



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA
CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
GRADO ACADÉMICO DE BIOQUÍMICO CLÍNICO**

**CAMBIOS EN LA MORFOLOGÍA, CONTAJE PLAQUETARIO Y
LA TENDENCIA A SANGRADOS ASOCIADOS CON LA
PRESENCIA DE VARIANTES EN EL GEN ACTN1: REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA NARRATIVA**

Por

**ALEJANDRA LÓPEZ CABEZAS
HUGO ALEJANDRO RUIZ IÑIGUEZ**

DIRECTORA: Ph.D. VERÓNICA PÁEZ E.

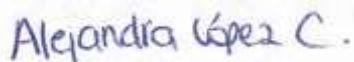
QUITO, 2021

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Alejandra López Cabezas, C.C 1004593966; autora del trabajo de graduación intitulado: “**Cambios en la morfología, contaje plaquetario y la tendencia a sangrados asociados con la presencia de variantes en el gen ACTN1: revisión bibliográfica narrativa**”, previo a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica Clínica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Alejandra López Cabezas

C.C. 1004593966

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Hugo Alejandro Ruiz Iñiguez, C.C 1104606262; autor del trabajo de graduación intitulado: **“Cambios en la morfología, contaje plaquetario y la tendencia a sangrados asociados con la presencia de variantes en el gen ACTN1: revisión bibliográfica narrativa”**, previo a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica Clínica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



Hugo Alejandro Ruiz Iñiguez

C.C. 1104606262

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación de la Señorita Alejandra López Cabezas y el Señor Hugo Alejandro Ruiz Iñiguez intitulado **“Cambios en la morfología, contaje plaquetario y la tendencia a sangrados asociados con la presencia de variantes en el gen ACTN1: revisión bibliográfica narrativa”** ha concluido de conformidad con las normas establecidas por la Unidad Académica, por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.



PhD. Verónica Páez E.

Directora

Quito, 3 de marzo de 2021

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres, Javier y Selene, por ser un pilar fundamental durante toda mi etapa estudiantil, en especial la universitaria ya que a pesar de no tenerlos presentes todos los días, siempre me dieron la fortaleza para salir adelante.

A mis hermanos, Valeria y Mateo, por haber estado incondicionalmente para mí, apoyándome cada día, y dándome fuerzas para ser cada vez mejor.

A los docentes de la Carrera de Bioquímica Clínica, por haber compartido sus conocimientos durante el tiempo universitario, en especial a la Dra. Páez quien nos brindó su apoyo y paciencia durante la elaboración del trabajo de grado.

Alejandra López Cabezas

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mi familia, especialmente a mis padres y mi hermana, por haber sido un gran apoyo dentro de mi etapa universitaria, siendo mi pilar fundamental durante esta época de estudio.

Agradezco de igual manera a los docentes de la carrera de Bioquímica Clínica, por haberme inculcado sus conocimientos y guiarme durante esta etapa para poder ser un gran profesional y sobre todo una mejor persona.

Le agradezco a la Dra. Verónica Páez por su apoyo, constancia, enseñanza, y paciencia, que permitieron que este trabajo de titulación se lleve a cabo de la mejor forma posible.

Hugo Alejandro Ruiz Iñiguez

RESUMEN

Introducción: Las macrotrombocitopenias congénitas son un grupo de desórdenes caracterizados por la reducción del conteo plaquetario y la presencia de plaquetas grandes, las cuales se manifiestan con un carácter autosómico dominante. Muchos de estos defectos son el resultado de mutaciones heterocigotas del gen ACTN1, el cual codifica la expresión de alfa actinina 1 en megacariocitos, la cual es necesaria para la organización del citoesqueleto plaquetario y es responsable del tamaño y número de trombocitos en la sangre. Diversas técnicas para el análisis genético han permitido identificar mutaciones puntuales dentro del gen ACTN1 que han sido asociadas a trastornos hemostásicos. Estos hallazgos han dado paso a varios estudios para identificar la prevalencia de las mutaciones de este gen en poblaciones con líneas ancestrales comunes y asociarlas a trastornos plaquetarios funcionales específicos, abriendo campo a este tipo de investigaciones en poblaciones latinoamericanas. Debido a una elevada variabilidad genética dentro de la población latina es necesario aplicar metodologías que tomen en cuenta estas particularidades de la ascendencia de los grupos étnicos según su localización geográfica, para obtener una mejor caracterización genética y funcional de las plaquetas dentro de estas comunidades. Las herramientas de biología molecular aplicadas a la genética permiten obtener información fundamental para un diagnóstico basado en características raciales, optimizando el manejo clínico del paciente.

Metodología: La revisión bibliográfica narrativa se basó en artículos publicados disponibles en bases de datos de la hemeroteca de la Biblioteca General de la PUCE, bajo los criterios de inclusión y exclusión propuestos, y sobre las distintas metodologías y técnicas para la evaluación fenotípica, genotípica y funcional de las plaquetas asociadas a las mutaciones del gen ACTN1. Se recopiló la información de artículos publicados desde el 1/enero/2011 hasta el 1/octubre/2020. Se obtuvieron los datos necesarios para realizar un análisis comparativo de los resultados reportados por los autores, pero que compartían puntos en común, como son las variantes genéticas, las alteraciones fenotípicas plaquetarias y las manifestaciones clínicas en los pacientes con estas mutaciones.

Resultados: Se obtuvieron un total de 46 artículos, de los cuales se excluyeron los duplicados y aquellos que no cumplieron con los requisitos establecidos, quedando finalmente 6 artículos para el trabajo de la revisión bibliográfica narrativa. Se analizó la población estudiada por cada grupo de autores, demostrando que las variantes se heredaron de forma autosómica dominante. Las técnicas moleculares empleadas para la identificación de variantes del gen ACTN1 fueron GWAS, NGS y secuenciación Sanger. Aquellas variantes que se encontraban fuera del dominio CaM no se asociaban a problemas plaquetarios y no causaban trombocitopenia heredada. Las características fenotípicas se evaluaron por técnicas hematológicas, y se observó que los individuos presentaron una trombocitopenia leve o moderada asociadas a un volumen plaquetario medio elevado, confirmando la presencia de macrotrombocitopenia. Curiosamente, las anomalías fenotípicas asociadas a las variantes identificadas en el gen ACTN1 no se asociaron con trastornos importantes de la agregación plaquetaria, cuya función se mantuvo relativamente conservada, a pesar de que estudios *in vitro* hayan mostrado una desorganización en la distribución de los filamentos de actina causadas por las distintas variantes del gen ACTN1.

Conclusión: Las variantes del gen ACTN1 son la cuarta causa a nivel mundial de una macrotrombocitopenia congénita. A pesar de que estas variantes no presenten manifestaciones clínicas que ponen en riesgo la vida del paciente, la caracterización genética del individuo basada en su perfil étnico, se vuelve fundamental en pacientes con discrasias cuya etiología no ha sido identificada, para así llegar a un diagnóstico adecuado y evitar procedimientos clínicos innecesarios nocivos para el paciente.

Palabras clave: ACTN1, macroplaquetas, trombocitopenia, secuenciación, agregometría, transfección, inmunofluorescencia.

ABSTRACT

Introduction: Congenital macrothrombocytopenias are a group of disorders characterized by a reduction in the platelet count and the presence of large platelets, which manifest as an autosomal dominant character from birth. Many of these defects are the result of heterozygous mutations of the ACTN1 gene, which encodes the expression of alpha actinin 1 in megakaryocytes and platelets, necessary for the organization and formation of the cytoskeleton, being responsible for the size and number of thrombocytes in each individual. Various genetic analysis techniques have made it possible to identify point mutations with missense of ACTN1 associated with hemostasis disorders. These findings have led to various studies to identify the prevalence of ACTN1 gene mutations in populations with common ancestral lines and associate them with specific functional platelet disorders, opening the field to this type of research in Latin American populations. Due to a high genetic variability within the Latino population, it is necessary to apply methodologies that take into account these particularities of the ancestry of ethnic groups according to their geographical location, in order to obtain a better genetic and functional characterization of platelets within these communities. Molecular biology tools applied to genetics allow obtaining fundamental information for a diagnosis based on racial characteristics, optimizing the clinical management of the patient.

Methodology: This narrative bibliographic review was based on published articles available in databases of the General Library of PUCE, under the proposed inclusion and exclusion criteria, and on the different methodologies and techniques for the phenotypic, genotypic and functional evaluation of platelets associated with mutations in the ACTN1 gene. Information was collected from articles published from January 1, 2011 to October 1, 2020. The necessary data was obtained to perform a comparative analysis of the results reported by the authors, but which shared common points, such as genetic variants, platelet phenotypic alterations, and clinical manifestations in patients with these mutations.

Results: A total of 46 articles were obtained, of which duplicates and those that did not comply with the established requirements were excluded, leaving 6 articles for the narrative bibliographic review. The population studied by each group of authors showed that the variants were inherited in an autosomal dominant character. The molecular techniques used for the identification of ACTN1 gene variants were GWAS, NGS and Sanger sequencing. Those variants that were outside the CaM domain were not associated with platelet problems and did not cause inherited thrombocytopenia. The phenotypic characteristics were evaluated by hematological techniques, and it showed that individuals presented mild or moderate thrombocytopenia associated with a high mean platelet volume, confirming the presence of macrothrombocytopenia. Interestingly, the phenotypic abnormalities associated with the variants identified in the ACTN1 gene were not associated with important disorders of platelet aggregation, whose function remained relatively conserved, despite the fact that in vitro studies have shown a disorganization in the distribution of the filaments of actin caused by the different variants of the ACTN1 gene.

Conclusion: ACTN1 variants are the fourth worldwide cause of congenital macrothrombocytopenia. Despite the fact that these variants do not present clinical manifestations that put patient's life at risk, the genetic characterization of the individual based on their ethnic profile, becomes essential in patients with dyscrasias whose etiology has not been identified, in order to reach a diagnosis appropriate and avoid unnecessary clinical procedures harmful to the patient.

Keywords: ACTN1, macroplatelets, thrombocytopenia, sequencing, agregometry, transfection, immunofluorescence.

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN	ii
CERTIFICACIÓN.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE ANEXOS	xi
LISTA DE SIGLAS.....	xii
1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Planteamiento del Problema	15
1.2. Justificación	18
1.3. Pregunta de Investigación	22
1.4. Objetivos.....	22
1.4.1. Objetivo General.....	22
1.4.2. Objetivos Específicos	22
1.5. Delimitación del Estudio.....	22
2. MARCO METODOLÓGICO	23
2.1. Tipo de Estudio.....	23
2.2. Proceso de Revisión Bibliográfica.....	23
2.2.1. Identificación del Campo de Estudio.....	24
2.2.2. Selección de las Fuentes de Información	24
2.2.3. Realización de Búsqueda Bibliográfica.....	25
2.2.4. Estrategias de Búsqueda y Su Registro	25
2.2.5. Descriptores MeSH.....	26

2.2.6. Operadores Booleanos y de Truncamiento.....	26
3. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS	27
3.1. Revisión de la Información.....	27
3.1.1. Riesgo de Sesgo en los Estudios Individuales.....	29
3.2. Revisión de la Información de los Artículos Recuperados.....	29
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. Población.....	32
4.2. Screening Genotipo.....	35
4.3. Caracterización de las Variantes de ACTN1	39
4.4. Fenotipo Plaquetario	43
4.5. Estudios Funcionales	45
4.5.1. Agregometría y citometría de flujo	45
4.5.2. Inmunofluorescencia	47
4.6. Manifestaciones Clínicas	49
CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFÍA	52
ANEXOS	58

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes de búsqueda bibliográfica de la hemeroteca virtual de la PUCE.	24
Tabla 2. Términos MeSH para búsqueda y estructuración de la sintaxis.	26
Tabla 3. Evaluación de sesgos	29
Tabla 4. Caracterización de las variantes del gen ACTN1.	41
Tabla 5. Clasificación de sangrados según OMS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del gen ACTN1.....	20
Figura 2. Metodología para la realización de búsquedas sistemáticas de bibliografía..	23
Figura 3. Diagrama de flujo para la selección de la información.....	28
Figura 4. . Diagrama de procedimiento de Secuenciación Sanger.	36
Figura 5. Diagrama de procedimiento de GWAS.	38

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de estrategia de búsqueda.....	59
Anexo 2. Matriz de recolección de información primaria.....	61
Anexo 3. Lista de verificación de información de STROBE.	62
Anexo 4. Matriz de información de artículos excluidos.	65
Anexo 5. Matriz de almacenamiento de artículos seleccionados.....	67
Anexo 6. Matriz de recolección de información final.....	69

LISTA DE SIGLAS

- AB: *Actin-binding*
- ACTN1: Alfa Actinina 1
- ACTN1-RT: Trombocitopenia relacionada al ACTN1
- ADP: Adenosín difosfato
- ATP: Adenosín trifosfato
- CADD: *Combined Annotation Dependent Depletion*
- CaM: *Calmodulin domain*
- CHO: Células de ovario de hámster chino
- CPM: Contaje plaquetario medio
- DAPI: 4',6-diamidino-2-fenilindol
- DP: Diámetro plaquetario
- GWAS: Estudio de asociación del genoma completo
- IR: Intervalo de referencia
- MTCC: Macrotrombocitopenia congénita
- NGS: Secuenciación de nueva generación
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa
- SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido
- SR: Repeticiones de espectrina
- TH: Trombocitopenia heredada
- VPM: Volumen plaquetario medio
- WES: Secuenciación del exoma completo

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de los trastornos hematológicos en el laboratorio clínico incluye el análisis de los elementos figurados circulantes en la sangre. Entre las células sanguíneas se encuentran las plaquetas, cuyas características estructurales son fundamentales para el correcto cumplimiento de su función hemostática.

Las plaquetas son c[]s pequeñas con varios propósitos fisiológicos, de los cuales el más estudiado ha sido su función dentro de la hemostasia. La formación del trombo plaquetario es un paso crucial en el mantenimiento del volumen sanguíneo como consecuencia de una lesión vascular, a través de la liberación de varias glicoproteínas que favorecen la agregación y estabilización de estas células en el lugar de la lesión (Grimaldo-Gómez, 2017). La complejidad de los procesos que llevan a la formación del trombo plaquetario depende, entre otros, de otros factores de tipo genético cuyas características fenotípicas como el volumen y la concentración por unidad de volumen son determinantes para el mantenimiento de su integridad funcional (Holinstat, 2017).

El estudio de las plaquetas incluye la evaluación de su tamaño, volumen, número y función. La alteración de sus características morfológicas da como resultado macroplaquetas o plaquetas gigantes, así como anormalidades en relación con el número de estas células por unidad de volumen sanguíneo, dando lugar a trombocitopenia o trombocitosis; estas alteraciones pueden, a su vez, inducir alteraciones funcionales resultantes en patologías caracterizadas por un incremento o una deficiencia de la capacidad de agregación plaquetaria resultantes en anomalías de la función de hemostasia del individuo (Vinholt, 2019).

La evaluación de la función plaquetaria se realiza mediante técnicas como la agregometría plaquetaria y la citometría de flujo, que mediante estudios *in vitro* permiten establecer el grado de agregación plaquetaria además del estado de las vías de transducción intracelular encargadas de estimular la secreción de glicoproteínas como el complejo GP Ib/IX/V que favorece la adhesión inicial de las plaquetas o el complejo GP IIb/IIIa (α IIb β 3) que permiten la agregación de las plaquetas modificadas gracias a la polimerización de los filamentos de actina, que originan contactos focales con la membrana y desarrollan los sitios de adhesión local para formar el tapón plaquetario (Arismendy [], 2012; Yadav y Storrie, 2017). En la actualidad, además de identificar

la expresión de las glicoproteínas, también es posible identificar las alteraciones genéticas responsables de los trastornos fenotípicos y funcionales de estas estructuras anucleadas, con la aplicación de técnicas dentro del campo de la biología molecular y genética como son la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la transfección, la secuenciación del genoma completo, entre otras (Arboleda y Xian, 2019).

Los estudios genéticos han permitido identificar el origen de diferentes trastornos plaquetarios, como los genes causantes del Síndrome de Bernard-Soulier, el síndrome de plaquetas grises, Síndrome DiGeorge y otras trombocitopenias heredadas que tienen mutaciones en diferentes genes, como es el MYH9, ACTN1, TUBB1 (Ghosh et al., 2018; Kunishima y Saito, 2006; Nurden et al., 2012). Estos estudios han permitido, además, construir un perfil étnico caracterizado por la manifestación de ciertas mutaciones con elevada prevalencia en determinados grupos raciales, dando lugar a manifestaciones funcionales clínicamente relevantes.

Utilizando este criterio, se ha encontrado que la población latina, caracterizada por su amplia variación genética, presenta una alta prevalencia de mutaciones del gen Alfa-Actinina 1 (ACTN1) el cual codifica una de las dos isoformas no musculares de la proteína de actina que se expresa en los megacariocitos y plaquetas (Bottega et al., 2015; Schick et al., 2016). La alfa actina es una proteína que forma parte del citoesqueleto plaquetario, cuya presencia es fundamental para la determinación del tamaño y el número de trombocitos, así como para la organización de las vías intracelulares que regulan el tráfico molecular necesario para una adecuada funcionalidad plaquetaria (Prasain y Stevens, 2009; Thon y Italiano, 2012).

Como se ha descrito, no solo las mutaciones del gen ACTN1 son causantes de una macrotrombocitopenia congénita de herencia autosómica dominante (Bottega et al., 2015; Guéguen et al., 2013; International Mouse Phenotyping Consortium, 2019; Kunishima et al., 2013), pues el reconocimiento de la importancia del gen ACTN1 en el mantenimiento de la integridad funcional de las plaquetas, ha generado un nuevo enfoque en el estudio de patologías plaquetarias donde las mutaciones de dicho gen se asocian a características ancestrales de los individuos que las expresan. Este enfoque innovador, proporciona interesantes perspectivas en la producción de nuevas técnicas de diagnóstico precoz y tratamiento de trastornos de la hemostasia asociadas a la ascendencia étnica, y es la base de este trabajo de investigación a partir de una recopilación de información científica relevante presente hasta el momento relacionada a las mutaciones genéticas del

gen ACTN1, sus consecuencias clínicas y su prevalencia en la población latina en general, llegando a considerarse como un punto de partida para estudios posteriores dentro de la población ecuatoriana en particular.

El trabajo de titulación consta 5 capítulos:

- En el capítulo 1 se describe la introducción, donde se redacta el planteamiento del problema, la justificación, la pregunta del problema, los objetivos y las delimitaciones del estudio.
- En el capítulo 2 se encuentra el marco metodológico donde se detallan las estrategias de búsqueda de los artículos para la revisión bibliográfica.
- En el capítulo 3 se detalla la selección de los artículos científicos para la revisión bibliográfica narrativa.
- En el capítulo 4 se redactan los resultados de los la recopilación de la información de los 6 artículos seleccionados y la respectiva discusión.
- Finalmente de describen las conclusiones del trabajo.

1.1. Planteamiento del Problema

En el año 2013 Guéguen et al presentaron un estudio en donde reportaron casos de familias de etnia francesa caracterizadas por presentar anisocitosis plaquetaria acompañada de plaquetas grandes y trombocitopenia. El análisis genético demostró que la causa de estas alteraciones fenotípicas plaquetarias eran el resultado de la presencia de mutaciones únicas, a censo único, en el gen ACTN1, encargado de expresar la proteína alfa actinina 1, al cual proporciona el tamaño de las plaquetas e indirectamente el número de estas en el individuo (Guéguen et al., 2013).

Posteriormente, en el estudio realizado por Bottega et al (2015), cuyo objetivo principal fue identificar las mutaciones del gen ACTN1 relacionado con la trombocitopenia y macrocitosis plaquetaria, se analizaron 128 pacientes de etnia italiana y británica sin un diagnóstico certero de trombocitopenia heredada (TH), en donde se evidenciaron 10 familias con mutaciones del gen ACTN1. A través de estudios clínicos y de laboratorio, Bottega et al (2015) determinaron que 31 pacientes presentaban mutaciones en el gen ACTN1 relacionadas con una macrotrombocitopenia mediana con

bajo riesgo de sangrado y dentro del *screening* de mutaciones del gen ACTN1 se identificaron 11 variantes.

Según el estudio realizado por, Schick et al (2016), en individuos residentes en los Estados Unidos pero provenientes de países como Perú, Colombia, Puerto Rico y México de ascendencia indoamericana, evidenciaron la presencia de anisocitosis plaquetaria, acompañada de un número estadísticamente relevante de plaquetas grandes, fenómeno que se encontraba relacionado con la presencia de variantes en los genes encargados de la formación del citoesqueleto plaquetario. Dentro de la población Hispana/Latina se puede encontrar una serie de mutaciones específicas referentes al gen ACTN1, sin embargo, dentro de las poblaciones asiáticas, europeas o africanas existen, de igual forma, mutaciones de este gen, lo que indica que estas variaciones suceden de acuerdo a cada etnia estudiada. Además, estas mutaciones en el gen ACTN1 generan también anomalías en la distribución de actina dentro del citoesqueleto, causando trombocitopenia (Schick et al., 2016).

Como se ha mencionado existe evidencia de las consecuencias morfológicas y funcionales de las plaquetas causadas por las mutaciones en el gen ACTN1. Hay un cambio en el tamaño y número plaquetario, que se presenta como macrotrombocitopenia, cuyas manifestaciones clínicas desembocan en sangrados leves o moderados, siendo esto un problema dentro del mecanismo de la hemostasia. Estas alteraciones genéticas se encontraron en la población de ascendencia indoamericana que reside en diferentes áreas de los Estados Unidos como Chicago, Miami, Bronx y San Diego (Schick et al., 2016). A pesar de los resultados significativos obtenidos dentro de estos estudios, en donde se establece una clara relación entre una específica mutación del gen ACTN1 y la etnia, hasta el momento no existen investigaciones referentes a la población ecuatoriana, caracterizada por una elevada variedad ancestral que da a nuestra etnia una serie de características únicas.

Las macroplaquetas aparecen debido a alteraciones en la trombopoyesis y pueden surgir de manera más frecuente en pacientes heterocigotos por mutaciones en los genes MYH9, GP1BB, GP1Ba, GPIX, ABCG5 y 8, ACTN, FLI, TUBB y RUNX1. Estudios recientes han encontrado una relación existente entre las variantes del gen ACTN1 y la presencia de macroplaquetas debido a la disfunción en el citoesqueleto (Ghosh et al., 2018). Es así como en el estudio de Faleschini et al (2018), buscaron las variantes del gen ACTN1 relacionadas a una macrotrombocitopenia en 130 pacientes italianos.

Confirmaron con estudios *in vitro* que esta patología se encuentra directamente relacionada con mutaciones presentes en el gen ACTN1. En su investigación concluyeron que esta es la cuarta causa más frecuente de trombocitopenias heredadas. Indican que la anisocitosis plaquetaria y una trombocitopenia media de alrededor 102×10^9 plaquetas/L, se encuentra en menos del 80% de los casos, por lo que hay casos que no necesariamente se relacionan con un conteo bajo en el número de plaquetas, y estos no resultan en una tendencia de sangrados (Faleschini et al., 2018).

De igual forma, Vincenot et al en el año 2019, realizaron una secuenciación del gen ACTN1 en 272 pacientes franceses que presentaban una trombocitopenia crónica o heredada. Se identificaron 15 variantes probablemente patógenas relacionadas al gen ACTN1 en 20 familias que no tenían relación alguna, de los cuales 30 miembros presentaron trombocitopenia, y 28 presentaron variantes del gen ACTN1 y presentaban o no un sangrado intermedio (Vincenot et al., 2019). Es así como en los pacientes analizados por todos los autores relacionaron la presencia de alteraciones fenotípicas de las plaquetas con las manifestaciones clínicas que estos individuos podían presentar, siendo así la presencia de sangrados de leves a moderados los que se manifestaron en los sujetos con variantes específicas del gen ACTN1 (Bottega et al., 2015; Faleschini et al., 2018; Guéguen et al., 2013; Kunishima et al., 2013; Vincenot et al., 2019).

A pesar de esto, el Ecuador no tiene información que aporte al estudio sobre la macrocitosis plaquetaria y la trombocitopenia asociada a las variantes de dicho gen, si bien es cierto que existen estudios en poblaciones específicas como es la investigación acerca de las mujeres gestantes en la provincia de Pichincha, en el “Hospital General Docente de Calderón” en las cuales se encontró una disminución de plaquetas que afecta del 10-15% de mujeres embarazadas entre el segundo y tercer trimestre de gestación (Oña, 2018), y en pacientes diabéticos en los que se observó la presencia de macroplaquetas asociadas al aumento en la agregación plaquetaria, que podría encontrarse asociada a la presencia de infarto agudo de miocardio en este grupo de pacientes (Lara, 2019). Hasta el momento no se ha analizado la importancia del componente genético en estas patologías dentro de nuestra población.

1.2. Justificación

Las plaquetas son pequeñas células anucleadas que forman parte de los elementos figurados de la sangre. Cuando se produce una lesión del endotelio, las plaquetas se activan, cambian su forma y expresan una serie de moléculas de adhesión promoviendo su agregación y estabilizando la formación del tapón plaquetario, con la finalidad de evitar la pérdida excesiva de sangre, cumpliendo así su rol fundamental en la hemostasia (Grimaldo-Gómez, 2017). Las plaquetas provienen de los megacariocitos y se encuentran circulando libremente en forma de discos biconvexos con un diámetro promedio de 2-5 μm , un grosor de 0,5 μm , un VPM entre 6-10 fL y una concentración media de plaquetas de 150-450 $\times 10^9/\text{L}$ en un adulto. De la masa plaquetaria total, aproximadamente los 2/3 se encuentran en la circulación mientras que el 1/3 restante se localiza en el bazo. La zona periférica de las plaquetas es una estructura dinámica que permite el contacto de las plaquetas con el medio que le rodea gracias a la presencia de fosfolípidos, glicolípidos y glicoproteínas, que favorecen el proceso de adhesión de las plaquetas a la matriz extracelular de la pared vascular para posteriormente dar paso a la agregación de los trombocitos entre sí (Gremmel et al., 2016; López-Farré y Macaya, 2013). Dentro del citoplasma de los trombocitos se encuentran 4 tipos de gránulos que se distinguen entre sí por su contenido: alfa, densos, lisosomas y microperoxisomas. Cuando las plaquetas se activan, se reorganiza el complejo de filamentos de actina y miosina que mantiene la estructura plaquetaria, estimulando la secreción activa de los gránulos para favorecer la agregación de las plaquetas y la formación del trombo primario, como también la asociación de complejos enzimáticos con actividad procoagulante que darán lugar a la estabilización del coágulo (Holinstat, 2017).

La TH es una enfermedad que se ha estudiado a profundidad a lo largo de los años, y se ha llegado a descubrir nuevos desórdenes dentro de este campo y otros que han presentado mayor frecuencia (Balduini y Savoia, 2012). Estos desórdenes plaquetarios se pueden encontrar en un examen de rutina, en donde se pueden observar plaquetas gigantes o macroplaquetas. La trombocitopenia es clasificada según el conteo plaquetario en leve (100-150 $\times 10^9/\text{L}$), moderada (50-99 $\times 10^9/\text{L}$) y severa (menor a 50 $\times 10^9/\text{L}$) (Pereiro et al., 2017). Dentro de las TH se encuentra la macrotrombocitopenia congénita (MTCC) que es una patología extremadamente rara caracterizada por la presencia de un conteo bajo de plaquetas y un aumento del tamaño de las mismas que se evidencia desde el

nacimiento de un individuo, cuyas manifestaciones clínicas son heterogéneas y se pueden presentar de forma asintomática o incluso severa. Dentro de las causas principales de la enfermedad se encuentran las anomalías en el citoesqueleto plaquetario, en la expresión de GPIb/IX/V y de los factores de transcripción.(Kunishima y Saito, 2006). Los cambios en la morfología plaquetaria se deben a alteraciones en la maduración de los megacariocitos dentro de la médula ósea y la liberación de plaquetas prematuras. Estas enfermedades plaquetarias también pueden interferir en el desarrollo de otras células y funcionamiento de otros órganos (Nurden et al., 2012).

Varios estudios han establecido claramente que las características fenotípicas plaquetarias se encuentran influenciados por la genética (Thon y Italiano, 2012). Hasta el momento se han identificado más de 12 genes portadores de mutaciones causantes de MTCC que representan solamente la mitad de las MTCC conocidas, tales como la enfermedad asociada a MYH9 que puede causar nefropatías, inclusiones de Döhle en granulocitos y enzimas hepáticas elevadas (Balduini et al., 2011); también se encuentra el síndrome de Bernard-Soulier, resultado de una mutación genética del complejo GPIb-IX-V que producen una trombocitopenia con plaquetas gigantes y una funcionalidad disminuida (Almomani y Mangla, 2020; Berndt y Andrews, 2011; Geil, 2020).

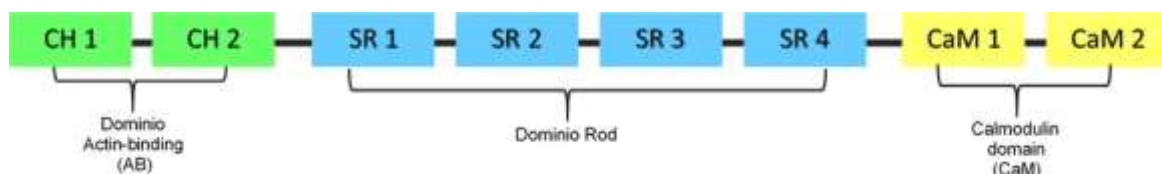
Estudios realizados con el objetivo de identificar nuevas variantes genéticas responsables de alteraciones fenotípicas y funcionales plaquetarias, han demostrado que individuos con mutaciones del gen ACTN1, que codifica los filamentos de actina en las células, tienen aproximadamente la mitad del número normal de plaquetas acompañado de un incremento del 30% en el tamaño de las mismas (Kunishima et al., 2013). El gen ACTN1 permite la codificación de la proteína alfa actinina 1, la cual a su vez establece interacciones con los filamentos de actina del citoesqueleto y generar sitios para la adhesión a las integrinas y generar junto a la miosina una fuerza que se convierte en extensión y contracción necesarias para garantizar el proceso de activación y agregación plaquetaria (Murphy y Young, 2015).

La importancia del gen ACTN1 se observa especialmente durante el periodo de formación de las plaquetas ya que estas provienen de las proplaquetas, que son extensiones largas y tubulares del citoplasma del megacariocito localizadas en las sinusoides de la médula ósea y su maduración depende de la actina (Kunishima et al., 2013). Estas proplaquetas se liberan al torrente sanguíneo, donde se produce la maduración de las plaquetas hacia su forma final (Thon et al., 2010). Todas y cada una

de las etapas de este proceso son el resultado de la reorganización dinámica del citoesqueleto y la transducción coordinada de las señales intracelulares que según Kunishima et al (2013) se ven afectadas por variantes en el gen ACTN1. Muchas líneas de evidencia sugieren que las MTCC son el resultado de defectos en esta fase terminal de la producción de las plaquetas (Hartwig y Italiano, 2006). Cabe recalcar que los estudios realizados en sujetos normales han confirmado una relación no lineal inversamente proporcional entre el tamaño y el conteo plaquetario (Thon y Italiano, 2012), confirmando la relevancia del ACTN1 en la determinación de las características fenotípicas plaquetarias. Es por esto, que la identificación de las mutaciones que causan MTCC constituyen un elemento fundamental para el diagnóstico etiológico correcto y un tratamiento adecuado para la enfermedad.

El gen ACTN1 está formado por el dominio *actin-binding* (AB), *calmodulin domain* (CaM), y el dominio Rod compuesto por 4 repeticiones de espectrina (SRs) (Vincenot et al., 2019). (Figura 1).

Figura 1. Estructura del gen ACTN1.



La figura muestra los dominios CH (Calponina Homóloga) ubicados en el dominio AB N-terminal, 4 repeticiones SR y 2 dominios CaM en el C-terminal. (Elaborado por Alejandra López y Hugo Ruiz. Adaptado de *α-Actinin structure and regulation*, Sjöblom et al (2008)).

Las variantes del gen ACTN1 son mutaciones que afectan el orden de la estructura y orientación de los dominios encargados de expresar la proteína alfa actina dentro de la plaqueta (Faleschini et al., 2018). Se han descrito 25 variantes del gen ACTN1, de las cuales 16 alteran el dominio AB y CaM, llegando a causar una desorganización de redes de actina, y otras cuatro variantes que se encuentran en el dominio rod; las variantes en el dominio AB inducen un aumento en la unión de los filamentos de actina, mientras que, las otras variantes se asocian a la producción de filamentos de actina cortos, gruesos y desorganizados (Vincenot et al., 2019). Esta sobreexpresión de las variantes del gen ACTN1 asociadas a la desorganización del citoesqueleto F-actina llegan a causar

problemas en la formación y la cantidad de proplaquetas a partir de megacariocitos (Westbury et al., 2017).

El rol de la herencia sobre el gen ACTN1 se ha evidenciado mediante estudios realizados en gemelos y confirmados a través del Mouse Genome Database (The Jackson Laboratory, 2020). La incapacidad de sobrevivencia de ratones homocigotos para mutaciones de este gen, es un indicativo de que los trastornos asociados al mismo son de tipo heterocigoto autosómico dominante (Thon y Italiano, 2012).

Los estudios seleccionados para este trabajo utilizan una serie de técnicas empleadas dentro de los laboratorios de hematología, biología molecular y genética necesarios para establecer el tipo de mutaciones del gen ACTN1 relacionadas a MTCC cuya etiología aún no ha sido identificada, y así establecer un patrón de mutaciones prevalentes en diversas etnias, de tal manera que se pueda utilizar este mapa genético como un punto de referencia en el diagnóstico de trastornos de la hemostasia y sus consecuencias.

El tema mencionado de esta revisión bibliográfica no se ha realizado con anterioridad en el Ecuador; sin embargo, se han realizado estudios de frecuencia de trombocitopenia en poblaciones específicas como son mujeres gestantes o la presencia de macroplaquetas en diabéticos, realizado por Oña (2018) y Lara (2019) respectivamente, mas no en la población en general. De acuerdo con el estudio realizado por Schick et al (2016), se ha podido observar que las personas latinas cuentan con una ascendencia variada de africanos, europeos e indios americanos, siendo estas poblaciones vulnerables a presentar variantes del gen ACTN1 y por ende presentar trombocitopenia y macrocitosis plaquetaria, por lo que se pretende que este trabajo sirva de base para realizar una investigación con más profundidad en un futuro. Al conocer que las variantes del gen ACTN1 generan una macrocitosis plaquetaria acompañada o no de una trombocitopenia que puede presentar o no sangrados, permitirá que se brinde un diagnóstico más acertado en aquellas personas que presentan macroplaquetas de una etiología poco estudiada. De esta forma se podrá establecer un tratamiento o una terapia enfocada directamente a las variantes del gen ACTN1, para que no exista un diagnóstico erróneo como es el caso de la paciente estudiada por Guéguen et al (2016) valorada con púrpura trombocitopénica inmune que recibió una terapia esteroidea y una esplenectomía sin una mejoría en el conteo plaquetario.

1.3. Pregunta de Investigación

¿Qué se conoce hasta el momento sobre variantes del gen ACTN1 y el desarrollo de una macrocitosis plaquetaria, trombocitopenia y la tendencia a sangrados?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Evidenciar la relación existente entre variantes del gen ACTN1 y la morfología, recuento plaquetario y tendencia a sangrados en base a literatura publicada.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Describir la presencia de macrocitosis plaquetaria debido a las variantes del gen ACTN1 en base a artículos ya publicados.
- Asociar las variantes del gen ACTN1 con la presencia de trombocitopenia mediante una revisión bibliográfica
- Referir la presencia o ausencia de sangrados en pacientes que presenten variantes del gen ACTN1 a partir de los artículos previamente seleccionados.
- Asociar variantes específicas del gen ACTN1 con perfiles étnicos definidos.

1.5. Delimitación del Estudio

La presente investigación bibliográfica se limita a la revisión de artículos publicados en los últimos 10 años a nivel mundial en el idioma inglés o español obtenidos de fuentes primarias y secundarias. Sin embargo, las búsquedas realizadas en el idioma español no presentaron resultados. Las revistas científicas seleccionadas deberán estar en cuartil Q1 de ranking Scimago, de acceso total y gratuito. No se utilizaron fuentes bibliográficas locales ya que en el Ecuador no existen investigaciones previas relacionadas al tema ni fuentes terciarias o literatura gris.

2. MARCO METODOLÓGICO

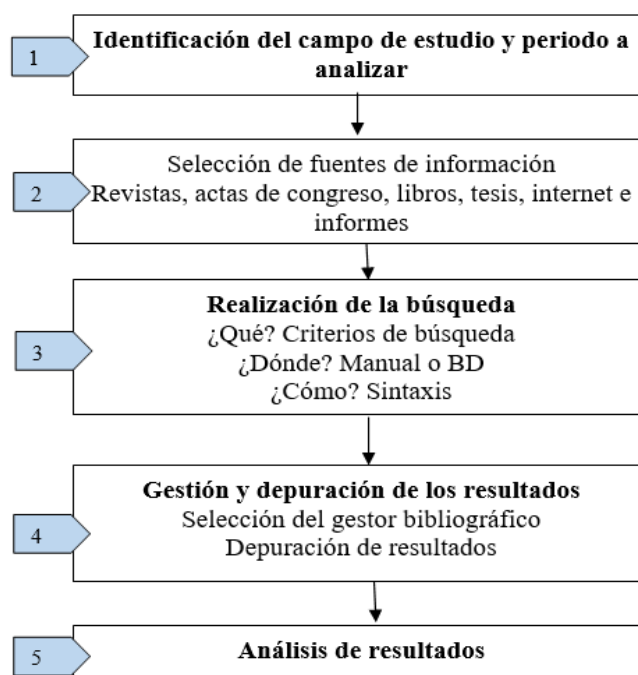
2.1. Tipo de Estudio

Se realizó una revisión bibliográfica narrativa sobre las variantes del gen ACTN1 y su efecto en la morfología, el contaje plaquetario y la tendencia a sangrados, analizando los artículos publicados a nivel mundial en los últimos diez años.

2.2. Proceso de Revisión Bibliográfica

Con la finalidad de responder a nuestra pregunta de investigación, se emplearon las recomendaciones de Medina-López et al (2010) (Figura 2) y el diagrama de flujo correspondiente a las cuatro fases propuesto por Moher et al (2009) (Figura 3).

Figura 2. Metodología para la realización de búsquedas sistemáticas de bibliografía.



Nota. Extraído de “Una propuesta metodológica para la realización de búsquedas sistemáticas de bibliografía” de C. Medina-López, JA. Marín-García y R. Alfalla-Luque, 2010, Working Papers on Operations Management, 1(2), p. 15).

2.2.1. Identificación del Campo de Estudio

La presente revisión bibliográfica narrativa está enfocada en dos áreas de investigación que corresponde a Biología Molecular y Hematología que estudian las variantes del gen ACTN1 y la variación en la morfología, el conteo plaquetario y su consecuencia clínica fundamental que es la tendencia a sangrados.

2.2.2. Selección de las Fuentes de Información

En esta revisión bibliográfica narrativa se emplearon fuentes de información basadas en el área de salud como fuentes primarias. Además, se buscaron tesis doctorales como fuentes secundarias y directorios como fuentes terciarias. Fueron utilizadas para ello las bases de datos con las que cuenta la hemeroteca de la Biblioteca General de la PUCE y que se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Fuentes de búsqueda bibliográfica de la hemeroteca virtual de la PUCE.

Fuente	Dirección URL
<i>Scopus</i>	https://www-scopus-com.puce.idm.oclc.org/search/form.uri?display=basic
<i>Science Direct</i>	https://sciencedirect.puce.elogim.com/
<i>Cengage Learning</i>	https://www-galepages-com.puce.idm.oclc.org/puce_cons
<i>EBSCO host</i>	http://webebsco.puce.elogim.com//ehost/search/selectdb?vid=0&sid=3ad22eb5-484a-496f-b6df-7c04a1d09d1b%40sdc-v-sessmgr01
<i>Springer Journals</i>	https://springerlink.puce.elogim.com/
<i>PubMed</i>	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/
<i>Web of Science</i>	https://wosapp.puce.elogim.com/WOS_GeneralSearch_input.do?pro
<i>Dynamed Plus</i>	https://www.dynamed.com/
<i>Clinical Key</i>	https://clinicalkey.puce.elogim.com/#/
<i>COCHRANE</i>	https://www.cochrane.org/
<i>Taylor & Francis online</i>	https://www.tandfonline.com/

2.2.3. Realización de Búsqueda Bibliográfica

Para la búsqueda bibliográfica se utilizaron las bases de datos indicadas, limitando a los artículos publicados en los últimos diez años (01 enero 2011 a 01 de octubre de 2020) y que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos.

Criterios de inclusión:

- Tipo de estudio: estudios observacionales.
- Indicadores: variantes del gen ACTN1, cambios cualitativos y cuantitativos en las plaquetas en circulación y tendencia a sangrados.
- Metodología de laboratorio: técnicas moleculares, genéticas-mutagénesis y efecto mutagénico
- Población: humanos, cualquier sexo y edad.
- Criterio geográfico: nivel mundial
- Fecha de publicación del artículo: entre 01 enero 2011 a 01 de octubre de 2020
- Idioma: inglés o español
- Tipo de texto: completo
- Acceso: gratuito
- Índice de Calidad: SJR (SCImago Journal & Country Rank): Q1

Criterios de exclusión:

- Artículos en los que se modifiquen las condiciones de ensayo por tratamientos al paciente.
- Artículos que estudien la presencia de otros trastornos plaquetarios genéticos.

2.2.4. Estrategias de Búsqueda y Su Registro

Respecto a la búsqueda de artículos, estos deben cumplir con los criterios de inclusión descritos en el apartado anterior. Para la selección de los artículos tomaremos en cuenta el diagrama de flujo de cuatro fases que se enlistan en la Figura 2.

2.2.5. Descriptores MeSH

Para la búsqueda de datos se utilizaron términos MeSH (*Medical Subject Headings*, tesauros de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos) (Tabla 2), los sinónimos y acrónimos acordes con la pregunta planteada para el estudio.

Tabla 2. *Términos MeSH para búsqueda y estructuración de la sintaxis.*

Términos MeSH
ACNT1
<i>Platelets</i>
<i>Thrombocytopenia</i>
<i>Hemorrhage</i>
<i>Macrocytosis</i>

2.2.6. Operadores Booleanos y de Truncamiento

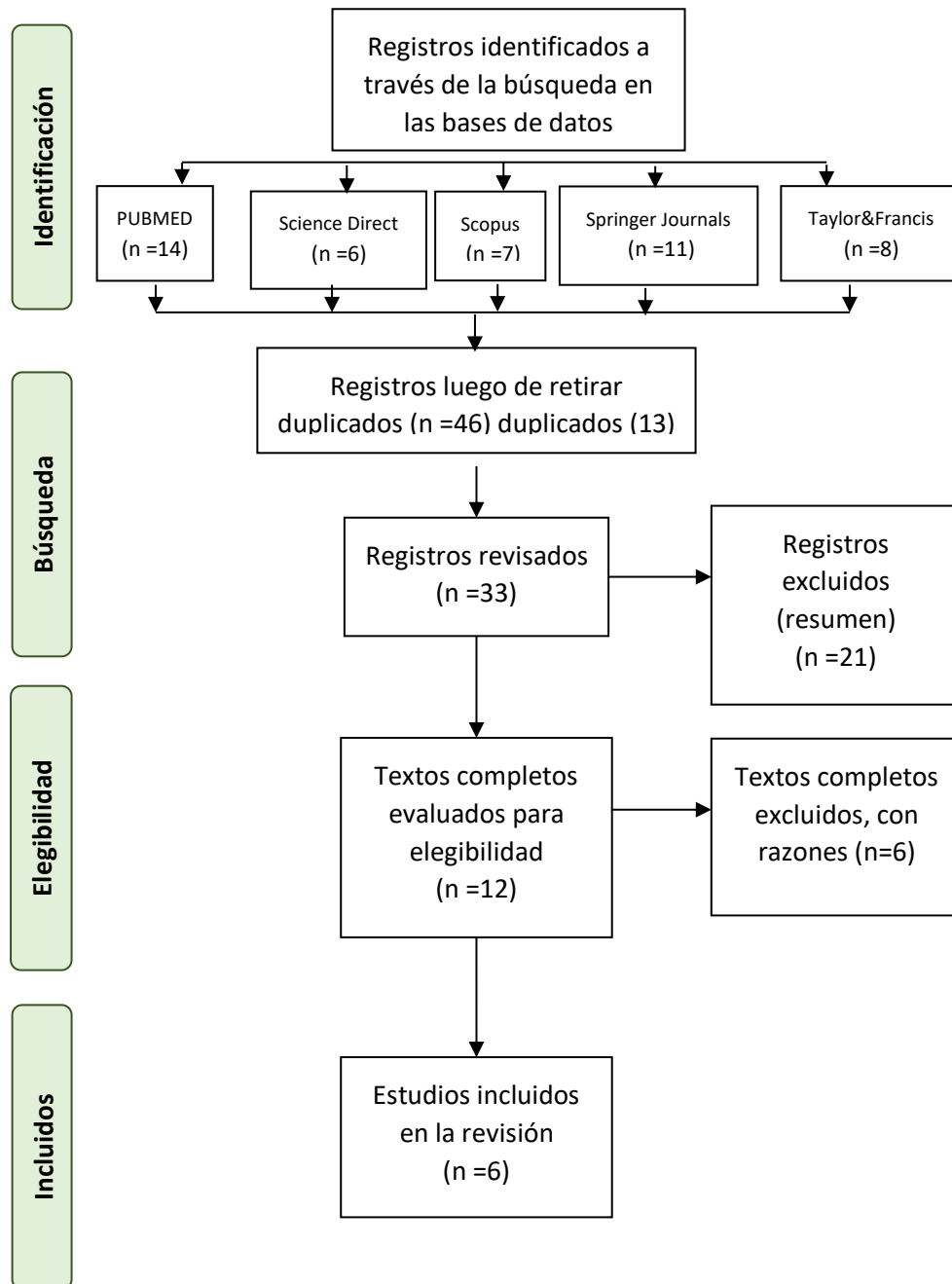
Para facilitar la búsqueda y selección de información se emplearon los filtros de búsqueda que trae cada base de datos de acuerdo con los criterios de inclusión establecidos para la revisión. Se construirán frases de búsqueda con ayuda de los operadores booleanos (“AND”, “OR” y “NOT”) así como también con etiquetas y características especiales que permita cada base y de acuerdo con la sintaxis que se vaya construyendo se determinará la necesidad o no de priorizar el campo del artículo en el que se buscarán los términos con la finalidad de precisar la búsqueda.

3. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS

3.1. Revisión de la Información

Para la revisión y selección de los artículos recuperados se utilizó el diagrama de flujo propuesto por Moher (2009) que se encuentra descrito en la Figura 3. Para esto fueron diseñadas matrices que permitieron recolectar la información de los artículos en cada paso del diagrama de flujo. En resumen, de los 46 artículos encontrados en 5 bases de datos seleccionadas, se procedió a registrar los duplicados, que en este caso fueron 13 artículos quedando un total de 33 artículos revisados. A partir del resumen se excluyeron 21 artículos y los 12 restantes fueron evaluados mediante la lectura del texto completo para su elegibilidad en base a los criterios de inclusión y exclusión. De esta forma se obtuvieron finalmente 6 artículos para la revisión bibliográfica narrativa.

Figura 3. Diagrama de flujo para la selección de la información.



Nota. Adaptado de “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement” (p. 3), de D. Moher, A. Liberati, J. Tetzlaff y D. Altman, 2009, PLoS Med 6(7): e1000097. Doi: 10.1371/journal.pmed.1000097. © 2009 Moher et al.

Fase de identificación: se realizó la búsqueda de información que se registró en una matriz resumen (Anexo 1), en la que se detalla el nombre de la base de datos, la estrategia de búsqueda (sintaxis) junto con la fecha de búsqueda y el número de artículos disponibles.

Fase de cribaje: Dentro del cribaje de información se realizó una depuración de información mediante la eliminación de artículos duplicados y se volvió a registrar el número de artículos por base de datos luego de la depuración en el Anexo 2.

3.1.1. Riesgo de Sesgo en los Estudios Individuales

Existen varios tipos de sesgo que amenazan con la validez de artículos, para determinar el riesgo de sesgo en estudios individuales se evaluaron los criterios descritos por Alarcón, M. et al 2015 (Tabla 3).

Tabla 3. Evaluación de sesgos

Dominio	Artículos
Generación aleatoria de la secuencia (Sesgo de selección)	No aplica
Cegamiento de los participantes y del personal (sesgo de realización)	No aplica
Cegamiento de los evaluadores de los resultados (sesgo de detección)	No aplica
Datos de resultado incompletos (sesgo de desgaste)	No aplica
Notificación selectiva de los resultados (sesgo de notificación)	No aplica

3.2. Revisión de la Información de los Artículos Recuperados

Los artículos que fueron preseleccionados pasaron a una lectura analítica para determinar si cumplen con los criterios requeridos para la revisión, con lectura de texto completo, y se cumplieron con las dos últimas fases de selección de información.

Fase de elegibilidad: Fueron seleccionados los artículos que cumplían con los criterios de elegibilidad y posteriormente fueron analizados según los objetivos del

presente estudio. Como apoyo a esta fase de revisión se utilizó la lista de verificación de información que debe incluir un estudio observacional, STROBE (Anexo 3). Los datos bibliográficos de los artículos excluidos en esta fase fueron registrados en el Anexo 4 indicando la razón por la que no fueron seleccionados.

Fase de incluidos: posteriormente los artículos seleccionados se registraron en el Anexo 5 y se revisó la bibliografía para determinar si se pasó por alto algún artículo de interés para el estudio e incluirlo dentro del grupo de seleccionados si su información es útil.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plaquetas cumplen con una función importante dentro de la hemostasia, que es la formación de un coágulo estable cuando ocurre una lesión del endotelio (Grimaldo-Gómez, 2017), y para esto deben tener una estructura adecuada, es decir los filamentos de actina deben encontrarse organizados.

La formación de filamentos de actina dentro de las plaquetas depende del gen ACTN1, por lo que la presencia de variantes dentro de este gen va a generar cambios en la red de filamentos de actina, causando así alteraciones en la morfología y número de plaquetas, que se lo evidencia como macroplaquetas y trombocitopenia (Pereiro et al., 2017). Esto puede llegar a desencadenar, en ciertos casos, sangrados que pueden ir de leves a moderados (Kunishima et al., 2013).

La identificación genética acerca de las variantes del gen ACTN1 suele pasarse por alto, lo que causa que el paciente sea diagnosticado erróneamente, por ejemplo, con trombocitopenia inmune o TH de etiología desconocida u otras enfermedades plaquetarias, que llevan a tratamientos inadecuados e implican consecuencias de tipo personal, comunitario y económico.

Estas alteraciones fenotípicas plaquetarias asociadas a mutaciones del gen ACTN1 han despertado el interés de la comunidad científica internacional. El carácter hereditario de este gen, así como la presencia de una serie de mutaciones detectadas en el mismo, ha dado lugar a una serie de estudios en diversas poblaciones caracterizadas por ancestros comunes, para poder identificar no solo las variaciones prevalentes dentro de estos grupos, sino también los trastornos fenotípico-funcionales asociados a las mismas.

Es interesante destacar que observaciones casuales realizadas en frotis de sangre periférica de diversas poblaciones ecuatorianas han identificado una elevada prevalencia de plaquetas gigantes (datos no publicados). Estas observaciones, asociadas a la literatura científica, cuyo común denominador es la elevada prevalencia de mutaciones del gen ACTN1, así como la ausencia de estudios de tipo genético-funcional relacionados a este gen en la población ecuatoriana, caracterizada por una amplia variación ancestral, ha llevado a evidenciar, a través de este trabajo de revisión bibliográfica la importancia morfológica y funcional que las variantes de este gen producen, y cuáles son las variantes prevalentes en cada grupo poblacional estudiado.

Este trabajo tiene una serie de puntos cuya relevancia radica no solo en la identificación de las mutaciones de interés que resultan en alteraciones fenotípicas plaquetarias, sino en la complementariedad de los estudios genético-funcionales que caracterizan los trabajos seleccionados, donde se puede observar con claridad el nuevo paradigma de la ciencia, donde la bioquímica trasciende el espacio cerrado del laboratorio para interactuar de manera directa con la clínica y la farmacología. Por esta razón se ha encontrado que los artículos científicos seleccionados tienen un punto en común en los tipos de análisis genéticos y moleculares realizados, y convergente en las técnicas utilizadas para extrapolar estos resultados a la fisiopatología del paciente

Luego de la recolección de información en base a artículos sobre la temática planteada en la revisión bibliográfica se evalúan las diferentes metodologías utilizadas para la detección del gen ACTN1, las variantes, la morfología, cantidad y funcionalidad plaquetaria, así como las repercusiones clínicas que estas alteraciones conllevan. De esta forma se busca relacionar los resultados obtenidos entre los diferentes estudios para obtener información relevante que permita realizar investigaciones futuras dentro de la población ecuatoriana.

4.1. Población

Al realizar el análisis comparativo de los parámetros utilizados para la selección de la población en base a la cual las referencias basaron sus estudios genéticos y fenotípicos plaquetarios, se observa que entre ellos no se encuentran la edad ni el sexo, sino la ascendencia de los participantes asociada a la presencia de macroplaquetas y/o a la tendencia a sangrados, identificados por el sistema de puntuación de hemorragia de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Pannu et al., 2017), cuya etiología no entra dentro de diagnósticos conocidos.

Es así como se desarrolló el estudio de Guéguen et al (2013) que se caracteriza por partir de un solo probando, una mujer de origen francés con un diagnóstico errado de trombocitopenia autoinume, que conllevó a la extirpación del bazo sin producir mejora en el conteo plaquetario. En base a esta paciente, el grupo de investigadores construyó un pedigrí de seis generaciones, correspondiente a 56 individuos en base a los cuales se establecieron estudios fenotípicos y de funcionalidad plaquetaria *in vitro*, cuya finalidad

fue la de establecer la presencia de las mutaciones específicas del gen ACTN1 que se repetían en cada generación de la familia estudiada, si estas se relacionan con las alteraciones fenotípicas y funcionales observadas en esta familia, así como mecanismos moleculares a través de los cuales estas mutaciones específicas dan lugar a alteraciones fenotípicas y funcionales plaquetarias. Este estudio, por lo tanto, se convierte en la base de las investigaciones posteriores y que presentan un particular interés para este trabajo, ya que una vez establecida la relación ACTN1/tamaño-número-función plaquetaria, se puede hacer un mapa de las mutaciones de este gen que producen cambios en estas características físicas y funcionales y cuáles mutaciones son prevalentes en cada grupo étnico (Guéguen et al., 2013).

A diferencia del estudio anterior, Kunishima et al (2013), iniciaron su trabajo mediante la selección de un cribado de mutaciones genéticas no identificadas, asociadas a la presencia de macroplaquetas en 13 familias japonesas que presentaban esta anomalía. De los individuos estudiados, el 46% (31 pacientes) presentó mutaciones del gen ACTN1, ingresando a formar parte de una investigación con objetivos similares a los del trabajo del grupo de Guéguen et al (2013), solo que en este caso el mapeo de las variaciones se realizó en otra etnia (Kunishima et al., 2013).

Siguiendo este modelo, Bottega et al en el año 2015, investigaron mutaciones prevalentes del gen ACTN1 en 10 de 239 familias de ascendencia europea (italiana y británica) con TH de etiología desconocida. Este análisis genético permitió encontrar un total de 49 individuos pertenecientes a 7 familias no relacionadas entre sí pero con la misma línea ancestral, que eran portadoras de las mismas variantes de este gen. Esta selección preliminar permitió al grupo de investigadores realizar una serie de estudios orientados a determinar las consecuencias fenotípicas y funcionales de estas mutaciones (Bottega et al., 2015).

El trabajo de Bottega et al en el 2015 se completa con la publicación de Falsechini et al (2018) donde a partir de 130 probandos de origen europeo (italiano y finlandés), no emparentados entre sí con TH cuyos estudios para determinar el origen de esta discrasia sanguínea no habían producido ningún diagnóstico etiológico definitivo. Este patrón de selección se repite de forma similar en el estudio de Vincenot et al (2019), pues de 272 probandos franceses caracterizados por presentar TH se identificaron 15 variantes de ACTN1 raras monoalélicas, no sinónimas y probablemente patógenas en 20 casos índice de 20 familias no relacionadas. Dentro de las variantes encontradas, 4 de ellas, detectadas

en 9 familias ya fueron descritas por otros investigadores (Bottega et al., 2015; Guéguen et al., 2013; Kunishima et al., 2013), mientras que las 11 variantes restantes, consistentes básicamente en mutaciones puntuales, se encontraron en las familias restantes (familias 10-20), las cuales se constituyeron en el punto de partida posterior para el análisis de las características fenotípicas y funcionales de las plaquetas encontradas en estos pacientes (Bottega et al., 2015).

El trabajo de Schick et al (2016) requiere de una mención especial puesto que este es el resultado de un metaanálisis de 3 cohortes de replicación mediante el cual se utilizaron como participantes 16415 individuos pertenecientes a la comunidad Latina e Hispana de los Estados Unidos. Este estudio incluía los resultados obtenidos en este tipo de pacientes relacionados no solamente a las características fenotípicas de la comunidad Latina e Hispana (Chicago, Miami, el Bronx y San Diego), sino también la investigación del genoma completo donde se introdujo, para su comparación, alrededor de 15000 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) pertenecientes a mexicanos, colombianos y puertorriqueños. Debido a la elevada heterogeneidad genética de los hispanoamericanos, para caracterizar de manera eficiente y segura el rol de los factores genéticos que contribuyen a las alteraciones en la estructura y tamaño de los trombocitos, se realizaron estudios de asociación del genoma completo (GWAS) en 12491 individuos seleccionados del universo original. El elevado número de la muestra pudo recoger amplia evidencia científicamente relevante sobre la presencia de macrotrombocitopenia, asociada a mutaciones específicas del gen ACTN1, características de poblaciones hispanoamericanas, y abriendo paso a nuevas investigaciones en este campo orientados a individuos pertenecientes a poblaciones hispanas con linajes particulares según el lugar de proveniencia.

La selección de los probandos y la posterior incorporación de las familias en todos los trabajos científicos en los que se basa esta revisión, permitió constatar que, para todas las poblaciones estudiadas, las mutaciones encontradas en el gen ACTN1 fueron heredadas de manera autosómica dominante, siendo el análisis de este particular realizado a través de extensos estudios genealógicos y expresados en tablas de pedigrí (Bottega et al., 2015; Faleschini et al., 2018; Guéguen et al., 2013; Kunishima et al., 2013; Vincenot et al., 2019). Este sistema de selección de la muestra es característico de estudios genéticos donde se observa un trastorno de carácter hereditario (Guéguen et al., 2013).

4.2. Screening Genotipo

El cribado genotípico de las poblaciones estudiadas en los diferentes trabajos en los que se basa esta revisión utilizó una serie de técnicas genético-moleculares en función del tipo de información a disposición y de la accesibilidad al pedigrí de los probandos.

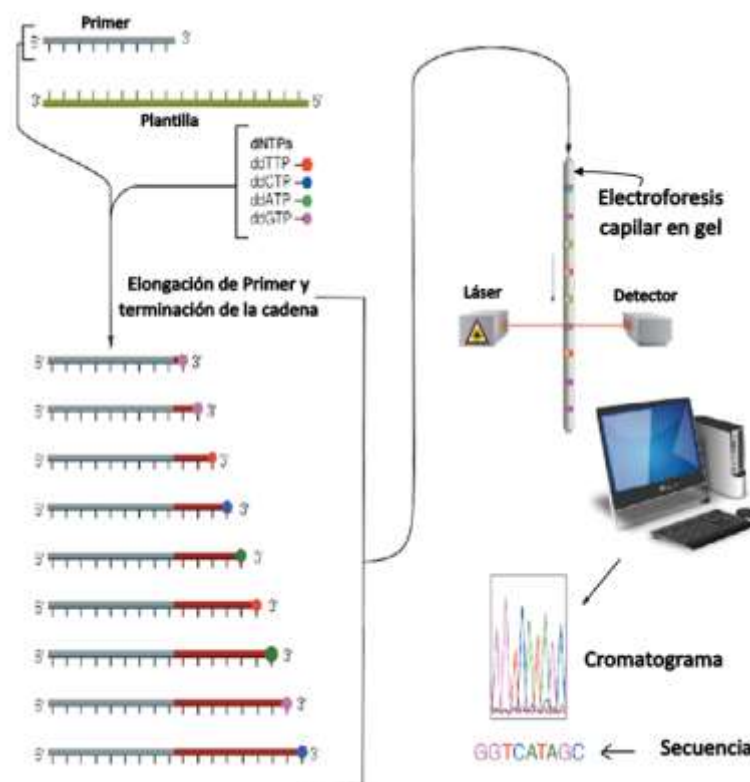
Tomando como punto de partida el trabajo de Guéguen et al en el 2013, cuyo objetivo era identificar la mutación causal de una macrotrombocitopenia familiar autosómica dominante presente en un paciente de origen francés, se observa que el método utilizado es el de mapeo de ligamento genético y mapeo cromosómico fino, utilizando como marcadores genéticos una serie de más de 400 microsatélites seleccionados de bases de datos públicas. Este método permitió a los investigadores identificar en el ACTN1 el gen relacionado con la alteración del tamaño plaquetario observado en el paciente para su posterior secuenciación. De esta manera, el análisis preliminar de selección del gen de interés, se completa con la secuenciación genética de alto rendimiento, que permitieron identificar las mutaciones genéticas que dan lugar al incremento del tamaño plaquetario encontrado en el probando y sus ancestros.

El mismo año Kunishima et al (2013), publican los resultados de estudios donde presentan evidencia científicamente relevante indicando que determinadas mutaciones del gen ACTN1 dan como resultado MTCC. Para cumplir con este objetivo el grupo realizó la secuenciación del exoma completo (WES), puesto que son los exones los encargados de codificar las proteínas (Ecker et al., 2012; ENCODE Project Consortium, 2004), y que la mayoría de las variantes causantes de enfermedades alteran la secuencia de codificación (Bamshad et al., 2011; Botstein y Risch, 2003; Majewski et al., 2011). Las mutaciones encontradas gracias al WES fueron subsecuentemente examinadas mediante una secuenciación de alto rendimiento de productos de la PCR a partir de ADN combinado que fueron posteriormente validadas por la secuenciación Sanger. Este método de cribaje permite obtener un compromiso adecuado entre costo, cobertura del genoma, rendimiento, diagnóstico e interpretabilidad, asegurando respuestas con elevados índices de confiabilidad, requisito indispensable puesto que es la base para futuras pruebas funcionales y su extrapolación clínica.

Es interesante destacar que tanto el estudio de Bottega et al en el 2015 como el de Faleschini del 2018 utilizan básicamente las mismas técnicas de *screening* genético

descritas para el trabajo de Kunishima et al del 2013. No hay que olvidar Bottega y Faleschini pertenecen al mismo grupo de investigación (Investigador principal Anna Savoia, Department of Medical Sciences, IRCCS Burlo Garofolo, University of Trieste, Italy) y que sus trabajos son, en realidad complementarios. Sin embargo en este caso el grupo de investigación se apoya tanto en la WES como en la “Secuenciación de Nueva Generación” (NGS), confirmando las variantes encontradas a través de la secuenciación Sanger. Cabe destacar que Faleschini et al (2018) luego de analizar 130 probandos por NGS con un panel de 22 genes previamente reportados de TH, se pudo identificar la presencia de variantes del gen ACTN1 en 49 individuos y confirmarlas mediante una secuenciación Sanger, llegando así a conocer 3 nuevas mutaciones sin sentido en 18 personas (Figura 4).

Figura 4. . Diagrama de procedimiento de Secuenciación Sanger.

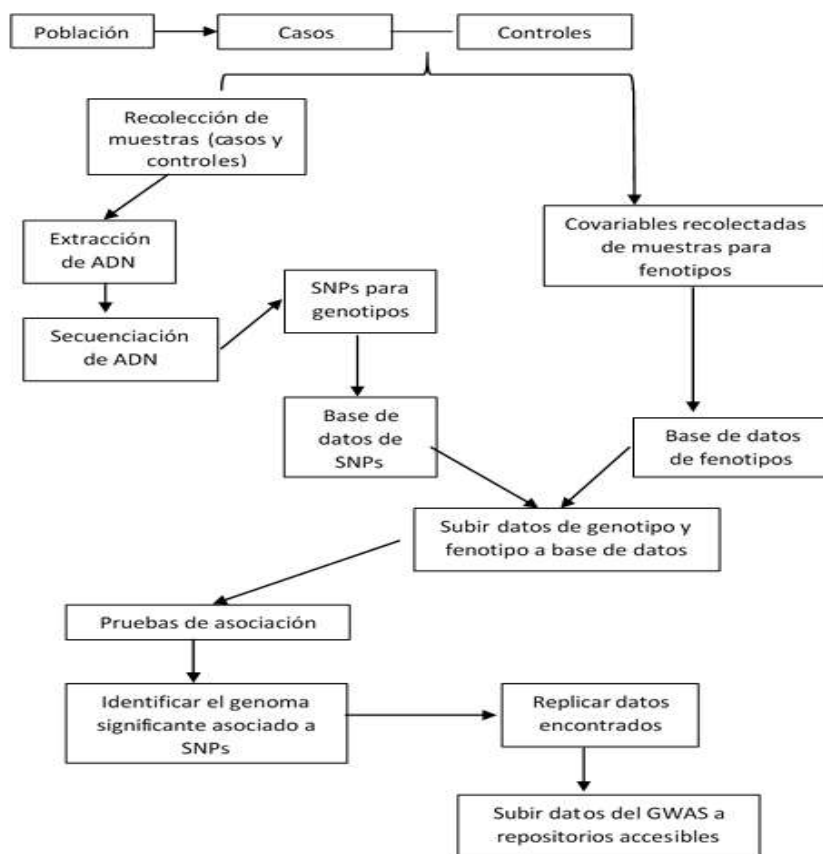


Nota. Adaptado de *File:Sanger-sequencing.svg* por Estevezj, 2012, Wikimedia Commons (<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sanger-sequencing.svg>). CC BY-SA 3.0

Se debe recordar que la NGS es un tipo de análisis similar a Sanger, a menor costo y tiempo para la secuenciación de ADN y ARN, así como el uso de muestras más pequeñas (Chennagiri et al., 2016). Es interesante destacar que los resultados de esta técnica de última generación requieren la comprobación a través de la secuenciación Sanger la cual, a pesar de ser una técnica de primera generación, retiene un lugar esencial en genómica clínica, por ser un método ortogonal (ensayo realizado después del análisis inicial) para confirmar las variantes verdaderamente positivas, de las variantes falsas positivas que pueden obtenerse en la secuenciación inicial (Arboleda y Xian, 2019).

La identificación de las mutaciones genéticas asociadas al gen ACTN1 en hispanoamericanos realizado por Schick et al también se basa en el mismo principio. En este caso, sin embargo, los investigadores completan este cribado a través de GWAS (Schick et al., 2016). Los GWAS son un método imparcial para determinar asociaciones entre genotipos y fenotipos. Esta técnica se caracteriza por su capacidad de escanear el genoma, aumentando de manera efectiva el poder de detectar SNP, ideal para poblaciones caracterizadas por presentar una amplia gama de variaciones genéticas (admixture), como las hispanoamericanas (Figura 5). Para aumentar de manera efectiva la detección de variantes originales del gen ACTN1 en la población analizada en estudios de asociación de todo el genoma, el grupo realizó un análisis complementario utilizando SNPs previamente identificados y obtenidos del panel de referencia *100 Genomes Project phase 1* (llamado imputación del GWA) (Howie et al., 2011). De esta manera Schick et., (2016) realizaron un trabajo de alta calidad, precisión y confiabilidad siendo un buen punto de partida para futuros estudios en la misma línea investigativa.

Figura 5. Diagrama de procedimiento de GWAS.



Nota. Elaborado por Alejandra López y Hugo Ruiz. Adaptado de Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress Tolerance in Plants (p. 140), por S, Challa y N, Neelapu, 2018, Academic Press.

La identificación de nuevas variantes de ACTN1 del trabajo de Vincenot et al (2019) utiliza técnicas similares a las descritas anteriormente, mediante el análisis de la secuencia de ADN dirigida y posterior secuenciación del panel de genes del ACTN1, descartaron la presencia de otras variantes patológicas diferentes al gen ACTN1 mediante un panel de 50 genes y de esta forma obtuvieron 175 probandos con trombocitopenia de origen desconocido y 28 casos con 15 variantes raras monoalélicas no sinónimas del gen ACTN1.

Se observa que las técnicas utilizadas en los artículos se basan en la extracción de ADN para evidenciar la presencia o ausencia de variantes en el gen ACTN1. Estas

metodologías pueden ser diferentes pero el resultado será el mismo, pudiendo así usar un GWAS o NGS para identificar la presencia de este gen y la secuenciación Sanger para confirmar las variantes del ACTN1 que se presenten en los probandos.

4.3. Caracterización de las Variantes de ACTN1

Hasta aquí se ha analizado la metodología utilizada por todos y cada uno de los grupos de trabajo en cuyas publicaciones se basa esta revisión. Se ha resaltado la importancia de un adecuado análisis de pedigrí, asociado a un cribado genético exhaustivo, da lugar a la identificación de los individuos cuyo material genético puede dar información fundamental con relación a la morfología, número y función de las plaquetas.

Es interesante observar que los estudios citados mostraron la presencia de algunas variantes cuya expresión muestra una distribución de tipo étnico, mientras que otras variantes fueron encontradas en más de un estudio (Tabla 4). Sin embargo, hablando de manera general, las variantes de ACTN1 caracterizadas por una presentarse en una línea ancestral común, se asociaban a la presencia de macrotrombocitopenia.

Al observar las variantes identificadas en los estudios analizados, se observó que 5 grupos reportaron 5 variantes en común. Bottega et al (2015) identificaron 10 variantes, siendo 2 (p.Arg738Trp, p.Arg752Gln) reconocidas en la base de datos SNPs, de igual forma Faleschini et al (2018) describieron que la variante p.Arg752Gln ya había sido asociada a la trombocitopenia relacionada al gen ACTN1 (ACTN1-RT) junto con la variante p.Arg738Trp analizada por Vincenot et al (2019) que se ubicaba dentro del dominio Rod. Por otro lado estas dos variantes fueron investigadas previamente por Kunishima et al (2013) y las asociaron directamente a la presencia de macrocitos y anisocitos plaquetaria ya que eran mutaciones significantes del gen ACTN1. Guéguen et al (2013) pudieron identificar que este gen se expresaba en sangre periférica y médula ósea y se asociaba directamente con una macrotrombocitopenia por su rol funcional en la formación del citoesqueleto plaquetario.

Las variantes se pueden ubicar en los distintos dominios, Vincenot et al (2019) describieron que aquellas que se encuentran en el dominio AB causan un aumento de las

uniones de los filamentos de actina y las que se encuentran en el dominio CaM inducen una desorganización de la red de actina en varios grados. Por el contrario Kunishima et al (2013) identificaron la variante p.Arg197Trp en un paciente con conteaje y morfología plaquetaria normal y Bottega et al (2015) encontraron la variante p.Asp666Val en un paciente sin TH, por lo que se considera que estas variantes no se encontraban en el dominio CaM, concordando con el estudio de Vincenot et al (2019) que señala que las mutaciones que se localizan en este dominio son las causantes de la TH. Vincenot et al (2019) describieron una variante dentro del dominio Rod, p.Leu395Gln, que de igual manera que las variantes que se encuentran en el dominio CaM se relacionan con la presencia de filamentos de actina pequeños, gruesos y desorganizados. La variante p.Arg46Gln estudiada por Guéguen et al (2013) se encontró como una sustitución de una sola base en el exón 2 del gen ACTN1 y Bottega et al (2015) indicaron que esta variante tiene la misma sustitución de aminoácidos que la variante p.Arg46Trp. Las sustituciones de aminoácidos hace que se generen nuevas variantes, es por esto que Faleschini et al (2016) encontraron 3 variantes nuevas (p.Trp128Cys, p.Pro233Leu y p.Thr737Ser) que según el puntaje CADD (*Combined Annotation Dependent Depletion*) presentaron un alto impacto en la función de las proteínas. Vincenot et al (2019) encontraron sustituciones primarias de aminoácidos en los dominios SR que llevó al descubrimiento de 11 variantes (p.Thr257Arg, p.Lys324Glu, p.Val328Met, p.Gln329Arg, p.Lys398Thr, p.Ala432Val, p.Arg450Cys, p.Arg450His, p.His622Tyr, p.Leu395Gln y p.Met748Lys), las cuales fueron analizadas con un algoritmo de predicción *in silico* para estimar la patogenicidad y evidenciaron que pueden generar una dimerización impar causando inestabilidad de las proteínas. Este algoritmo de predicción *in silico* es importante ya que permite identificar los sitios residuales que pueden ser responsables de una diferencia dinámica entre moléculas dentro de una estructura (Chakravarty et al., 2015).

Cabe mencionar que en el estudio de Schick et al (2016) encontraron una sola variante, rs117672662, que presentó una alta concordancia entre el número de alelos de ancestros indoamericanos en el locus del ACTN1 y el genotipo de la variante. Las muestras de ancestros indoamericanos (colombianos, mexicanos, peruanos, puertorriqueños) con esta variante presentaron una disminución en el conteaje plaquetario que al compararse con la población asiática, europea y africana eran menos comunes. Este tipo de estudio permitió llegar con elevada precisión a una variante que corresponde a un SNP, identificándola como responsable de las alteraciones fenotípicas plaquetarias.

Las variantes p.Arg738Trp, p.Arg752Gln, p.Arg46Trp fueron identificadas en todos los trabajos analizados, independientemente de la etnia, con excepción del estudio de Schick et al cuyo grupo de estudio estaba constituido por individuos de ascendencia indoamericana. Igualmente, el grupo de Kunishima et al, cuya población de estudio estaba formada por personas de ascendencia japonesa, fue el único que presentó la mutación p.Arg197Trp del gen ACTN1. Por otro lado en el estudio de Faleschini et al y Vincenot et al que analizaron una población francesa encontraron en común la variante p.Val105Ile. La variante p.Arg46Trp que se encuentra en común en los estudios de Bottega et al, Faleschini et al y Vincenot et al, podría indicar que la cercanía de las poblaciones francesas e italianas pueden repercutir en la presencia de variantes en los probandos que no se relacionan familiarmente, generando macrotrombocitopenia. Sin embargo hay variantes que se presentan en poblaciones distintas, como es la variante p.Arg738Trp que es descrita por Kunishima et al (2013) en una personas japonesas y Vincenot et al (2019) en probandos franceses, pero en ambos casos hay una repercusión en el fenotipo plaquetario.

En resumen, los estudios evidenciaron que las variantes se pueden encontrar en distintos dominios del gen ACTN1 y, como lo mencionan los autores, estas traen repercusiones en la organización y formación de los filamentos de actina (Tabla 4), causando macrotrombocitopenia y que el tipo de variante del gen ACTN1 responsable de este cambio depende de la ascendencia del individuo que expresa esta irregularidad.

Tabla 4. *Caracterización de las variantes del gen ACTN1.*

Autores / año de publicación	Título Artículo	Gen	Variantes	Características
(Guéguen et al., 2013)	A Missense Mutation in the Alpha-Actinin 1 Gene (ACTN1) Is the Cause of Autosomal Dominant Macrothrombocytopenia in a Large French Family	ACTN1	p.Arg46Gln	Variante se encuentra como una sustitución de una sola base en el exón 2 del gen ACTN1. Mutación sin sentido, se encontró en 26 sujetos con trombocitopenia y en dos sanos en estado heterocigoto.

(Kunishima et al., 2013)	ACTN1 Mutations Cause Congenital Macrothrombocytopenia	ACTN1	p.Val105Ile, p.Gln32Lys, p.Arg752Gln, p.Arg46Gln, p.Arg738Trp, p.Glu225Lys y p.Arg197Trp	<p>En pacientes control se encontró la variante p.Arg197Trp con conteaje y morfología plaquetaria normal.</p> <p>Las mutaciones se encuentran en mayoría en el dominio AB y CaM, con efectos negativos dominantes que generan desorganización en filamentos de actina</p> <p>p.Arg738Trp, p.Arg752Gln variantes previamente conocidas.</p>
(Bottega et al., 2015)	ACTN1-related thrombocytopenia: identification of novel families for phenotypic characterization	ACTN1	p.Asp22Asn, p.Glu225Lys, p.Gly251Arg, p.Thr737Asn, p.Gly764Ser, p.Glu769Lys, p.Arg738Trp, p.Arg752Gln, p.Arg46Trp, p.Asp666Val	<p>La variante p.Arg46Trp se encontró en 2 familias y afectaba al mismo sitio residual conocido por la mutación p.Arg46Gln.</p> <p>La variante p.Asp666Val no se asocia a ser causante de la enfermedad.</p>
(Schick et al., 2016)	Genome-wide Association Study of Platelet Count Identifies Ancestry-Specific Loci in Hispanic/Latino Americans	ACTN1	rs117672662	Variante se asocia con una disminución de plaquetas en muestras de ancestros indoamericanos, menos común en europeos, asiáticos y africanos
(Faleschini et al., 2018)	ACTN1 mutations lead to a benign form of platelet macrocytosis not always associated with thrombocytopenia	ACTN1	p.Arg46Trp, p.Val105Ile, p.Glu225Lys, p.Arg752Gln, p.Trp128Cys, p.Pro233Leu, p.Thr373Ser	Variantes p.Trp128Cys y p.Pro233Leu rol patogénico confirmado en estudios in vitro.
(Vincenot et al., 2019)	Novel ACTN1 variants in cases of thrombocytopenia	ACTN1	p.Arg46Trp, p.Arg46Gln, p.Val105Ile y p.Arg738Trp, p.Thr257Arg, p.Lys324Glu, p.Val328Met, p.Gln329Arg, p.Lys398Thr, p.Ala432Val, p.Arg450Cys, p.Arg450His, p.His622Tyr, p.Met748Lys y p.Leu395Gln	<p>Variantes monoalélicas</p> <p>Las variantes del dominio AB y CaM inducen a la desorganización de red de actina, 4 variantes se asocian al dominio rod y se asocia a la presencia de filamentos de actina pequeños, gruesos y desorganizados</p>

4.4. Fenotipo Plaquetario

El fenotipo analizado en todos los estudios involucró principalmente el número de plaquetas y el tamaño plaquetario, que los estudiaron mediante un analizador hematológico automático acompañado de la examinación de un frotis de sangre periférica, y en algunos casos, por razones técnicas, el uso de la cámara de Neubauer para la confirmación del conteo plaquetario (Faleschini et al., 2018). Las características morfológicas fueron reportadas como conteo plaquetario medio (CPM) por litro, VPM y diámetro plaquetario (DP).

Debido al método de selección de las poblaciones de este estudio, se observó que el número de plaquetas estaba por debajo del intervalo de referencia (IR). Sin embargo, la disminución observada era compatible con una trombocitopenia leve en la mayoría de los casos. Como por ejemplo, los probandos de Bottega et al (2015) presentaron un CPM de $103 \pm 26 \times 10^9 /L$ (IR: $150-400 \times 10^9 /L$); mientras que los pacientes estudiados por Faleschini et al (2018) con valores entre $70-150 \times 10^9 /L$ (IR: $150-450 \times 10^9 /L$), Vincenot et al (2019) con una media de plaquetas de $88 \times 10^9 /L$ (IR: $155-394 \times 10^9 /L$), Guéguen et al (2013) reportando el valor medio de plaquetas de $97,54 \pm 25,78 \times 10^9 /L$ (IR: $237 \pm 47,52 \times 10^9 /L$) y Kunishima et al (2013) cuya media de plaquetas fue de $98.1 \pm 23.2 \times 10^9 /L$. Solamente el grupo de Bottega et al (2015) reportó un caso de trombocitopenia grave donde un probando presentó un conteo plaquetario inferior a $50 \times 10^9 /L$, mientras que Kunishima et al (2013) reportaron un probando con la variante p.Arg197Trp, pero con un conteo normal de plaquetas.

En lo que se refiere al tamaño, la presencia de macrocitosis plaquetaria fue una característica observada en todos los estudios seleccionados. Así, de los 31 miembros analizados por Bottega et al (2015) que presentaban las variantes genéticas (p.Asp22Asn, p.Arg46Trp, p.Glu225Lys, p.Gly251Arg, p.Thr737Asn, p.Arg738Trp, p.Arg752Gln, p.Gly764Ser y p.Glu769Lys) del ACTN1 obtuvieron resultados del VPM que oscilaban entre $12,6 \pm 1,7$ fL (IR: $10,1 \pm 1,4$ fL). Este mismo patrón se reportó en la población de Faleschini et al (2018) con valores entre $8,55-16,5$ fL (IR: $9,7-10,4$ fL) en los probandos con las variantes (p.Arg46Trp, p.Val105Ile, p.Trp128Cys, p.Glu225Lys, p.Prp233Leu, p.Thr737Ser, p.Thr737Asn y p.Arg752Gln) del ACTN1 así como el grupo de Vincenot et al (2019), quienes apoyaron su análisis mediante un software de análisis

de imagen asistido (Calopix) para obtener el DP, encontrando plaquetas con un diámetro superior a 2,9 μm (IR: 1,9 – 2,9 μm) asociadas a las variantes p.Arg46Trp, p.Arg46Gln, p.Val105Ile, p.Arg738Trp, p.Gln329Arg, p.Arg450Cys, p.His622Tyr y p.Met748Lys. Utilizando análisis similares Kunishima et al (2013) reportaron valores de DP medio de $3.4 \pm 0.5 \mu\text{m}$ (IR: $2.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$) asociados a las variantes p.Val105Ile, p.Gln32Lys, p.Arg752Gln, p.Arg46Gln, p.Arg738Trp y p.Glu225Lys, Bottega et al (2015) un DP medio de $3.2 \pm 0,5 \mu\text{m}$, Faleschini et al (2018) valores medios de DP de 2,80-4,27 μm y Guéguen et al (2013) un valor aproximado a más de 4 μm de las plaquetas siendo un 60% más grandes que las normales, lo que indica en todos los casos una macrocitos plaquetaria.

A diferencia de los otros estudios, Schick et al (2016) obtuvieron sus valores de contejo plaquetario y VPM en base al metaanálisis en tres cohortes de replicación realizado mediante el método ponderado por varianza inversa (METAL). De esta forma los investigadores evidenciaron los resultados en forma de trombocitopenia y macrocitos plaquetaria, cuyos valores son similares a los observados en las investigaciones anteriormente reportadas, ya que los valores de plaquetas fueron inferiores a $150 \times 10^9/\text{L}$ (IR: 150 – $400 \times 10^9/\text{L}$) y un VPM superior a 10 fL (IR: 7,5 – 10 fL).

Cabe destacar que no todas las mutaciones del ACTN1 produjeron macrotrombocitopenia. Mutaciones tales como p.Arg197Trp y p.Asp666Val, identificadas en los estudios de Kunishima et al (2013) y Bottega et al (2015) respectivamente, no produjeron cambios en el tamaño y el contejo plaquetario, ya que sus valores se encontraban dentro de los rangos normales.

Tomando estos resultados en conjunto, se puede concluir que las poblaciones analizadas en todos los estudios se caracterizaron por presentar un incremento significativo del tamaño plaquetario, acompañado de una disminución de moderada a leve en el número de estas células. Estas variaciones fenotípicas plaquetarias se reflejaron principalmente en los pacientes que presentaban mutaciones específicas del gen ACTN1. Hay que recordar que estos estudios tienen por objetivo el poder resaltar la arquitectura genética de las poblaciones con ancestros comunes que determinan la dominancia de ciertos *loci* que, en este caso, son aquellos que determinan las características fenotípicas plaquetarias. Por lo tanto, la identificación de mutaciones del gen ACTN1, que es el responsable de dar estas características a los trombocitos, así como el hallazgo que estas

mutaciones están directamente relacionadas con el perfil étnico del individuo, proporciona una herramienta de soporte para el diagnóstico de las TH.

4.5. Estudios Funcionales

4.5.1. Agregometría y citometría de flujo

Las pruebas agregación plaquetaria se utilizan para medir la funcionalidad plaquetaria *in vitro*, sin embargo, no todos los autores describen este parámetro dentro de sus estudios. Esta técnica se basa en el principio que las plaquetas que circulan libremente en el torrente sanguíneo, son capaces de ser activados por el contacto con el colágeno, ADP, ristocetina entre otros, lo cual sucede cuando ha existido una lesión en el endotelio (Arismendy et al., 2012). La activación plaquetaria induce el cambio de forma de las plaquetas que se agregan y forman el tapón plaquetario, inhibiendo el sangrado.

La prueba *in vitro* utiliza plasma rico en plaquetas o sangre total del paciente, al cual se estimula a través de una dosis conocida de agregante plaquetario que puede ser Tromboxano A₂, ADP o ristocetina. Cada una de estas sustancias se caracteriza por activar diferentes vías de transmisión de la señal intracelular, cuya finalidad es la de inducir agregación. Cualquier alteración en una de estas vías, va a producir una deficiencia de la respuesta plaquetaria (Arismendy et al., 2012). Este es un método utilizado en el estudio de pacientes con trastornos de coagulación de difícil diagnóstico y seguimiento, y un método de estudio fundamental en la investigación de la función plaquetaria.

Bottega et al (2015), Faleschini et al (2018) y Guéguen et al (2013) evaluaron la capacidad de agregación de las plaquetas midiendo su respuesta frente a agonistas como son el ADP, el colágeno y la ristocetina en los pacientes que presentaban las variantes genéticas del gen ACTN1. Cada uno de estos agonistas estimulan vías específicas, así por ejemplo, el ADP, que al actuar sobre sus receptores P2Y(1) y P2Y(12) activan las vías de las proteínas G α_q y G α_{12} respectivamente, da lugar a la activación de las integrinas, cambio de forma, agregación y secreción plaquetaria (Hechler y Gachet, 2011). Kunishima et al (2013) estudiaron la respuesta de agregación de las plaquetas únicamente frente a ADP.

En todos estos estudios los pacientes mostraron adecuados porcentajes de agregación plaquetaria, indicando que la macrocitosis plaquetaria acompañada de una leve trombocitopenia en estos pacientes no produciría un impacto significativo en la capacidad de las plaquetas de cumplir sus funciones de manera adecuada, indicando que el proceso de hemostasia primaria se encuentra normal o que en algunos pacientes puede presentar una leve deficiencia que no influye de manera significativa en el estado de salud del individuo.

El estudio de la función de las plaquetas a través de la citometría de flujo permite identificar la capacidad de función de las plaquetas independientemente del número de trombocitos, por lo que, se usa principalmente en pacientes con trombocitopenia. Esta técnica es ideal para observar defectos en la expresión de glicoproteínas o en la membrana plaquetaria puede reducir la función de las plaquetas (Rubak et al., 2016). También es importante evaluar la expresión de glicoproteínas en la membrana plaquetaria ya que estas cumplen un rol fundamental dentro la adhesión plaquetaria cuando el endotelio se encuentra lesionado. Utilizando esta técnica, Bottega et al (2015) evaluaron las glicoproteínas GPIb α , GPIX y GPIIb/IIIa, Faleschini et al (2018) las glicoproteínas GPIb/IX/V y GPIIb/IIIa, y Kunishima et al (2013) las glicoproteínas GPIb/IX y GPIIb/IIIa.

De los resultados obtenidos, es interesante observar que Bottega et al (2015), Faleschini et al (2018) y Kunishima et al (2013), encontraron un incremento en la expresión de las glicoproteínas en las plaquetas de las poblaciones que presentaban mutaciones del gen ACTN1, mientras que el resto de autores reportaron respuestas normales o ligeramente aumentadas. Según Bottega et al (2015) y Kunishima et al (2013), estos hallazgos son causados por el aumento del tamaño plaquetario, por lo que se espera una expresión de glicoproteínas aumentada, lo que compensaría la trombocitopenia manteniendo así una adecuada función hemostática en estos pacientes. De allí que el hallazgo común de las poblaciones estudiadas, caracterizadas por la presencia de mutaciones del gen ACTN1, presenten una funcionalidad altamente conservada a pesar de los cambios morfológicos.

Es importante poder resaltar que en dos pruebas de los grupos, objeto de esta revisión, reportaron que no existe una alteración en la agregación y adhesión plaquetaria, por lo que se puede decir que, al menos en las poblaciones estudiadas, las variantes del gen ACTN1 no genera alteraciones en la función plaquetaria.

4.5.2. Inmunofluorescencia

Como se ha acentuado a lo largo de la presente revisión, las alteraciones en el tamaño y el número plaquetario se encuentran directamente relacionadas a mutaciones del gen ACTN1. Con el objetivo de establecer una relación entre estos factores, se realizaron una serie de estudios *in vitro*, mediante el uso de cultivos celulares (Tabla 4).

El grupo de Guéguen et al fue el que realizó el trabajo más completo, basado en la realización del mapa genético con la sangre periférica de los probandos, y trabajaron con *software* específicos para identificar los genes candidatos a producir las alteraciones fenotípicas plaquetarias, analizando una serie de genes conocidos por su relación con trombocitopenia, entre ellos y en primer lugar el ACTN1. Paralelamente, estos investigadores realizaron un cultivo de megacariocitos, que fueron evaluados por microscopía de transmisión de electrones en donde observaron una distribución heterogénea de gránulos gigantes junto con el citoplasma desorganizado con pocos componentes y una membrana con invaginaciones (Guéguen et al., 2013).

Con el objetivo de analizar los efectos de las mutaciones de ACTN1 en los trombocitos maduros, y puesto que las plaquetas son células que no poseen núcleo, para realizar estas observaciones no es posible trabajar con cultivos primarios de estas células, Guéguen et al (2013) aislaron el ADN del ACTN1 de las células HeLa, amplificaron la secuencia del gen ACTN1 que deseaban analizar, clonaron la secuencia en un plásmido por mutación de sitio dirigido con la variante p.Arg46Gln y transfectaron el vector en células COS-7. Gracias a esta técnica, Guéguen et al pudieron observar a través de inmunofluorescencia, una desorganización en la distribución en los filamentos de alfa actinina 1 y actina en el citoplasma celular debido a la presencia de esta mutación, comprobando así que existe una relación directa entre una mutación específica del gen ACTN1 y la desorganización del citoesqueleto dependiente de actina (Guéguen et al., 2013). Paralelamente, estos investigadores realizaron un cultivo de megacariocitos, que fueron evaluados por microscopía de transmisión de electrones en donde observaron una distribución heterogénea de gránulos gigantes junto con el citoplasma desorganizado con pocos componentes y una membrana con invaginaciones, demostrando que mutaciones específicas del gen ACTN1, a pesar de producir plaquetas grandes, no alteran la estructura de los gránulos que se encuentran en el citoplasma de los trombocitos (Guéguen et al., 2013).

Estos resultados fueron confirmados utilizando técnicas similares con mutaciones específicas según la población de los estudios de Kunishima, Faleschini y Vincenot, por ejemplo, no solo observaron que los filamento de actina dentro de los megacariocitos con variantes del gen ACTN1 presentaban una desorganización de los mismos, sino que la variante p.Arg197Trp que se encontró en un individuo control no presentaba esta anomalía. Bottega et al en el año 2015 encontró un resultado similar realizando la mutación de sitio dirigido en fibroblastos humanos (Bottega et al., 2015; Faleschini et al., 2018; Guéguen et al., 2013; Kunishima et al., 2013; Vincenot et al., 2019).

De igual forma Faleschini et al (2018) identificaron tres mutaciones nuevas (p.Trp128Cys, p.Pro233Leu y p.Thr737Ser) obtenidas por mutagénesis dirigida e identificaron que estas variantes no permiten la formación de una estructura organizada de filamentos de actina dentro de las células, causando la ruptura del citoesqueleto plaquetario. También en el estudio de Vincenot et al (2019) utilizaron estas células afectadas de forma transitoria con construcciones de variantes de ACTN1 o de tipo salvaje para examinar las fibras de actina y observaron una alteración en su distribución y una desorganización dentro de la estructura de la plaqueta.

La presencia de variantes del gen ACTN1 ha sido clasificada como la cuarta causa más común de macrotrombocitopenias, por lo que estudios que permitan establecer cuáles mutaciones del gen ACTN1 son características de la ascendencia genética de un individuo con macrotrombocitopenia, así como la identificación de las variantes específicas responsables de estos cambios, permitirán realizar un cribaje en este tipo de pacientes para llegar a un correcto diagnóstico con un importante ahorro de tiempo y dinero.

4.6. Manifestaciones Clínicas

Dentro de los estudios analizados, solo ciertos autores investigaron las manifestaciones clínicas que las poblaciones estudiadas presentaron, enfocándose básicamente en la presencia de sangrados. La evaluación de los sangrados en todos los casos fue realizada según la escala propuesta por la OMS (Tabla 5).

Tabla 5. *Clasificación de sangrados según OMS*

Grado	Característica
0	Ausencia de sangrado
1	Sangrado petequiral
2	Pérdida leve de sangre (clínicamente significativa)
3	Pérdida grave de sangre que requiere transfusión
4	Pérdida de sangre debilitante, hemorragia retiniana/cerebral (asociada con fatalidad)

Nota. Adaptado de *Safety and Efficacy of a Single Dose of Anti-D (WinRho®) in Severe Thrombocytopenia Secondary to Dengue Virus Infection* (p. 22), por Pannu, A et al 2017, Indian Journal of Critical Care Medicine.

Siguiendo los parámetros mencionados, [Bottega et al \(2015\)](#) encontraron que los individuos estudiados clasificaron entre 0 y 2, siendo un solo miembro de una familia quien presentó un sangrado de grado 2. Resultados similares se obtuvieron en el estudio de [Faleschini et al \(2018\)](#), quienes solo se encontraron grados de sangrado entre 0 y 1; y [Vincenot et al \(2019\)](#) que reportaron sangrados severos de grado 3 únicamente en dos pacientes, mientras que los demás pacientes solo presentaron sangrados clasificados entre los grados 0 y 2 según la OMS.

La manifestación clínica que se presentó con más frecuencia en los participantes de estos estudios seleccionados fue la epistaxis, que podía ser ocasional, como en los individuos analizados por los grupos de [Guéguen, Kunishima y Faleschini](#), o consistente como aquella identificada en dos individuos por [Vincenot et al en 2019 \(Faleschini et al., 2018; Guéguen et al., 2013; Kunishima et al., 2013; Vincenot et al., 2019\)](#). Además de la epistaxis, también se evidenciaron gingivorragias, hematomas y menorragias leves asociadas a una trombocitopenia moderada y pruebas de agregación y adhesión plaquetaria normal ([Bottega et al., 2015](#)), así como la tendencia a presentar moretones o

hematomas (Faleschini et al., 2018) y hemorragias subcutáneas o sangrados prolongados postquirúrgicos (Vincenot et al., 2019). Es importante resaltar que en el año 2013, el grupo de Guéguen et al realizaron el estudio clínico de las consecuencias de las variantes del ACTN1, y encontraron que estas no se encuentran asociadas a estados de agregación plaquetaria y trombocitopenia, excluyendo así en sus pacientes la presencia de anomalías neurológicas, ceguera, enfermedad renal y ocular en los sujetos con variantes del gen ACTN1 (Guéguen et al., 2013).

Tomando en conjunto estos resultados, se puede observar que todos los estudios analizados dentro de este trabajo, presentaron macrotrombocitopenia acompañada de manifestaciones clínicas mínimas. Esto es consistente con las investigaciones sobre el desarrollo de los megacariocitos en donde mencionan que la producción de plaquetas a partir de los megacariocitos, siguen las leyes de conservación de masas, por lo que las alteraciones en la estructura de las proteínas que dan forma al citoesqueleto, como es la alfa actina, van a generar plaquetas gigantes o grandes junto con un conteo disminuido de plaquetas maduras, dando lugar a individuos que, a pesar de presentar mutaciones del gen ACTN1, no presentan manifestaciones clínicas importantes, lo que explica los resultados obtenidos en los estudios analizados en esta revisión bibliográfica (Hartwig y Italiano, 2006; Thon y Italiano, 2012).

CONCLUSIONES

Las mutaciones del gen ACTN1 dentro de las poblaciones analizadas se heredaron de forma autosómica dominante, lo que se evidenció en estudios genealógicos y tablas de pedigrí, donde el origen étnico juega un rol fundamental.

Dentro de las variantes estudiadas por cada autor se puede evidenciar que existe una estrecha relación entre ciertas mutaciones del gen ACTN1 que causan alteraciones en el tamaño de las plaquetas debido a cambios de la estructura y función del citoesqueleto plaquetario, produciendo macrotrombocitopenia con función conservada.

Las técnicas moleculares para identificar la presencia de variantes del gen ACTN1 pueden ser distintas, como la secuenciación Sanger, W [] NGS proporcionan resultados confiables en el caso de poblaciones con menores variaciones ancestrales como las europeas o japonesas. Sin embargo, para poblaciones con una ascendencia altamente heterogénea, como el caso de los hisp: [] nericanos, es necesario utilizar mejores métodos de análisis genético como GWAS seguida de análisis estadísticos genéticos especializados.

La variante encontrada dentro de la población hispanoamericana, caracterizada con técnicas altamente sofisticadas y confiables, fue distinta a los demás probandos estudiados. Sin embargo, estos estudios fueron realizados sin considerar las características geográficas de los probandos y sus familias. Debido a la gran variación ancestral de las poblaciones latinoamericanas, nu [] estudios que se enfoquen en los habitantes del Ecuador ya que tienen una ascendencia heterogénea, lo cual se hace factible gracias a los grupos de investigación analizados en el presente trabajo. Esta nueva propuesta de análisis genético orientado al diagnóstico y tratamiento personalizado en hematología es un paso importante en la aplicación de la medicina del futuro.

BIBLIOGRAFÍA

- Alarcón Palacios, M., Ojeda Gómez, R. C. O., Ticse Huaricanha, I. L., y Cajachagua Hilario, K. (2015). *Análisis crítico de ensayos clínicos aleatorizados: Riesgo de sesgo*. 4, 5.
- Almomani, M. H., y Mangla, A. (2020). Bernard Soulier Syndrome. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557671/>
- Arboleda, V. A., y Xian, R. R. (2019). An Overview of DNA Analytical Methods. En W. H. Yong (Ed.), *Biobanking: Methods and Protocols* (pp. 385-402). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_31
- Arismendy, N. M. G., Gallo, G. E. E., y Maya, G. C. (2012). *Utilidad clínica de la agregometría plaquetaria*. 22.
- Balduini, C. L., Pecci, A., y Savoia, A. (2011). Recent advances in the understanding and management of MYH9-related inherited thrombocytopenias. *British Journal of Haematology*, 154(2), 161-174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08716.x>
- Balduini, C. L., y Savoia, A. (2012). Genetics of familial forms of thrombocytopenia. *Human Genetics*, 131(12), 1821-1832. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1215-x>
- Bamshad, M. J., Ng, S. B., Bigham, A. W., Tabor, H. K., Emond, M. J., Nickerson, D. A., y Shendure, J. (2011). Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nature Reviews. Genetics*, 12(11), 745-755. <https://doi.org/10.1038/nrg3031>
- Berndt, M. C., y Andrews, R. K. (2011). Bernard-Soulier syndrome. *Haematologica*, 96(3), 355-359. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.039883>
- Botstein, D., y Risch, N. (2003). Discovering genotypes underlying human phenotypes: Past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nature Genetics*, 33 Suppl, 228-237. <https://doi.org/10.1038/ng1090>
- Bottega, R., Marconi, C., Faleschini, M., Baj, G., Cagioni, C., Pecci, A., Pippucci, T., Ramenghi, U., Pardini, S., Ngu, L., Baronci, C., Kunishima, S., Balduini, C. L., Seri, M., Savoia, A., y Noris, P. (2015). ACTN1-related thrombocytopenia: Identification of novel families for phenotypic characterization. *Blood*, 125(5), 869-872. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-08-594531>

Chakravarty, D., Chakraborti, S., y Chakrabarti, P. (2015). Flexibility in the N-terminal actin-binding domain: Clues from in silico mutations and molecular dynamics. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 83(4), 696-710. <https://doi.org/10.1002/prot.24767>

Challa, S., y Neelapu, N. R. R. (2018). Chapter 9—Genome-Wide Association Studies (GWAS) for Abiotic Stress Tolerance in Plants. En S. H. Wani (Ed.), *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress Tolerance in Plants* (pp. 135-150). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813066-7.00009-7>

Chennagiri, N., White, E. J., Frieden, A., Lopez, E., Lieber, D. S., Nikiforov, A., Ross, T., Batorsky, R., Hansen, S., Lip, V., Luquette, L. J., Mauceli, E., Margulies, D., Milos, P. M., Napolitano, N., Nizzari, M. M., Yu, T., y Thompson, J. F. (2016). Orthogonal NGS for High Throughput Clinical Diagnostics. *Scientific Reports*, 6(1), 24650. <https://doi.org/10.1038/srep24650>

Ecker, J. R., Bickmore, W. A., Barroso, I., Pritchard, J. K., Gilad, Y., y Segal, E. (2012). ENCODE explained. *Nature*, 489(7414), 52-54. <https://doi.org/10.1038/489052a>

ENCODE Project Consortium. (2004). The ENCODE (ENCyclopedia Of DNA Elements) Project. *Science (New York, N.Y.)*, 306(5696), 636-640. <https://doi.org/10.1126/science.1105136>

Estevezj. (2012). *File:Sanger-sequencing.svg*. Own work. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sanger-sequencing.svg>

Faleschini, M., Melazzini, F., Marconi, C., Giangregorio, T., Pippucci, T., Cigalini, E., Pecci, A., Bottega, R., Ramenghi, U., Siitonen, T., Seri, M., Pastore, A., Savoia, A., y Noris, P. (2018). ACTN1 mutations lead to a benign form of platelet macrocytosis not always associated with thrombocytopenia. *British Journal of Haematology*, 183(2), 276-288. <https://doi.org/10.1111/bjh.15531>

Geil, J. (2020). *Bernard-Soulier Syndrome: Practice Essentials, Background, Pathophysiology and Etiology*. <https://emedicine.medscape.com/article/954877-overview#a1>

Ghosh, K., Bhattacharya, M., Chowdhury, R., Mishra, K., y Ghosh, M. (2018). Inherited Macrothrombocytopenia: Correlating Morphology, Epidemiology, Molecular Pathology

and Clinical Features. *Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion*, 34(3), 387-397. <https://doi.org/10.1007/s12288-018-0950-0>

Gremmel, T., Iii, A. L. F., y Michelson, A. D. (2016). Platelet Physiology. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 42(3), 191-204. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1564835>

Grimaldo-Gómez, F. A. (2017). *Fisiología de la hemostasia*. 40, 3.

Guéguen, P., Rouault, K., Chen, J.-M., Raguénès, O., Fichou, Y., Hardy, E., Gobin, E., Pan-petes, B., Kerbiriou, M., Trouvé, P., Marcorelles, P., Abgrall, J., Le Maréchal, C., y Férec, C. (2013). A Missense Mutation in the Alpha-Actinin 1 Gene (ACTN1) Is the Cause of Autosomal Dominant Macrothrombocytopenia in a Large French Family. *PLoS ONE*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074728>

Hartwig, J. H., y Italiano, J. E. (2006). Cytoskeletal mechanisms for platelet production. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 36(2), 99-103. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2005.12.007>

Hechler, B., y Gachet, C. (2011). P2 receptors and platelet function. *Purinergic Signalling*, 7(3), 293. <https://doi.org/10.1007/s11302-011-9247-6>

Holinstat, M. (2017). Normal platelet function. *Cancer metastasis reviews*, 36(2), 195-198. <https://doi.org/10.1007/s10555-017-9677-x>

Howie, B., Marchini, J., y Stephens, M. (2011). Genotype Imputation with Thousands of Genomes. *G3: Genes/Genomes/Genetics*, 1(6), 457-470. <https://doi.org/10.1534/g3.111.001198>

International Mouse Phenotyping Consortium. (2019). *Actn1 Mouse Gene Details / actinin, alpha 1. Mouse Phenotype*. <https://www.mousephenotype.org/data/genes/MGI:2137706#order>

Kunishima, S., Okuno, Y., Yoshida, K., Shiraishi, Y., Sanada, M., Muramatsu, H., Chiba, K., Tanaka, H., Miyazaki, K., Sakai, M., Ohtake, M., Kobayashi, R., Iguchi, A., Niimi, G., Otsu, M., Takahashi, Y., Miyano, S., Saito, H., Kojima, S., y Ogawa, S. (2013). ACTN1 Mutations Cause Congenital Macrothrombocytopenia. *American Journal of Human Genetics*, 92(3), 431-438. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.01.015>

Kunishima, S., y Saito, H. (2006). Congenital macrothrombocytopenias. *Blood Reviews*, 20(2), 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2005.08.001>

- Lara, J. (2019). *Alteraciones plaquetarias en pacientes con diabetes mellitus tipo uno y dos del Hospital General Docente de Calderón período enero – diciembre 2017*. [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17593/1/T-UCE-0014-CME-062.pdf>
- López-Farré, A., y Macaya, C. (2013). Plaqueta: Fisiología de la activación y la inhibición. *Revista Española de Cardiología*, 13, 2-7. [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(13\)70073-6](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(13)70073-6)
- Majewski, J., Schwartzenuber, J., Lalonde, E., Montpetit, A., y Jabado, N. (2011). What can exome sequencing do for you? *Journal of Medical Genetics*, 48(9), 580-589. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2011-100223>
- Medina-Lopez, C., Marin-Garcia, J. A., y Alfalla-Luque, R. (2010). Una propuesta metodológica para la realización de búsquedas sistemáticas de bibliografía (A methodological proposal for the systematic literature review). *WPOM-Working Papers on Operations Management*, 1(2), 13-30. <https://doi.org/10.4995/wpom.v1i2.786>
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D. G., y Group, T. P. (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLOS Medicine*, 6(7), e1000097. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>
- Murphy, A. C. H., y Young, P. W. (2015). The actinin family of actin cross-linking proteins – a genetic perspective. *Cell & Bioscience*, 5. <https://doi.org/10.1186/s13578-015-0029-7>
- Nurden, A. T., Freson, K., y Seligsohn, U. (2012). Inherited platelet disorders. *Haemophilia*, 18(s4), 154-160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2516.2012.02856.x>
- Oña, J. (2018). *Prevalencia de trombocitopenia gestacional en pacientes con edades gestacionales entre 14 y 38 semanas que acudieron a la Consulta Externa de Ginecología del Hospital General Docente de Calderón período marzo 2016-febrero 2017*. [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15661/1/T-UCE-0006-CME-009.pdf>
- Pannu, A. K., Bhalla, A., Singhal, M., Suri, V., Shafiq, N., y Varma, S. (2017). Safety and Efficacy of a Single Dose of Anti-D (WinRho®) in Severe Thrombocytopenia Secondary to Dengue Virus Infection. *Indian Journal of Critical Care Medicine : Peer-*

reviewed, *Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, 21(2), 80-84.
https://doi.org/10.4103/ijccm.IJCCM_386_16

Pereiro, M., Jiménez, J. L., y Sastre, J. L. (2017, junio 21). *Guía clínica de Trombopenia*.
Fisterra. <https://www.fisterra.com/guias-clinicas/trombopenia/>

Prasain, N., y Stevens, T. (2009). The actin cytoskeleton in endothelial cell phenotypes.
Microvascular research, 77(1), 53-63. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2008.09.012>

Rubak, P., Nissen, P. H., Kristensen, S. D., y Hvas, A.-M. (2016). Investigation of platelet
function and platelet disorders using flow cytometry. *Platelets*, 27(1), 66-74.
<https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1032919>

Schick, U. M., Jain, D., Hodonsky, C. J., Morrison, J. V., Davis, J. P., Brown, L., Sofer,
T., Conomos, M. P., Schurmann, C., McHugh, C. P., Nelson, S. C., Vadlamudi, S., Stilp,
A., Plantinga, A., Baier, L., Bien, S. A., Gogarten, S. M., Laurie, C. A., Taylor, K. D., ...
Reiner, A. P. (2016). Genome-wide Association Study of Platelet Count Identifies
Ancestry-Specific Loci in Hispanic/Latino Americans. *American Journal of Human
Genetics*, 98(2), 229-242. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.12.003>

Sjöblom, B., Salmazo, A., y Djinović-Carugo, K. (2008). α -Actinin structure and
regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(17), 2688.
<https://doi.org/10.1007/s00018-008-8080-8>

The Jackson Laboratory. (2020). *MPD: Mouse Phenome Database: Welcome*.
<https://phenome.jax.org/>

Thon, J. N., y Italiano, J. E., Jr. (2012). Does size matter in platelet production? *Blood*,
120(8), 1552-1561. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-04-408724>

Thon, J. N., Montalvo, A., Patel-Hett, S., Devine, M. T., Richardson, J. L., Ehrlicher, A.,
Larson, M. K., Hoffmeister, K., Hartwig, J. H., y Italiano, J. E. (2010). Cytoskeletal
mechanics of proplatelet maturation and platelet release. *The Journal of Cell Biology*,
191(4), 861-874. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006102>

Vincenot, A., Saultier, P., Kunishima, S., Poggi, M., Hurtaud-Roux, M., Roussel, A.,
ACTN1 study coinvestigators, Schlegel, N., y Alessi, M. (2019). Novel ACTN1 variants
in cases of thrombocytopenia. *Human Mutation*, 40(12), 2258-2269.
<https://doi.org/10.1002/humu.23840>

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. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0380>

von Elm, E., Altman, D., Egger, M., Pocock, S., Gøtzsche, P., y Vandembroucke, J. (2007). *The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for reporting observational studies*. <https://www.equator-network.org/reporting-guidelines/strobe/>

Westbury, S. K., Shoemark, D. K., y Mumford, A. D. (2017). ACTN1 variants associated with thrombocytopenia. *Platelets*, 28(6), 625-627. <https://doi.org/10.1080/09537104.2017.1356455>

Yadav, S., y Storrie, B. (2017). The cellular basis of platelet secretion: Emerging structure/function relationships. *Platelets*, 28(2), 108-118. <https://doi.org/10.1080/09537104.2016.1257786>

ANEXOS

Anexo 1.

Matriz de estrategia de búsqueda.

<i>Fuente</i>	<i>Estrategia de búsqueda</i>	<i>Fecha de búsqueda</i>	<i>Número de artículos</i>
PubMed	"actn1"[All Fields] AND ("variant"[All Fields] OR "variant s"[All Fields] OR "variants"[All Fields])	19/02/2020	14
	"actn1"[All Fields] AND ("thrombocytopaenia"[All Fields] OR "thrombocytopenia"[MeSH Terms] OR "thrombocytopenia"[All Fields] OR "thrombocytopenias"[All Fields])	19/02/2020	18
	"actn1"[All Fields] AND ("macrothrombocytopenia"[All Fields] OR "macrothrombocytopenias"[All Fields])	19/02/2020	14
	"macrothrombocytopenia"[All Fields] AND "actn1"[All Fields]	13/11/2020	0
	"actn1"[All Fields] AND ("variante"[All Fields] OR "variantes"[All Fields])	13/11/2020	0
	"actn1"[All Fields] AND "trombocitopenia"[All Fields]	13/11/2020	0
	Science Direct	actn1 AND variants AND macrothrombocytopenia AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013)) AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , "ar") OR LIMIT-TO (DOCTYPE , "re"))	19/02/2020
actn1 AND variantes AND macrothrombocytopenia AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013)) AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , "ar") OR LIMIT-TO (DOCTYPE , "re"))		13/11/2020	0
Scopus	actn1 AND macrothrombocytopenia AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2011))	19/02/2020	9
	actn1 AND variants AND thrombocytopenia AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013)) AND (LIMIT-TO (LANGUAGE , "English"))	19/02/2020	7
	(actn1 AND trombocitopenia)	13/11/2020	0
	(actn1 AND macrothrombocytopenia)	13/11/20	0
Springer Journals	'actn1 AND macrothrombocytopenia'	19/02/2020	11
	'actn1 variants AND thrombocytopenia'	19/02/2020	11

	'actn1 and trombocitopenia'	13/11/2020	0
	'actn1 and macrotrombocitopenia'	13/11/2020	0
Taylor&Francis	[All: actn1 and macrothrombocytopenia] AND [Publication Date: (01/01/2010 TO 12/31/2020)]	19/02/2020	8
	[All: actn1 variants and thrombocytopenia] AND [Publication Date: (01/01/2010 TO 12/31/2020)]	19/02/2020	10
	[All: actn1 and trombocitopenia] AND [Publication Date: (01/01/2010 TO 12/31/2020)]	13/11/2020	0
	[All: actn1 and macrotrombocitopenia] AND [Publication Date: (01/01/2010 TO 12/31/2020)]	13/11/2020	0

Anexo 2.

Matriz de recolección de información primaria.

Fuente	Número de artículos en fase identificación	Número de artículos luego de eliminación de duplicados
PubMed	14	7
Science Direct	6	5
Scopus	7	4
Springer Journals	11	9
Taylor&Francis	8	8

Anexo 3.

Lista de verificación de información de STROBE.

	Item No	Recommendation	Page No
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	
Introduction			
Background/rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	
Participants	6	(a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up <i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls <i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	
		(b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed <i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case	
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	
Data sources/measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	

Study size	10	Explain how the study size was arrived at	
Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	
		(c) Explain how missing data were addressed	
		(d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy	
		(e) Describe any sensitivity analyses	
Results			
Participants	13*	(a) Report numbers of individuals at each stage of study—eg numbers potentially eligible, examined for eligibility, confirmed eligible, included in the study, completing follow-up, and analysed	
		(b) Give reasons for non-participation at each stage	
		(c) Consider use of a flow diagram	
Descriptive data	14*	(a) Give characteristics of study participants (eg demographic, clinical, social) and information on exposures and potential confounders	
		(b) Indicate number of participants with missing data for each variable of interest	
		(c) <i>Cohort study</i> —Summarise follow-up time (eg, average and total amount)	
Outcome data	15*	<i>Cohort study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures over time	
		<i>Case-control study</i> —Report numbers in each exposure category, or summary measures of exposure	
		<i>Cross-sectional study</i> —Report numbers of outcome events or summary measures	
Main results	16	(a) Give unadjusted estimates and, if applicable, confounder-adjusted estimates and their precision (eg, 95% confidence interval). Make clear which confounders were adjusted for and why they were included	
		(b) Report category boundaries when continuous variables were categorized	

		(c) If relevant, consider translating estimates of relative risk into absolute risk for a meaningful time period	
Other analyses	17	Report other analyses done—eg analyses of subgroups and interactions, and sensitivity analyses	
Discussion			
Key results	18	Summarise key results with reference to study objectives	
Limitations	19	Discuss limitations of the study, taking into account sources of potential bias or imprecision. Discuss both direction and magnitude of any potential bias	
Interpretation	20	Give a cautious overall interpretation of results considering objectives, limitations, multiplicity of analyses, results from similar studies, and other relevant evidence	
Generalisability	21	Discuss the generalisability (external validity) of the study results	
Other information			
Funding	22	Give the source of funding and the role of the funders for the present study and, if applicable, for the original study on which the present article is based	

*Give information separately for cases and controls in case-control studies and, if applicable, for exposed and unexposed groups in cohort and cross-sectional studies.

Note: An Explanation and Elaboration article discusses each checklist item and gives methodological background and published examples of transparent reporting. The STROBE checklist is best used in conjunction with this article (freely available on the Web sites of PLoS Medicine at <http://www.plosmedicine.org/>, Annals of Internal Medicine at <http://www.annals.org/>, and Epidemiology at <http://www.epidem.com/>). Information on the STROBE Initiative is available at www.strobe-statement.org.

Anexo 4.

Matriz de información de artículos excluidos.

<i>Autor (es)</i>	<i>Año publicación</i>	<i>Título de artículo</i>	<i>Revista URL o DOI</i>	<i>Razón de la exclusión</i>
Bhattacharya, M., Ghosh, K., Chowdhury, R., Mishra, K., y Ghosh, M.	2018	Inherited Macrothrombocytopenia: Correlating Morphology, Epidemiology, Molecular Pathology and Clinical Features	<i>Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion</i> https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6081320/	La revista no se encuentra dentro del rango de cuartiles establecidos
Murphy, A., Young, P.	2015	The actinin family of actin cross-linking proteins-a genetic perspective	<i>Cell & Bioscience</i> https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4550062/	El artículo realiza una descripción en forma general de los diferentes genes ACTN en mamíferos
Westbury, S., Shoemark, D., Mumford, A.	2017	ACTN1 variants associated with thrombocytopenia	<i>Platelets</i> https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/09537104.2017.1356455	El artículo describe estudios ya realizados sobre variantes del gen ACTN1 pero no detalla la metodología utilizada
Yasutomi, M., Kunishima, S., Okazaki, S., Tanizawa, A., Tsuchida, S., Oshima, Y.	2016	ACTN1 rod domain mutation associated with congenital macrothrombocytopenia	<i>Annals of Hematology</i> https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26453073/	El artículo es un reporte de caso
Kanhai, D., Mulder, R., Ploos van Amstel, H. K., Schutgens, R., Lukens, M., y Tamminga, R.	2018	Familial macrothrombocytopenia due to a double mutation in cis in the alpha-actinin 1 gene (ACTN1), previously considered to be chronic	<i>Pediatric blood & cancer</i> https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30124235/	El artículo es un reporte de caso

immune thrombocytopenic purpura				
<i>Platelets</i>				
Balduini, C., Melazzini, F., Pecci, A.	2016	Inherited thrombocytopenias—recent advances in clinical and molecular aspects	https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.3109/09537104.2016.1171835?scroll=top&needAccess=true	Se describen varios genes relacionados con trombocitopenia
<i>Febs Letters</i>				
Murphy, A. C., Lindsay, A. J., McCaffrey, M. W., Djinović- Carugo, K., y Young, P. W.	2016	Congenital macrothrombocytopenia- linked mutations in the actin- binding domain of α -actinin- 1 enhance F-actin association	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26879394/	No se describe población de estudio

Anexo 5.

Matriz de almacenamiento de artículos seleccionados.

<i>N°</i>	<i>Base de datos</i>	<i>Autor (es)</i>	<i>Año publicación</i>	<i>Título del artículo</i>	<i>URL o DOI</i>
1	PubMed	Bottega, R., Marconi, C., Faleschini, M., Baj, G., Cagioni, C., Pecci, A., Pippucci, T., Ramenghi, U., Pardini, S., Ngu, L., Baronci, C., Kunishima, S., Balduini, C. L., Seri, M., Savoia, A., y Noris, P.	2015	ACTN1-related Thrombocytopenia: Identification of Novel Families for Phenotypic Characterization	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25361813/
2	PubMed	Schick, U. M., Jain, D., Hodonsky, C. J., Morrison, J. V., Davis, J. P., Brown, L., Sofer, T., Conomos, M. P., Schurmann, C., McHugh, C. P., Nelson, S. C., Vadlamudi, S., Stilp, A., Plantinga, A., Baier, L., Bien, S. A., Gogarten, S. M., Laurie, C. A., Taylor, K. D., ... Reiner, A. P.	2015	Genome-wide Association Study of Platelet Count Identifies Ancestry-Specific Loci in Hispanic/Latino Americans	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4746331/
3	PubMed	Faleschini, M., Melazzini, F., Marconi, C., Giangregorio, T., Pippucci, T., Cigalini, E., Pecci, A., Bottega, R., Ramenghi, U., Siitonen, T., Seri, M., Pastore, A., Savoia, A., y Noris, P.	2018	ACTN1 mutations lead to a benign form of platelet macrocytosis not always associated with thrombocytopenia	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30351444/
4	PubMed	Vincenot, A., Saultier, P., Kunishima, S., Poggi, M., Hurtaud-Roux, M., Roussel, A., ACTN1 study coinvestigators, Schlegel, N., y Alessi, M.	2019	Novel ACTN1 variants in cases of thrombocytopenia.	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6900141/

5	PubMed	Guéguen, P., Rouault, K., Chen, J.-M., Raguénès, O., Fichou, Y., Hardy, E., Gobin, E., Pan-petes, B., Kerbiriou, M., Trouvé, P., Marcorelles, P., Abgrall, J., Le Maréchal, C., y Férec, C.	2013	A Missense Mutation in the Alpha-Actinin 1 Gene (ACTN1) Is the Cause of Autosomal Dominant Macrothrombocytopenia in a Large French Family	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24069336/
6	PubMed	Kunishima, S., Okuno, Y., Yoshida, K., Shiraishi, Y., Sanada, M., Muramatsu, H., Chiba, K., Tanaka, H., Miyazaki, K., Sakai, M., Ohtake, M., Kobayashi, R., Iguchi, A., Niimi, G., Otsu, M., Takahashi, Y., Miyano, S., Saito, H., Kojima, S., y Ogawa, S.	2013	ACTN1 Mutations Cause Congenital Macrothrombocytopenia	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23434115/

Anexo 6.

Matriz de recolección de información final.

Datos de estudios	Información
Nº. Artículo seleccionado	1
Título del artículo	ACTN1-related Thrombocytopenia: Identification of Novel Families for Phenotypic Characterization
Población	128 personas con una edad media de 34,5 años
Metodología	Herramientas bioinformáticas e inmunofluorescencia
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	p.Asp22Asn, p.Arg46Trp, p.Glu225Lys, p.Gly251Arg, p.Thr737Asn, p.Arg738Trp, p.Arg752Gln, p.Gly764Ser, p.Glu769Lys, p.Asp666Val
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas, VPM 12.6 ± 1.7 fL
Contaje plaquetario	Trombocitopenia, $103 \pm 26 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	Bajo riesgo de sangrado, anomalías en el proceso de hemostasia
Nº. Artículo seleccionado	2
Título del artículo	Genome-wide Association Study of Platelet Count Identifies Ancestry-Specific Loci in Hispanic/Latino Americans
Población	12491 participantes de la comunidad latina e hispana entre 18-74 años
Metodología	Herramientas bioinformáticas y técnicas moleculares
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	rs117672662
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas, VPM $>10fL$
Contaje plaquetario	Trombocitopenia, $<150 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	Manifestaciones mínimas de sangrado
Nº. Artículo seleccionado	3
Título del artículo	ACTN1 mutations lead to a benign form of platelet macrocytosis not always associated with thrombocytopenia
Población	130 pacientes italianos y finlandeses, edad media 33,7 años
Metodología	Técnicas moleculares e inmunofluorescencia
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	p.Arg46Trp, p.Val105Ile, p.Glu225Lys, p.Arg752Gln, Trp128Cys, p.Pro233Leu, p.Thr737Ser
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas, 8,55-16,5 fL
Contaje plaquetario	Trombocitopenia, entre $70 \times 10^9/L$ y $150 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	Sangrados leves
Nº. Artículo seleccionado	4
Título del artículo	Novel ACTN1 variants in cases of thrombocytopenia
Población	272 pacientes franceses, edad media 25,9 años
Metodología	Técnicas moleculares, mutagénesis e inmunofluorescencia
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	p.Arg46Trp, p.Arg46Gln, p.Val105Ile y p.Arg738Trp, p.Thr257Arg, p.Lys324Glu, p.Val328Met, p.Gln329Arg, p.Lys398Thr, p.Ala432Val, p.Arg450Cys, p.Arg450His, p.His622Tyr, p.Met748Lys y p.Leu395Gln
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas

Contaje plaquetario	Trombocitopenia, $88 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	Sangrados leves
N°. Artículo seleccionado	5
Título del artículo	A missense mutation in the alpha-actinin 1 gene (ACTN1) is the cause of autosomal dominant macrothrombocytopenia in a large French family
Población	55 personas francesas, edad media 43,5 años
Metodología	Técnicas moleculares e inmunofluorescencia
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	p.Arg46Gln
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas
Contaje plaquetario	Trombocitopenia, $97.54 \pm 25.78 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	No se presentó tendencia a sangrados
N°. Artículo seleccionado	6
Título del artículo	ACTN1 Mutations Cause Congenital Macrothrombocytopenia
Población	13 personas japonesas
Metodología	Técnicas moleculares e inmunofluorescencia
Gen estudiado	ACTN1
Variantes estudiadas	p.Val105Ile, p.Gln32Lys y p.Arg752Gln, p.Arg46Gln, p.Arg738Trp y p.Glu225Lys
Morfología plaquetaria	Macroplaquetas
Contaje plaquetario	Trombocitopenia, $98.1 \pm 23.2 \times 10^9/L$
Implicaciones clínicas	Tendencia a sangrados leves