



CASOS CLÍNICOS

ANÁLISIS MOLECULAR DE UN PACIENTE BOLIVIANO CON TROMBOCITOPENIA SINDRÓMICA RELACIONADA AL GEN MYH9

MOLECULAR ANALYSIS OF A BOLIVIAN PATIENT WITH SYNDROMIC THROMBOCYTOPENIA RELATED TO THE MYH9 GENE

Beatriz Luna Barrón¹, Silvana María Limache Valderrama², Aneliz Ninahuanca Terán^{2*}

RESUMEN

La trombocitopenia como motivo de consulta, requiere la búsqueda intencionada de orientar manifestaciones extrahematológicas. La megacariogénesis pasa por distintas etapas dependientes de la interacción de varios genes, entre ellos el *MYH9*, cuya expresión permite una adecuada formación y migración de las proplaquetas al ser liberadas al torrente sanguíneo, al mismo tiempo, existen estructuras con fisiología similar a nivel de citoesqueleto (podocitos, cilios cocleares, etc.) que podrían vincular a datos de pérdida de audición, enfermedad renal, cataratas y elevación de enzimas hepáticas conllevando a una enfermedad relacionada al gen *MYH9*.

Se presenta el caso de un adolescente, de sexo masculino, con trombocitopenia recurrente, con el antecedente de padre con coagulopatía inespecífica, pérdida de audición, falla renal crónica, quien falleció a los 34 años por hemorragia intraparenquimatosa y edema cerebral severo, en quien se identifica una variante patogénica en heterocigosis en el gen *MYH9*, poniendo en relevancia la expresividad variable y efectos pleiotrópicos de este gen.

PALABRAS CLAVE: Gen *MYH9*, trombocitopenia sindrómica.

ABSTRACT

Thrombocytopenia as a reason for consultation requires an intense search to guide extrahematological manifestations. Megakaryogenesis goes through different stages depending on the interaction of several genes, including MYH9, whose expression allows proper formation and migration of proplatelets when released into the bloodstream, at the same time, there are structures with similar physiology at the cytoskeleton level (podocytes, cochlear cilia, etc.) that could be linked to data on hearing loss, kidney disease, cataracts and elevated liver enzymes leading to a disease related to the MYH9 gene. We present the case of an adolescent, male, with recurrent thrombocytopenia, with a history of a father with nonspecific coagulopathy, hearing loss, chronic kidney failure, who died at the age of 34 due

1. Médico genetista
2. Bioquímica

Correspondencia: blunab3@gmail.com GENÓMICA B-29 S.C.S.

Responsable de correspondencia: Av. Ecuador entre Fernando Guachalla y Rosendo Gutiérrez, Ed. Miguel Ángel Nro. 738, mezanine, Of. 8, Zona Sopocachi

to intraparenchymal hemorrhage and severe cerebral edema, in whom identifies a heterozygous pathogenic variant in the MYH9 gene, highlighting the variable expressivity and pleiotropic effects of this gene.

KEY WORDS: *MYH9 gene, syndromic thrombocytopenia.*

INTRODUCCIÓN

La trombocitopenia se define como niveles plaquetarios $<150 \times 10^3/\mu\text{L}$, sin embargo, puede pasar desapercibida hasta niveles de $10\text{-}30 \times 10^3/\mu\text{L}$ que pueden manifestarse con sangrados por traumas mínimos o espontáneos¹. Sus causas se dividen en 3 grupos: producción reducida (falla de médula ósea), incremento de consumo de plaquetas (problemas autoinmunes, infecciones, etc.), u otros (alcoholismo, hiperesplenismo, hepatopatía, etc.)². Por tales antecedentes una trombocitopenia debe evaluarse de manera integral iniciando por establecer si existen otras líneas celulares afectadas o si es aislada, y buscar manifestaciones extrahematológicas.

La megacariopoyesis y la biogénesis plaquetaria son procesos que transcurren en la médula ósea y sus senos vasculares. A nivel celular, los megacariocitos (precursores de plaquetas) provienen de colonias de progenitores megacariocíticos, dependiendo de la interacción de la trombopoyetina con sus receptores, bajo la influencia de varios factores de crecimiento, posteriormente se dan procesos de endomitosis para incrementar el número cromosómico, maduración, migración a la barrera endotelial sinusal, este último paso se lleva a cabo por medio de la interacción con factores de crecimiento derivados del estroma, dando lugar a la formación de proplaquetas, que son megacariocitos con extensiones ramificadas que en la sangre liberarán las plaquetas. A la fecha se han descrito aproximadamente 20 genes relacionados con las distintas etapas de megacariopoyesis y biogénesis plaquetaria, entre los cuales se encuentra el gen *MYH9*, relacionado por su fisiología con el citoesqueleto, ya que la subunidad IIA de la proteína Miosina

de cadena pesada 9 codificada por dicho gen, media las fuerzas contráctiles intracelulares generadas a través de la hidrólisis de ATP y el citoesqueleto de actina, con efectos pleiotrópicos.

La enfermedad relacionada al gen *MYH9* (*MYH9-RD*), también conocida como *MYH9*patía se caracteriza por trombocitopenia congénita, macrocitosis plaquetaria ($>40\%$ de plaquetas con diámetro $>3,9 \mu\text{m}$), trombocitopenia ($<150 \times 10^3$ plaquetas/ μL) y agregados de la proteína *MYH9* en el citoplasma de los granulocitos neutrófilos). Las variantes patogénicas (VP) en el gen *MYH9* muestran amplia heterogeneidad fenotípica, por la presencia de una o más manifestaciones extrahematológicas de la enfermedad a lo largo de su vida, como hipoacusia, nefropatía y cataratas preseniles (forma sindrómica) y/o elevación de las enzimas hepáticas^{3,4}.

En el pasado, los fenotipos incluidos *MYH9-RD* se conocían como síndrome de Epstein, síndrome de Fechtner, anomalía de May-Hegglin, síndrome de Sebastián (síndrome plaquetario de Sebastián) y/o sordera autosómica dominante 17 (DFNA17). Los primeros cuatro fenotipos, todos caracterizados por trombocitopenia y macrocitosis plaquetaria, se clasificaron sobre la base de la presencia de cuerpos similares a Döhle y diferentes combinaciones de las otras manifestaciones de *MYH9-RD*. Debido a que el fenotipo de una persona con una VP en *MYH9* a menudo evoluciona con el tiempo y que los fenotipos nombrados no definen todas las posibles manifestaciones resultantes de una VP en *MYH9* heterocigota, se propuso *MYH9-RD* como una nueva entidad nosológica.^{3,5}

Las *MYH9-RD* se consideran enfermedades raras, por lo que no existe un registro de casuística mundial, la literatura reporta 3.75/1,000,000

habitantes en población italiana, sin embargo, se espera una frecuencia mayor por el subregistro dada la amplia variabilidad fenotípica.³

El presente caso clínico tiene como objetivo dar a conocer el primer caso detectado en el Estado Plurinacional de Bolivia de una patología vinculada al gen MYH9.

CASO CLÍNICO

Paciente evaluado en consulta externa del laboratorio GENÓMICA B-29 S.C.S., de sexo masculino, 14 años, de nacionalidad boliviano, producto de única gesta de padres no consanguíneos, antecedentes familiares de madre boliviana, sin patología aparente, padre de ascendencia europea, fallecido a los 34 años con antecedentes de sangrados profusos recurrentes (inespecíficos), problemas de audición, enfermedad renal crónica (hemodiálisis) e hipertensión arterial.

El motivo de consulta del paciente fueron sangrados recurrentes en relación a plaquetopenia y macrocitosis, por lo que se fue enviado con el diagnóstico de síndrome de Bernard Soulier

(SBS), para asesoramiento genético por la especialidad. A la exploración física signos vitales estables, datos antropométricos dentro de percentil 50 para la edad y el sexo, sin dismorfias faciales, ni corporales, resto de examen físico sin particularidades. Por los antecedentes familiares, se sugirió evaluación por audiología que reportó hipoacusia neurosensorial bilateral, con indicación de prótesis auditivas. También se solicitó evaluación por nefrología y gastroenterología, no evidenciando al momento daño renal ni hepático.

Para el asesoramiento genético otorgado a la mamá del paciente, se consideraron principalmente los antecedentes del papá, que mostraban una condición sistémica, coincidiendo en el paciente las alteraciones hematológicas y auditivas, por lo que se sugirió la posibilidad de una condición genética de herencia autosómico dominante, distinta al SBS (de herencia autosómico recesiva), por lo que en la primera etapa se solicitó la realización de estudio molecular dirigido a MYH9patía, por ser la condición genética que reúne las características previamente descritas.

Tabla 1. Datos clínicos de las MYH9patias y su relación con el caso reportado

Signos/ Sintomatología	Frecuencia en pacientes con MYH9patía ³	Padre del propósito	Propósito
Trombocitopenia	98% (variable)	+	+
Macrocitosis	100% (desde el nacimiento)	?	+
Sangrados recurrentes	80-90%	+	+
Hipoacusia neurosensorial	80-85% 50% a partir de los 33 años	+	+
Elevación de enzimas hepáticas	50% Presentación tardía	-	-
Nefropatía glomerular	25% Presentación 27 a 30 años	+	-
Cataratas	20% Presentación 4ta década	-	-

Savoia & Pecci (2021)

Previo asesoramiento genético sobre los alcances y limitaciones de la metodología diagnóstica sugerida, se procedió a la firma del consentimiento informado y la toma de 1 muestra (3 mL) de sangre periférica, que fue

conservada con EDTA. La muestra de sangre periférica del paciente fue sometida a un método de extracción química de ADN total, a continuación, se fragmentó enzimáticamente para enriquecer regiones diana con sondas

de captura de ADN para que por medio de secuenciación de nueva generación (NGS) se identifiquen variantes. Las regiones diana incluyeron aproximadamente 41 Mb del exoma codificante humano (dirigido a más del 98% de la construcción del genoma humano GRCh37/hg19 codificante de RefSeq). La biblioteca generada fue secuenciada en una plataforma Illumina® para obtener una profundidad de cobertura de al menos 20X para más del 98% de las bases seleccionadas. Para el análisis de las secuencias obtenidas en búsqueda de variantes se empleó los programas informáticos: PolyPhen, Align-GVGD, SIFT y MutationTaster, que incluyen la alineación de las lecturas con el ensamblaje del genoma GRCh37/hg19. Para la interpretación de los hallazgos moleculares, se revisaron los antecedentes familiares y la información clínica para evaluar la variante identificada con respecto a su patogenicidad y causalidad. De esta forma se identificó la variante en heterocigosis en la posición c.2104C>T p.(Arg702Cys) del gen *MYH9*, según la secuencia base NM_002473.4.

La mutación encontrada cumple con varios criterios del *American College of Medical Genetics* (ACMG) para ser considerada Variante Patogénica (VP) como causante de la MYH9patia.

En el análisis molecular no se evidenciaron otras variantes relacionadas con condiciones sindrómicas que abarcan el campo hematológico, ni multisistémico.

Con dicho resultado se descartó el SBS y otras causas hematológicas, y se confirmó el diagnóstico de MYH9patia, ya el genotipo encontrado explica completamente el fenotipo del paciente, procediendo a realizar el asesoramiento genético dirigido, explicando el componente autosómico dominante y un riesgo de recurrencia en familiares de primer grado del 50% por cada gestación, además se procedió a la orientación para abordaje multidisciplinario por las posibles complicaciones que se

pueden presentar con el avance de los años (Medicina interna, Hematología, Audiología, Nefrología, Oftalmología y Gastroenterología), siendo la especialidad de cabecera hematología por la plaquetopenia recurrente. Hasta la fecha, no se evidenció daño renal (ecografía renal, creatinina y proteinuria de 24 horas normales), ni oftalmológico, sin embargo, se indica seguimiento multidisciplinario anual. Finalmente, se sugirió evitar AINES y otros medicamentos que inhiban la función plaquetaria, así como medicamentos ototóxicos, nefrotóxicos, hepatotóxicos y corticoides.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Uno de los principales puntos a considerar fueron los antecedentes paternos de patología multisistémica y ascendencia europea (Alemania), lo que explica la presencia de esta condición “rara” o poco frecuente en población boliviana, ya que como se vió en párrafos anteriores los casos reportados a nivel mundial provienen del continente europeo.

En el contexto de la evaluación clínica por Genética médica como especialidad emergente, el asesoramiento genético dirigido es uno de sus principales alcances y ventajas, sin embargo, es importante considerar que para un adecuado asesoramiento genético se requiere la confirmación diagnóstica para ser bien orientado, tanto al modo de herencia, riesgos de recurrencia, posibles causa, complicaciones y opciones terapéuticas y/o paliativas. En este sentido, el estudio de los antecedentes familiares en la sospecha de una condición genética es fundamental para la búsqueda de causas congénitas y/o hereditarias, considerando la expresividad variable y el pleiotropismo de varios genes relacionados con las formas sindrómicas de trombocitopenia, ya que el paciente acudió con sospecha de otra condición genética, con un modo de herencia distinto, lo que modifica totalmente la información que se da al paciente

y su familia, incluyendo el manejo y tratamiento.

Este caso clínico es el ejemplo de una forma de trombocitopenia de origen genético, específicamente relacionada al gen *MYH9* con una variante patogénica (VP) en el codón 702 para el residuo Arginina, que junto a otras 5 VP dan cuenta del 70% de los casos reportados a la fecha³, que a la luz de la interpretación muestra compatibilidad de fenotipo y genotipo del paciente. Según Savoia y Pecci, (2021) estas VP están asociadas con el fenotipo más severo, presentando los pacientes trombocitopenia grave (recuento de plaquetas por lo general $<50 \times 10^3/\mu\text{L}$), y se espera que desarrollen nefropatía y pérdida de audición severa antes de la edad de 30 a 40 años. En relación a la fisiopatología, la VP en el gen ocasiona en la proteína resultante defectos funcionales a nivel de filamentos bipolares que interactúan con la actina para generar las fuerzas mecánicas necesarias para distintos procesos celulares, como ser movilidad, migración, citocinesis, cambios y/o mantenimiento de estructura, etc., hecho que refuerza el concepto de pleiotropismo. A nivel hematológico, por lo tanto se observa una falla en la capacidad de extensión de las proplaquetas, y modelos animales han demostrado una reducción en el número de las ramificaciones de las puntas proplaquetarias, así como alteraciones en la capacidad de migración de los megacariocitos en la médula ósea.^{2, 3} A nivel renal, se han postulado defectos estructurales y funcionales en el citoesqueleto de los podocitos, dañando la barrera de filtración glomerular⁶. En relación a la audición existe daño en las células ciliadas de la coclea⁷.

El diagnóstico diferencial de las MYH9patías debe incluir causas adquiridas (Púrpura trombocitopénica idiopática) y hereditarias que en conjunto se denominan macrotrombocitopenias, llegando a más de 15 desórdenes descritos con otras manifestaciones al margen del tema hematológico, así como, algunas nefropatías relacionadas con colagenopatías (síndrome de Alport). Si bien el paciente fue derivado a genética médica por sospecha del SBS por trombocitopenia recurrente (entidad con patrón autosómico recesivo)⁸, cuya falla a nivel molecular corresponde a la falta del complejo Glicoproteína GP Ib/IX en la superficie de las plaquetas⁹ con VP en *GP1BA*, *GP1BB* y/o *GP9*¹⁰, la adecuada orientación sobre los antecedentes familiares del paciente permitió establecer un diagnóstico distinto, considerando sobre todo el carácter autosómico dominante y la amplia expresividad variable y capacidad pleiotrópica del gen *MYH9*, haciendo relevante la necesidad de contar con herramientas genéticas para dar un diagnóstico preciso y confiable. Por ello, para el diagnóstico de este tipo de enfermedades es necesario un trabajo integral de diferentes especialidades, siendo la genética la especialidad que demostrará, en primera instancia, la adecuada realización de una genealogía con al menos tres generaciones, así como la integración de signos y síntomas en una etiología sindrómica.

Pacientes con enfermedades raras, como la descrita requieren medios para tener acceso a metodologías confirmatorias de la sospecha diagnóstica, asesoramiento genético dirigido y optimizar manejo, tratamiento y prevención terciaria.

REFERENCIAS

1. Gauer R, Braun M. Thrombocytopenia. *Am Fam Physician* [Internet]. 2012 [Consultado 10 Nov 2021];85(6):612-622. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22534274/>
2. Nurden A, Nurden P. Inherited thrombocytopenias: history, advances and perspectives. *Haematologica* [Internet]. 2020 [Consultado 10 Nov 2021]; 105(8):2004-2019. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32527953/>
3. Savoia A, Pecci A. MYH9-Related Disease [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021 [revisado 2022; citado 2022 Mar 02]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2689/>
4. Saposnik B, Binard S, Fenneteau O, Nurden A, Nurden P, Hurtaud-Roux M, Schlegel N. Mutation spectrum and genotype-phenotype correlations in a large French cohort of MYH9-Related Disorders. *Mol Genet Genomic Med*. [Internet]. 2014 [Consultado 10 Dic 2021];2(4):297-312. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25077172/>
5. Seri M, Pecci A, Di Bari F, Cusano R, Savino M, Panza E, Nigro A, Noris P, Gangarossa S, Rocca B, Gresele P, Bizzaro N, Malatesta P, Koivisto P, Longo I, Musso R, Pecoraro C, Iolascon A, Magrini U, Rodriguez Soriano J, Renieri S, Ghiggeri G, Ravazzolo R, Balduini C, Savoia A. MYH9-Related Disease May-Hegglin Anomaly, Sebastian Syndrome, Fechtner Syndrome, and Epstein Syndrome Are not Distinct Entities but Represent a Variable Expression of a Single Illness. *Medicine* [Internet]. 2003 [Consultado 20 Dic 2021]; 82(3): 203-2015. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12792306/>
6. Pecci A, Ma X, Savoia A, Adelstein RS. MYH9: Structure, functions and role of non-muscle myosin IIA in human disease. *Gene* [Internet]. 2018 [Consultado 20 Dic 2021];664: 152-167. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378111918304165?via%3Dihub>
7. Pecci A, Verver E, Schlegel N, Canzi P, Boccio C, Platokouki H, Krause E, Benazzo M, Topsakal V, Greinacher A. Cochlear implantation is safe and effective in patients with MYH9-related disease. *Orphanet J Rare Dis*. [Internet]. 2014b [Consultado 02 Mar 2022];9:100. Disponible en: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-9-100>
8. Roldán-Tabares M, Herrera-Almanza L, Thowinson-Hernández M, Martínez-Sánchez L. Síndrome de Bernard-Soulier. *Med Int Méx*. [Internet]. 2019 [Consultado 02 Mar 2022]; 35(5):713-720. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medintmex/mim-2019/mim195i.pdf>
9. Fernández K, Martínez R, Licona T. Trombocitopenia familiar de plaquetas gigantes. *Rev. Fac. Cienc. Méd*. [Internet]. 2013[Consultado 02 Mar 2022]; 48-53. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RFCM/pdf/2013/pdf/RFCMVol10-1-2013-7.pdf>
10. Takasaki K, Kacena M, Raskind W, Weiss M, Chou S. GATA1-Related Cytopenia [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2021 [revisado 2021; citado 2021 Oct 21]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1364/>