).

Para el año 2023 se tenía un total de 57 pacientes reportados con este desorden (Monteiro et al., 2023). Se dice que este desorden presenta una gran heterogeneidad clínica entre las personas que lo padecen, y que no siempre se documenta una tendencia al sangrado en los padres, lo que hace más compleja la sospecha de un trastorno hereditario (Sánchez-Luceros et al., 2017).

El primer defecto genético responsable de este trastorno se registró en el año 1991, apenas 4 años después de que se lograra clonar el gen *GP1BA*. La mutación descrita en esa ocasión fue en la región de unión al vWF (Othman et al., 2016). Genéticamente, lo que ocurre es la ganancia de función del gen *GP1AB*, que ocasiona una unión exacerbada de las plaquetas con el vWF, debido a la mayor adherencia de la GPIIb/IIIa. Al final, ocurre una mayor eliminación del complejo plaqueta-vWF, que provoca diversos grados de trombocitopenia, además de pérdida de multímeros de alto peso molecular del vWF, que se asocia con sangrado mucocutáneo (Othman & Gresele, 2020).

El diagnóstico de este trastorno, por su clínica y fenotipo a nivel de estudios de laboratorio, históricamente se ha confundido con la enfermedad de von Willebrand tipo 2B (VWD2B) (Castaman & Federici, 2016). De hecho, se dice que hasta un 15% de los pacientes con PT-VWD son diagnosticados como VWD2B (Othman et al., 2016). No obstante, en la VWD2B lo que se tiene es una mutación en el exón 28 del gen *VWF* que codifica por el dominio A1 del vWF, la cual genera un aumento de función de este dominio y hace que haya una mayor unión de vWF a las plaquetas. El mecanismo que lleva a

trombocitopenia y sangrados descrito anteriormente es compartido por ambos (Castaman & Federici, 2016).

Adicionalmente a la VWD2B, también el diagnóstico de PT-VWD se ha confundido con púrpura trombocitopénica idiopática, trombocitopenia neonatal aloimmune y con trombocitopenia gestacional (Sánchez-Luceros et al., 2017).

La PT-VWD se presenta con sangrados de leve a moderados, de mayor frecuencia en mujeres y con una severidad más leve que la enfermedad de von Willebrand tipo 2B. Sin embargo, el sangrado en los pacientes con PT-VWD puede llegar a ser severo ante retos hemostáticos como cirugías, embarazo o parto. En adultos, los síntomas más característicos son: menorragia, sangrado mucocutáneo, hemorragia posterior a tratamientos dentales o cirugías, etc. (Othman & Gresele, 2020). Sumado a esto, dada la importancia de la GPIIb/IIIa en inflamación, inmunidad y cáncer, no sería insólito pensar en anomalías clínicas más allá de la hemostasia en estos pacientes, a razón de tener una proteína hiperfuncional (Othman et al., 2016).

En las últimas décadas se han llevado a cabo muchos estudios clínicos e investigaciones moleculares, sin embargo, aún no se cuenta con suficiente evidencia para establecer una metodología diagnóstica y de manejo del paciente estándar. A pesar de ello, se han realizado esfuerzos para definir las principales pautas a seguir para este diagnóstico, ya que la correcta identificación de PT-VWD es crítica, y su diagnóstico erróneo puede resultar en sangrados que pongan en riesgo la vida del paciente o a la realización innecesaria de pruebas de laboratorio (Othman & Gresele, 2020).

Para el diagnóstico se recomienda realizar pruebas como: recuento plaquetario, frotis sanguíneo para valorar morfología plaquetaria, determinación de vWF, cuantificación de multímeros de alto peso molecular del vWF y la aglutinación plaquetaria inducida por ristocetina (RIPA) (Othman & Gresele, 2020). Donde las principales características a nivel de laboratorio de los pacientes con PT-VWD será diferentes grados de trombocitopenia, plaquetas con un tamaño mayor al normal en el frotis sanguíneo, una aglutinación aumentada ante bajas dosis de ristocetina en la RIPA, disminución de los niveles de vWF y pérdida parcial o total ausencia de los multímeros de alto peso molecular del vWF (Sánchez-Luceros et al., 2017).

Sin embargo, la identificación de la mutación del gen plaquetario *GP1BA* mediante secuenciación, es la confirmación diagnóstica (Othman & Gresele, 2020). Esto permite

detectar nuevas alteraciones, ya que aunque se describen más frecuentemente mutaciones que afectan a la porción C-terminal de la proteína GPIb, hay estudios que demuestran que también pueden existir mutaciones que generen alteraciones en la porción N-terminal (Monteiro M. a., 2021). Hasta la fecha, las mutaciones de cambio de sentido que más se describen para el gen *GP1AB* en PT-VWD incluyen p.Gly249, p.Met255 y la delección p.Pro449\_Ser455del(c-1345\_1371del27) (Hoffman et al., 2022).

En cuanto al manejo de los pacientes, usualmente se emplean transfusiones plaquetarias y concentrados ricos en vWF; se recomienda que la administración de plaquetas se realice de aquellas que sean compatibles por HLA, con el fin de evitar la formación de aloanticuerpos y refractariedad. Para sangrados orales menores, se recomienda el manejo con ácido tranexámico (Othman & Gresele, 2020). Algunos autores documentan la utilidad del uso de FVII recombinante para conseguir la hemostasia en casos en los cuales los pacientes sean refractarios. El uso de la desmopresina está contraindicado en PT-VWD, debido a que el incremento en la liberación de multímeros de vWF por parte de las células endoteliales puede empeorar la trombocitopenia (Sánchez-Luceros et al., 2017).

## **II. Anormalidades en la activación plaquetaria**

### **Síndrome de Hermansky-Pudlak (HPS)**

El síndrome de Hermansky-Pudlak (HPS) es una enfermedad rara, con un patrón de herencia autosómico recesivo. En el año 1959, los doctores Hermansky y Pudlak describieron hipopigmentación en dos pacientes adultos que también presentaban una diátesis hemorrágica severa, y nombraron a esta entidad como HPS (Rojas & Young, 2020). Fue en el año 1996 cuando se identificó al gen *HPS1*, como el causante del HPS1, y en años siguientes, se han descrito otros 10 genes asociados con HPS, por lo que actualmente en la literatura se describen 11 diferentes subtipos de HPS, y se nombran desde HPS1 al HPS11 (Li et al., 2022).

Las mutaciones en el gen *HPS* causan una disrupción de complejos intracelulares claves en el tráfico de proteínas denominados BLOCs, por lo que su función se va a ver alterada; lo que llega a comprometer el tráfico de proteínas hacia los gránulos densos plaquetarios. Dentro de las características clínicas más importantes de HPS se encuentra

la hipopigmentación oculocutánea y la diátesis hemorrágica debido a deficiencias en el almacenaje de las plaquetas (Rojas & Young, 2020).

HPS se presenta en diferentes etnias alrededor del mundo, y aunque se dice que su prevalencia se estima entre 1/500 000 – 1/1000 000 individuos, lo cierto es que no se conoce realmente su frecuencia real. Particularmente, la mitad de los casos descritos a nivel mundial se han identificado en Puerto Rico; análisis genéticos demostraron la presencia de una mutación fundadora en la población puertorriqueña, en la cual se detectó una duplicación de 16 pb en el exón 15 del gen *HPS1* que puede explicar la alta incidencia de HPS en la isla (Rojas & Young, 2020).

Aunque molecularmente se han logrado identificar y separar los diferentes subtipos de HPS conocidos, a nivel clínico sus manifestaciones se traslapan y son indistinguibles.

A nivel hematológico, existe un defecto en la formación de los gránulos densos de las plaquetas, resultando en una disfunción plaquetaria y sus consecuentes sangrados. Estos sangrados usualmente se manifiestan a temprana edad, desde que los niños empiezan a gatear. La severidad de la diátesis hemorrágica varía entre los diferentes subtipos de HPS; algunos pacientes son asintomáticos o presentan sangrados leves, mientras que otros sufren hematomas tras traumas mínimos, epistaxis intermitente, sangrado gingival, menorragia y complicaciones durante procedimientos quirúrgicos (Rojas & Young, 2020).

En HPS no se han descrito alteraciones en los recuentos plaquetarios, lo que está comprometida es la activación y agregación de dichas plaquetas a consecuencia de la disminución o ausencia de gránulos densos y gránulos  $\alpha$  (Rojas & Young, 2020).

Adicionalmente, los pacientes con HPS suelen presentar manifestaciones relacionadas a otros sistemas u órganos como; hipopigmentación cutánea, fotosensibilidad, fibrosis pulmonar, disnea, infiltrados pulmonares, inflamación del tracto gastrointestinal, colitis, pérdida de peso, fiebres intermitentes, diarrea, neutropenia, actividad inmune citotóxica alterada, nistagmos oculares, diferentes grados de ceguera, fotofobia, disminución de agudeza visual, hipopigmentación del iris y la retina, etc. (Rojas & Young, 2020).

Un correcto abordaje diagnóstico debe iniciar con la adecuada documentación de las manifestaciones clínicas que pueden hacer sospechar al médico de un caso de HPS, en conjunto con la evaluación de la historia familiar, si existen parientes cercanos que

presentan hipopigmentación con problemas de coagulación es una gran orientación en el diagnóstico. Además, los pacientes deben ser sometidos a una revisión de cutánea, ocular y evaluación cardiorrespiratoria (Rojas & Young, 2020)

A nivel de laboratorio, se puede evaluar la deficiencia, o completa ausencia, de gránulos densos en el citoplasma de las plaquetas mediante microscopía electrónica de transmisión de electrones, lo cual se considera un pilar en el diagnóstico de laboratorio de este desorden (Rojas & Young, 2020).

Para el diagnóstico definitivo, es necesario identificar la mutación que está causando el desorden con el fin de clasificar al paciente dentro de un subtipo específico, ya que, dependiendo de este, puede tener implicaciones pronósticas y de tratamiento importantes. Los genes en los cuales se deben identificar las mutaciones para poder clasificar los diferentes HPS, del HPS-1 al HPS-11 respectivamente son: *HPS1*, *AP3B1*, *HPS3*, *HPS4*, *HPS5*, *HPS6*, *DTNBP1*, *BLOC1S3*, *BLOC1S6*, *AP3D1* y *BLOC1S5* (Rojas & Young, 2020). La metodología diagnóstica recomendada es la utilización de paneles multiplex que sean capaces de identificar alteraciones en los diferentes genes asociados con HPS, las cuales posteriormente deben ser confirmadas mediante secuenciación de Sanger (El-Chemaly & Young, 2016). Más recientemente se han evaluado plataformas de secuenciación de nueva generación, pero faltan estudios para su correcta estandarización y mayor diseminación para lograr que sean herramientas accesibles para el diagnóstico de este desorden alrededor del mundo (Huizing et al., 2020).

En cuanto al manejo de estos pacientes, se recomienda abstenerse de medicamentos como aspirina, ibuprofeno, y warfarina para evitar complicaciones hemorrágicas. En situaciones especiales como trauma importante, episodios de sangrado severo y ante procedimientos quirúrgicos altamente invasivos se recomienda evaluar terapia con transfusiones plaquetarias de un mismo donante, con el fin de disminuir la aloinmunización. También se utiliza el tratamiento con desmopresina para evitar sangrados mayores (El-Chemaly & Young, 2016).

### **Desorden plaquetario de Quebec**

El desorden plaquetario de Quebec (QPD) es un desorden del sangrado con patrón de herencia autosómico dominante, que se caracteriza por una ganancia de función que genera un defecto en la fibrinólisis debido a un aumento del activador del plasminógeno tipo

uroquinasa (uPA). Las personas con este trastorno plaquetario sufren de sangrados ante retos hemostáticos (Hayward et al., 2017).

El QPD incrementa selectivamente la expresión de uPA, sin que se dispare la actividad del sistema fibrinolítico sistémico. Este incremento de uPA se explica por una sobreexpresión del gen *PLAU*, que codifica por dicha proteína, durante la diferenciación de los megacariocitos. Esta sobreexpresión genética causa un aumento de más de 100 veces en la cantidad de uPA, sin embargo, tiene un impacto mínimo en el uPA generado por otras células. La mutación en *PLAU* corresponde a una duplicación en tándem de una región de 78 kb en el cromosoma 10, que contiene los genes *PLAU* y *C10orf55* (Hayward et al., 2017).

Adicional a dicha duplicación que causa la sobreexpresión de *PLAU*, algunos autores proponen que también ocurre la pérdida de mecanismos epigenéticos para silenciar este gen, pero aún no se ha podido comprobar dicha teoría. Aunque el gen *PLAU* es ubicuo y se expresa en la mayoría de los tejidos, este tiene una mayor expresión en granulocitos y células dendríticas, por encima de los megacariocitos (Liang et al., 2020).

En cultivos celulares de megacariocitos se ha evidenciado que los niveles de uPA en las plaquetas aumentan exponencialmente en sus últimas etapas de diferenciación. Estudios han mostrado que las plaquetas presentan un exacerbado empaquetamiento de uPA en conjunto con otras proteínas dentro los gránulos  $\alpha$ ; estos gránulos a pesar de mostrarse como normales en estudios de microscopía electrónica, presentan una alta degradación de sus proteínas (Hayward et al., 2017).

En el QPD, los aumentos de uPA generan un consumo del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), y una activación del sistema fibrinolítico dentro de las plaquetas, que provoca una generación de trombina y una consecuente degradación proteolítica de las proteínas almacenadas en los gránulos alfa, comprometiendo la actividad de estas en procesos hemostáticos y de cicatrización de heridas. No existen evidencias de que ocurra una activación del sistema fibrinolítico a un nivel sistémico (Hayward et al., 2017).

Adicional a la proteólisis del contenido de estos gránulos, las plaquetas del QPD al activarse, liberan grandes cantidades de uPA activado por parte de sus gránulos alfa, que termina desencadenando la generación de plasmina y lleva a una lisis acelerada de los coágulos (Hayward et al., 2017)

Ante la evaluación médica, las principales características de estos pacientes son la tendencia aumentada al sangrado ante retos hemostáticos, menstruaciones abundantes,

sangrado en articulaciones, hematuria espontánea y dificultad para la curación de las heridas (Liang et al., 2020). Ante estos hallazgos, el médico puede solicitar estudios de agregación plaquetaria, los cuales revelan una capacidad disminuida de las plaquetas para activarse y agregarse. Sumado a esto, los pacientes experimentan una disminución del factor V de la coagulación, lo cual puede demostrarse mediante una dosificación del factor en plasma (Wang et al., 2020).

En cuanto al diagnóstico, se recomienda realizar una PCR cuantitativa de transcripción reversa, para evidenciar el aumento de la expresión del gen *PLAU*. Dicho hallazgo, se debe confirmar con una secuenciación del gen *PLAU*, con el fin de demostrar la duplicación en tándem causante de este desorden. Hasta el momento no se describen alteraciones del gen *C10orf55* en QPD, por lo que no hay recomendaciones de análisis de este gen para el diagnóstico (Hayward et al., 2017).

La principal recomendación para el tratamiento y manejo de este síndrome es la administración de agentes inhibidores del sistema fibrinolítico orales, como el ácido tranexámico, los cuales han demostrado ser el único tratamiento efectivo en estos casos al reducir los niveles de generación de plasmina (Brunet et al., 2020)

### **Síndrome plaquetario de York**

Cuando las reservas intracelulares de calcio se agotan en las células, hay una entrada de calcio desde el medio extracelular que es mediada por canales selectivos para  $\text{Ca}^{2+}$  denominados “canales CRAC”. Estos canales, se conforman por poros formados por subunidades llamadas “ORAI1-3” y por los sensores de calcio STIM1 y STIM2. La proteína STIM1 se une al  $\text{Ca}^{2+}$  localizado en el lumen del retículo endoplasmático; cuando hay una depleción del calcio, se induce una serie de cambios en la conformación y localización de STIM1, permitiéndole interactuar con ORAI1, y restableciendo los niveles de calcio intracelular (Markello et al., 2015).

Los incrementos en la concentración de calcio intracelular son esenciales para la correcta activación plaquetaria, por lo que defectos en las vías de activación de los canales de calcio y su consecuente desregulación, pueden generar problemas a nivel de hemostasia primaria. Inclusive, existe un desorden plaquetario en el cual hay un fallo en el almacenamiento de  $\text{Ca}^{2+}$  en los gránulos delta denominado síndrome plaquetario de York (YPS) (Markello et al., 2015).

Descrito por primera vez en 1985, el síndrome plaquetario de York es un desorden autosómico dominante que se caracteriza por trombocitopenia, tendencia al sangrado, anomalías en la función plaquetaria, anemia, asplenia, fatiga muscular, miosis congénita, entre otros (Cattaneo, 2019).

Los pacientes con YPS documentados en la literatura, mostraban signos como hematomas y epistaxis desde edades tempranas, además de una trombocitopenia sostenida con alteraciones variables en el tamaño y apariencia de las plaquetas, como hipo granularidad. Estudios de microscopía electrónica de las plaquetas de estos pacientes consecuentemente muestran una disminución en los gránulos densos e inclusiones opacas de forma irregular, de los cuales su contenido se identificó posteriormente como calcio (Markello et al., 2015).

Se propone que dichas inclusiones intracelulares de calcio, se deben a mutaciones de cambio de sentido, que generan un cambio de aminoácido en la proteína STIM1 que resulta en la pérdida de la afinidad de unión al calcio en lumen del retículo endoplasmático, y su consecuente asociación a ORAI1, induciendo la entrada de calcio por canales CRAC aún cuando no hay deficiencias de calcio en las plaquetas, y al no poderse almacenar, se deposita de forma inespecífica dentro del citoplasma (Markello et al., 2015).

A consecuencia de lo anterior, las plaquetas en reposo de los pacientes con YPS presentan actividad procoagulante, un fenotipo “pre activado”, con anomalías en la formación de coágulo y una demostrada afectación en la agregación plaquetaria mediante LTA (Cattaneo, 2019).

Para el correcto diagnóstico de este trastorno, la metodología recomendada es la secuenciación completa del gen *STIM1* mediante secuenciación de Sanger, con el fin de describir nuevas mutaciones, ya que, debido al escaso número de casos documentados, no se cuenta con “hot spots” definidos (Markello et al., 2015).

No se documentan protocolos para el manejo clínico de pacientes con YPS.

### III. Anormalidades en agregación plaquetaria

#### Trombastenia de Glanzmann (GT)

La primera descripción de este trastorno se remonta a 1918, cuando el médico pediatra Eduard Glanzmann describió una púrpura que se presentaba en pacientes con conteos normales de plaquetas, sin alteraciones morfológicas, pero que presentaban tiempos de sangrado prolongados. En 1962 se demostró que las plaquetas de las personas afectadas con este trastorno no presentaban agregación con múltiples agonistas. Posteriormente, en el año 1974 en un estudio de Nurden & Caen, describieron que las plaquetas de estos individuos carecían de una de las tres principales glicoproteínas de superficie plaquetaria, que subsecuentemente, fue identificada por otros investigadores como el complejo GPIIb/IIIa (Botero et al., 2020).

La trombastenia de Glanzmann (GT) se considera una enfermedad rara, con una incidencia aproximada de uno en un millón de habitantes. Esta afección, tiene un patrón de herencia autosómico recesivo, y afecta a hombres y mujeres por igual. Se dice que tiene una distribución mundial, pero la mayoría de los casos se describen en romaníes franceses, hindúes del sur de la India, judíos iraquíes y tribus nómadas de Jordania (Botero et al., 2020).

La GPIIb/IIIa (integrina  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ ) es un receptor heterodimérico ampliamente distribuido en la superficie plaquetaria, fisiológicamente media la unión a ligandos solubles, como el fibrinógeno, pero también a moléculas como vWF y fibronectina, que son claves en el proceso de agregación plaquetaria. En la GT se tiene una disminución o ausencia de expresión de las subunidades  $\alpha\text{IIb}$  o  $\beta\text{3}$ ; esto por anormalidades en el plegamiento de la proteína, defectos en el procesamiento postraduccional, defecto en el transporte de cualquiera de estas subunidades hacia la membrana, o bien, anormalidades que afectan la función (Botero et al., 2020).

Basándose en la expresión y función de dichas subunidades, se dispuso una clasificación de la trombastenia de Glanzmann en tres tipos: La GT tipo I cuando se tiene menos de un 5% de  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  residual; tipo II cuando se cuenta con un porcentaje de  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  entre 5-20%; y la tipo III cuando se tiene más de un 20% de expresión de  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ , pero tiene problemas en su función (Solh et al., 2015). La GT tipo I es el subtipo más común, conformando un 78% de los diagnósticos; mientras que los tipos II y III, conforman un 14% y un 8% respectivamente (Botero et al., 2020).

En cuanto a las bases moleculares de este trastorno, los genes *ITGA2B* e *ITGB3* se localizan respectivamente en las posiciones 17q21.31 y 17q21.32, y se expresan de forma independiente. La GT surge a consecuencia de mutaciones en ambos alelos en cualquiera de los dos genes, pero la mayoría de los casos se da en el gen *ITGA2B*, probablemente por su mayor tamaño. Para estos genes se han descrito como patogénicas: mutaciones sin sentido, de cambio de sentido, mutaciones en el splicing, deleciones y duplicaciones (Botero et al., 2020).

Entre las manifestaciones clínicas más frecuentes se destacan los hematomas, la epistaxis, sangrado de encías y la menorragia. El sangrado mucocutáneo ocurre de forma espontánea ante un trauma mínimo. Otras manifestaciones como sangrado gastrointestinal, hemorragia intracraneal y sangrado durante el embarazo son menos frecuentes (Botero et al., 2020).

Con respecto a la presentación a nivel de laboratorio, la GT se presenta con recuentos plaquetarios normales, plaquetas de morfología normal al frotis sanguíneo, con tiempos de coagulación (tiempo de protrombina y tiempo de tromboplastina parcial activado) y niveles de fibrinógeno normales (Botero et al., 2020).

La LTA se mantiene como el estándar de oro para el diagnóstico de GT, en la prueba se espera que haya una ausencia de agregación con todos los agonistas, excepto con la ristocetina, con la cual las plaquetas de estos pacientes presentan curvas de agregación normales, ya que esta última es mediada por GPIb-IX-V. Adicionalmente, se podría complementar con metodologías como la citometría de flujo para evaluar la disminución de expresión de glicoproteínas o sus subunidades, sin embargo, esta técnica tiene como limitante que no es sensible a la GT tipo III en la cual hay una afección cualitativa, no cuantitativa de la glicoproteína (Botero et al., 2020).

La amplia distribución de las técnicas de biología molecular, hacen del análisis genético un gran aliado en diversas enfermedades, y la GT no es la excepción. La confirmación del diagnóstico mediante estas plataformas permite identificar el riesgo de acarreadores de la mutación, lo cual es crucial en procesos de consejería genética, y también son útiles para diagnóstico prenatal. Para el diagnóstico de GT, la principal recomendación es realizar la secuenciación de ambos genes, *ITGA2B* e *ITGB3*, lo que en la mayoría de los casos logra esclarecer la etiología de la enfermedad. Para los casos en

los cuales la secuenciación no sea concluyente o no logre detectar la variante patológica, se debe realizar un estudio de duplicaciones y deleciones específicas (Botero et al., 2020).

En cuanto al tratamiento, actualmente no se cuenta con un tratamiento específico para GT. El manejo del paciente depende mucho de la situación clínica; desde aplicar presión o utilizar gazas impregnadas con agentes antifibrinolíticos o trombina tópica en los sangrados leves, el uso de ácido tranexámico en sangrados moderados, el empleo de factor FVIIa recombinante en sangrados severos, hasta el uso de todas las anteriores en conjunto con transfusiones de plaquetas en los casos de sangrado altamente severo o en preparación para un procedimiento quirúrgico mayor (Botero et al., 2020).

Estudios clínicos realizados en pacientes con GT tipo I refractarios a tratamiento, demostraron la efectividad del trasplante de células madre para restaurar la hemostasia en estos pacientes. Sin embargo, a pesar del gran éxito terapéutico que pueda tener, se debe restringir como último recurso debido a todas las complicaciones que este pueda tener. Actualmente se encuentran en desarrollo tecnologías de terapia génica para GT; estas utilizan lentivirus como vectores y casets de ADN copia que codifica por las glicoproteínas afectadas en el paciente. Por último, el uso de herramientas de edición genética como CRISPR/Cas han abierto un mundo nuevo de posibilidades para corregir de forma más específica defectos genéticos directamente en las células de los pacientes, lo que deslumbra un prometedor futuro en el tratamiento de este y otros trastornos hereditarios del sangrado (Nurden, 2021).

## CONCLUSIONES.

La megacariocitopoyesis y trombopoyesis; la activación, adhesión, liberación de gránulos y agregación de las plaquetas; así como su aclaramiento o eliminación, son procesos fisiológicos altamente regulados. La afectación en cualquier nivel de dichos procesos, o en la estructura misma de las plaquetas, da origen a trastornos plaquetarios cuantitativos o funcionales, que se ven reflejados principalmente como diátesis hemorrágicas de severidad variable que pueden llegar a atentar contra la vida de los individuos que los padecen.

La presentación clínica de los trastornos plaquetarios hereditarios es indistinguible de otras afectaciones de las plaquetas, por lo que la historia clínica del paciente y familiares es crucial para dirigir el diagnóstico. Solo mediante una correcta valoración del paciente, su historial de sangrados y asociación familiar es cuando se puede sospechar que se está ante una diátesis hemorrágica con un componente hereditario, lo cual es fundamental para poder dirigir los estudios necesarios para llegar a su diagnóstico.

Actualmente, el adecuado diagnóstico de los trastornos plaquetarios hereditarios, tanto cuantitativos como cualitativos, se realiza mediante técnicas de biología molecular. La mayor diseminación de técnicas de secuenciación, así como el advenimiento de nuevas metodologías como la hibridación genómica comparativa y las técnicas de secuenciación de alto rendimiento, han permitido la descripción y diagnóstico de una gran variedad de trastornos plaquetarios en los cuales las técnicas tradicionales como la agregación plaquetaria, análisis morfológico e inmunofluorescencia carecían de la resolución necesaria.

**BIBLIOGRAFÍA.**

- Al-Huniti, A., & Kahr, W. (2020). Inherited platelet disorders: diagnosis and management. *Transfusion Medicine Reviews*, 34(4), 277-285. <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2020.09.006>
- Antony-Debre, I., Duployez, N., Bucci, M., Geffroy, S., Micol, J., Renneville, A., . . . Nelken, B. a. (2016). Somatic mutations associated with leukemic progression of familial platelet disorder with predisposition to acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 30(4), 999-1002. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.236>
- Barros Pinto, M., & Marques, G. (2019). MYH9 Disorders (May-Hegglin Anomaly) the Role of the Blood Smear. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 41(3), 228.
- Bastida, J. M., Lozano, M., Benito, R., Janusz, K., Palma-Barqueros, V., Del Rey, M., . . . Sevivas, T. (2018). Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica*, 103(1), 148-162. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.171132>
- Bildik, H. N., Cagdas, D., Ozturk Kura, A., Oskay Halacli, S., Sanal, O., & Tezcan, I. (2022). Clinical, Laboratory Features and Clinical Courses of Patients with Wiskott Aldrich Syndrome and X-linked Thrombocytopenia-A single center study. *Immunological investigations*, 51(5), 1272-1283. <https://doi.org/10.1080/08820139.2021.1933516>
- Boeckelmann, D., Hengartner, H., Greinacher, A., Nowak-Gottl, U., Sachs, U., Peter, K., . . . Zieger, B. (2017). Patients with Bernard-Soulier syndrome and different severity of the bleeding phenotype. *Blood Cells, Molecules, And Diseases*, 67, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.01.010>
- Botero, J. P., Lee, K., Branchford, B., Bray, P., Freson, K., Lambert, M., . . . Bergmeier, W. (2020). Glanzmann thrombasthenia: genetic basis and clinical correlates. *Haematologica*, 105(4), 888. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.214239>
- Bourguignon, A., Tasneem, S., & Hayward, C. P. (2022). Screening and diagnosis of inherited platelet disorders. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 59(6), 405-444.
- Brodie, S., Rodriguez-Aulet, J. P., Giri, N., Dai, J., Steinberg, M., Waterfall, J., . . . Alter, B. (2019). 1q21. 1 deletion and a rare functional polymorphism in siblings with

thrombocytopenia-absent radius-like phenotypes. *Molecular Case Studies*, 5(6).  
<https://doi.org/10.1101/mcs.a004564>

Brunet, J. G., Sharma, T., Tasneem, S., Liang, M., Wilson, M. D., Rivard, G. E., & Hayward, C. P. (2020). Thrombin generation abnormalities in Quebec platelet disorder. *International Journal of Laboratory Hematology*, 42(6), 801-809. <https://doi.org/10.1111/ijlh.13302>

Castaman, G., & Federici, A. (2016). Type 2B von Willebrand disease: a matter of plasma plus platelet abnormality. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 478-482. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1579638>

Cattaneo, M. (2019). Inherited disorders of platelet function. *Platelets* (pp. 877-904). Elsevier.

Chen, S., Wang, R., Zhang, X., Li, L., Jiang, Y., Liu, R., & Zhang, H. (2020). Itrasonographic findings and prenatal diagnosis of Jacobsen syndrome: A case report and review of the literature. *Medicine*, 99(1), e18695.

Cunningham, L., Merguerian, M., Calvo, K., Davis, J., Deutch, N., Dulau-Florea, A., . . . Bhattacharya, S. a. (2023). Natural history study of patients with familial platelet disorder with associated myeloid malignancy. *Blood*, 142(25), 2146-2158.

Di Buduo, C., Miguel, C., & Balduini, A. (2023). Inside-to-outside and back to the future of megakaryopoiesis. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 7(4), 100197. <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2023.100197>

Ferrua, F., Marangoni, F., Aiuti, A., & Roncarolo, M. (2020). Gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome: history, new vectors, future directions. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 146(2), 262-265. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.06.018>

Firestein, G., Ralph, B., Sherine, G., Gary, K., Iain, M., & James, O. (2022). Firestein y Kelley. *Tratado de reumatología*. Elsevier Health Sciences.

Germeshausen, M., & Ballmaier, M. (2021). AMT-MPL: congenital amegakaryocytic thrombocytopenia caused by MPL mutations-heterogeneity of a monogenic disorder-a comprehensive analysis of 56 patients. *Ferrata Storti Foundation*, 106(9), 2439-2448.

Germeshausen, M., & Ballmaier, M. (2021). Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: nos a single disease. *Best practice & research clinical hematology*, 34(2), 101286. <https://doi.org/10.1016/j.beha.2021.101286>

Ghalloussi, D., Rousset-Rouviere, C., Popovici, C., Garaix, F., Saut, N., Saultier, P., . . . Baccini, V. (2020). Bernard-Soulier syndrome: first human case due to a homozygous deletion of GP9 gene. *British Journal of Haematology*, 188(6). <https://doi.org/10.1111/bjh.16374>

Gleason, C., & Juul, S. (2019). *Enfermedades del recién nacido*. Elsevier España.

Glembotsky, A., De Luca, G., & Heller, P. (2021). A deep dive into the pathology of gray platelet syndrome: new insights on immune dysregulation. *Journal of blood medicine*, 12, 719-732. <https://doi.org/10.2147/JBM.S270018>

Glembotsky, A., Sliwa, D., Bluteau, D., Balayn, N., Oyarzun, C., Raimbault, A., . . . Washington, V. (2019). Downregulation of TREM-like transcript-1 and collagen receptor alpha2 subunit, two novel RUNX1-targets, contributes to platelet dysfunction in familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia. *Haematologica*, 104(6), 1244-1255.

Gresele, P., Bury, L., & Falcinelli, E. (2016). Inherited platelet function disorders: algorithms for phenotypic and genetic investigation. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 42(03), 292-305. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1570078>

Gresele, P., Harrison, P., Gachet, C., Hayward, C., Kenny, D., Mezzano, D., . . . Nurden, A. (2015). Diagnosis of inherited platelet function disorders: guidance from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 13(2), 314-322. <https://doi.org/10.1111/jth.12792>

Harriet, A., Ami Vadgama, P., & Armstrong, T. (2023). Platelet ageing: A review. *Thrombosis Research*, 231, 214-222. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2022.12.004>

Hayward, C. P., Liang, M., Tasneem, S., Soomro, A., Waye, J. S., Paterson, A. D., . . . Wilson, M. D. (2017). The duplication mutation of Quebec platelet disorder dysregulates PLA<sub>2</sub>, but not C10orf55, selectively increasing production of normal PLA<sub>2</sub> transcripts by megakaryocytes but not granulocytes. *PLoS One*, 12(3), e0173991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173991>

Hoffman, R., Benz, E. J., Silberstein, L., Heslop, H., Weitz, J., Salama, M., & Abutalib, S. A. (2022). *Hematology: basic principles and practice*. Elsevier Health Sciences.

Huizing, M., Malicdan, M. C., Wang, J. A., Pri-Chen, H., Hess, R. A., Fischer, R., . . . Gochuico, B. R. (2020). Hermansky--Pudlak syndrome: mutation update. *Human mutation*, 41(3), 543-580. <https://doi.org/10.1002/humu.23968>

Lee, A., & Poon, M.-C. (2018). Inherited platelet functional disorders: General principles and practical aspects of management. *Transfusion and Apheresis Science*, 57(4), 494-501. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.07.010>

Li, L., Ni, R., Li, Z., Ming, Y., Liu, L., Peng, D., . . . Liu, Y. (2022). Insights into regulatory factors in megakaryocyte development and function: basic mechanisms and potential targets. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 27(11), 313. <https://doi.org/10.31083/j.fbl2711313>

Li, W., Hao, C.-J., Hao, Z.-H., Ma, J., Wang, Q.-C., Yuan, Y.-F., . . . Wei, A.-H. (2022). New insights into the pathogenesis of Hermansky--Pudlak syndrome. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 35(3), 290-302. <https://doi.org/10.1111/pcmr.13030>

Li, W., Lv, Y., & Sun, Y. (2023). Roles of non-coding RNA in megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis: New target therapies in ITP. *Platelets*, 34(1), 2157382. <https://doi.org/10.1080/09537104.2022.2157382>

Liang, M., Soomro, A., Tasneem, S., Abatti, L. E., Alizada, A., Yuan, X., . . . Paterson, A. D. (2020). Enhancer-gene rewiring in the pathogenesis of Quebec platelet disorder. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 136(23), 2679-2690. <https://doi.org/10.1182/blood.2020005394>

Malia, L., Wolkoff, L., Mnayer, L., Tucker, J., & Parikh, N. (2015). A case report: Jacobsen syndrome complicated by Paris-Trousseau syndrome and Shone's complex. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 37(7), e429-e432.

Mallhi, K., Petrovic, A., & Ochs, H. (2021). Hematopoietic stem cell therapy for Wiskott--Aldrich syndrome: improved outcome and quality of life. *Journal of Blood Medicine*, 12, 435-447. <https://doi.org/10.2147/JBM.S232650>

Markello, T., Chen, D., Kwan, J. Y., Horkayne-Szakaly, I., Morrison, A., Simakova, O., Kilo, T. (2015). York platelet syndrome is a CRAC channelopathy due to gain-of-function mutations in STIM1. *Molecular genetics and metabolism*, 114(3), 474-482. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.12.307>

Martinez-Navajas, G., Ceron-Hernandez, J., Simon, I., Lupiañez, P., Diaz-McLynn, S., Perales, S., . . . Tersteeg, C. (2023). Lentiviral gene therapy reverts GPIX expression and phenotype in Bernard-Soulier syndrome type C. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 33, 75-92. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2023.06.008>

Minkov, M., Zeitlhofer, P., Zoubek, A., Kager, L., Panzer, S., & Haas, O. A. (2021). Novel compound heterozygous mutations in two families with Bernard–Soulier syndrome. *Frontiers in Pediatrics*, 8, 589812. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.589812>

Monteiro, C., Goncalves, A., Pereira, M., Lau, C., Morais, S., & Santos, R. (2023). A new case of platelet-type von Willebrand disease supports the recent findings of gain-of-function GP1BA variants outside the C-terminal disulphide loop enhances affinity for von Willebrand factor. *British Journal of Haematology*, 203(4), 673-677.

Monteiro, M. a. (2021). Bernard Soulier syndrome: a rare, frequently misdiagnosed and poorly managed bleeding disorder. *BMJ Case Reports CP*, 14(8), e243518. <https://doi.org/10.1136/bcr-2021-243518>

Noris, P., & Pecci, A. (2017). Hereditary thrombocytopenias: a growing list of disorders. *The American Society of Hematology Education Program*, 2017(1), 385-399. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2017.1.385>

Nurden, A. (2021). Profiling the genetic and molecular characteristics of glanzmann thrombasthenia: can it guide current and future therapies? *Journal of blood medicine*, 12, 581-599. <https://doi.org/10.2147/JBM.S273053>

Nurden, A. T., & Nurden, P. (2014). Congenital platelet disorders and understanding of platelet function. *British journal of haematology*, 165(2), 165-178.

Othman, M., & Gresele, P. (2020). Guidance on the diagnosis and management of platelet-type von Willebrand disease: a communication from the platelet physiology subcommittee of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 18(8), 1855-1858. <https://doi.org/10.1111/jth.14827>

Othman, M., Kaur, H., Favaloro, E., Lillicrap, D., Di Paola, J., Harrison, P., & Gresele, P. (2016). Platelet type von Willebrand disease and registry report: communication from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 14(2), 411-414. <https://doi.org/10.1111/jth.13204>

Palma-Barqueros, V., Revilla, N., Sánchez, A., Zamora Cánovas, A., Rodríguez-Alén, A., Marín-Quílez, A., ... & Rivera, J. (2021). Inherited platelet disorders: an updated overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4521.

Panigrahi, A., & Liu, L. (2020). Patient blood management: coagulation. *Miller's anesthesia*. (págs. 1579-1603). Elsevier.

Rand, M., Reddy, E., & Israels, S. (2018). Laboratory diagnosis of inherited platelet function disorders. *Transfusion and Apheresis Science*, 57(4), 485-493. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2018.07.009>

Reddy, P., Kollipara, R., Shammo, J. M., & Loew, J. (2021). The May-Hegglin anomaly: a rare cause of a common complaint. *BMJ Case Reports CP*, 14(3), 235432. <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-235432>

Rivera, J., Palma-Barqueros, V., Vicente, V., & Lozano, M. L. (2018). Trastornos plaquetarios congénitos: ayer y hoy. *Haematología*, 22, 191-209.

Rojas, W. D., & Young, L. R. (2020). Hermansky--Pudlak syndrome. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 41(02), 38-246. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1708088>

Sánchez-Luceros, A., Woods, A., Bermejo, E., Shukla, S., Acharya, S., Lavin, M., Othman, M. (2017). PT-VWD posing diagnostic and therapeutic challenges-small case series. *Platelets*, 28(5), 484-490.

Schlegelberger, B., & Heller, P. G. (2017). RUNX1 deficiency (familial platelet disorder with predisposition to myeloid leukemia, FPDMM). *Seminars in Hematology*, 54(2), 75-80.

Serra, G., Memo, L., Antona, V., Corsello, G., Favero, V., Lago, P., & Giuffré, M. (2021). Jacobsen syndrome and neonatal bleeding: report on two unrelated patients. *Italian Journal of Pediatrics*, 47(147), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13052-021-01108-2>

Solh, T., Botsford, A., & Solh, M. (2015). Glanzmann's thrombasthenia: pathogenesis, diagnosis, and current and emerging treatment options. *Journal of blood medicine*, 219--227. <https://doi.org/10.2147/JBM.S71319>

Strauss, G., Mott, K., Klopocki, E., & Schulze, H. (2023). Thrombocytopenia Absent Radius (TAR)-Syndrome: From Current Genetics to Patient Self-Empowerment. *Hamostaseologie*, 43(04), 252-260.

Sudhakar, M., Rikhi, R., Loganathan, S. K., Suri, D., & Singh, S. (2021). Autoimmunity in wiskott--aldrich syndrome: updated perspectives. *The Application of Clinical Genetics*, 14, 363-388. <https://doi.org/10.2147/TACG.S213920>

Toratani, K., Watanabe, M., Kanda, J., Oka, T., Hyuga, M., Arai, Y., Ogawa, S. (2023). Unrelated hematopoietic stem cell transplantation for familial platelet disorder/acute myeloid leukemia with germline RUNX1 mutations. *International Journal of Hematology*, 118(3), 400-405. <https://doi.org/10.1007/s12185-023-03575-1>

Tsai, F. D., & Battinelli, E. M. (2021). Inherited platelet disorders. *Hematology/Oncology Clinics*, 35(6), 1069-1084.

van der Meijden, P., & Heemskerk, J. (2019). Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nature reviews cardiology*, 16(3), 166-179. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0110-0>

Vinholt, P. J. (2019). The role of platelets in bleeding in patients with thrombocytopenia and hematological disease. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 57(12), 1808-1817.

Wang, Y.-J., Liu, J.-Q., Guo, Y.-N., Liu, X.-L., Jiang, Y., Kong, D.-X., . . . Dou, A.-X. (2020). A case of Quebec platelet disorder with interstitial pneumonia. *Chinese Medical Journal*, 133(13), 1629-1631. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000892>

Yang, E. J., Park, K. M., Kim, Y.-M., Jung, K. S., Lim, Y. T., & Cheon, C. K. (2020). Identification of a novel MYH9 mutation in a young adult with inherited thrombocytopenia and recurrent seizures by targeted exome sequencing. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 42(3), 188-192.