

## Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V02210176

# Arvelige trombocyt sygdomme

Nanna Brøns<sup>1, 2</sup>, Maria Rossing<sup>2</sup> & Eva Birgitte Leinøe<sup>1</sup>

1) Klinik for Blodsygdomme, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet, 2) Genomisk Medicin, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2021;183:V02210176

### HOVEDBUDSKABER

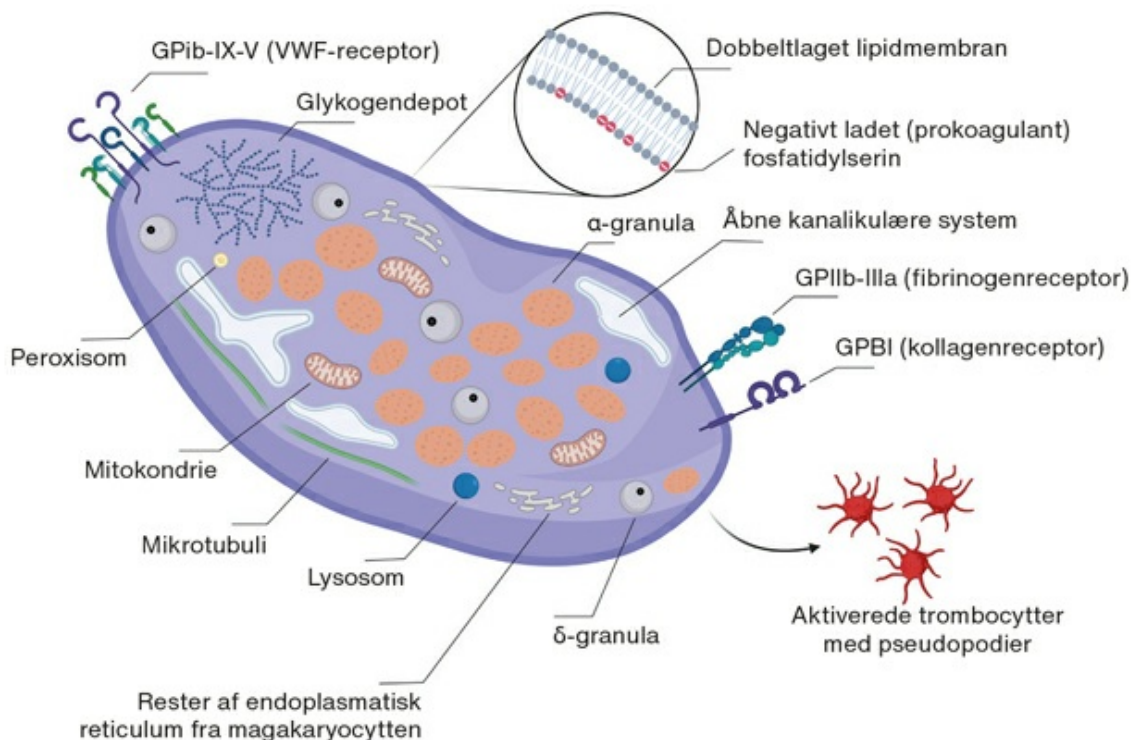
- Arvelige trombocyt sygdomme er en heterogen sygdomsgruppe, som ofte er overset i klinikken.
- Arvelige trombocyt sygdomme kan være forbundet med syndromer eller andre sygdomme, og derfor er korrekt diagnostik vigtig.
- Indførelsen af helgenomsekventering har øget vores viden og forbedret diagnostikken betydeligt.

Arvelige trombocyt sygdomme forårsages af genetiske varianter, der påvirker trombocytproduktionen eller trombocytternes funktion. De er en kompleks gruppe af sygdomme med varierende sværhedsgrad og symptombillede og er generelt overset i klinikken [1]. Her gennemgås baggrunden for de arvelige trombocyt sygdomme samt deres udredning og håndtering.

### TROMBOCYTTENS STRUKTUR OG ROLLE I HÆMOSTASEN

Trombocytten er en yderst kompleks celle (Figur 1), der indgår i talrige fysiologiske funktioner og er afgørende for den hæmostatiske proces [2]. Trombocytter er kerneløse celler, der dannes fra megakaryocytter i knoglemarven ved frigivelse af cytoplasmafragmenter til blodbanen. Her cirkulerer trombocytterne langs med endotelet, så de er optimalt placerede, når der sker en skade på karvæggen. På skadestedet adhærer de hurtigt til komponenter i den eksponerede ekstracellulære matrix (kollagen og von Willebrand-faktor) via transmembrane glykoproteinreceptorer, hvor de aktiveres og aggregerer til en primær prop.

**FIGUR 1** Skematisk fremstilling af trombocyttens opbygning. Figuren er lavet i Biorender.com.



GP = glykoproteinkompleks, VWF = von Willebrand-faktor.

En dobbeltdaget lipidmembran omgiver trombocytten, og ved aktivering dannes en prokoagulant overflade. Her akkumuleres blodets koagulationsfaktorer til tenase- og protrombinasekomplekserne (hhv. FVIIIa/FIXa og FXa/FVa), som resulterer i massiv dannelse af trombin, der omdanner tilstedeværende fibrinogen til et net af fibrintråde. Disse lejres omkring trombocytterne, hvor de krydsbindes, så trombocytproppen stabiliseres, og hæmostasen sikres [3]. Invaginationer af plasmamembranen danner trombocytens åbne kanalikulære system, som er et komplekst anastomoserende netværk af membrankanaler, der understøtter transport af proteiner ind og ud af cellen. Dette system fungerer også som membranreserve, der sammen med det kontraktile cytoskelet gør trombocytten i stand til at øge sit overfladeareal op til fire gange ved blandt andet at udsende lange pseudopodier, der kan interagere med andre celler. Trombocytens indre viskøse matrix indeholder desuden mikrotubuli, glykogendepoter, mitokondrier, resterende endoplasmatisk reticulum fra megakaryocytten, peroxisomer, lysosomer og to slags granula; 50-80 α-granula og 3-8 δ-granula pr. celle. Disse granula indeholder talrige proteiner og stoffer, der indgår i hæmostasen og frigives ved aktivering [4].

## ARVELIGE TROMBOCYTSYGDOMME

Arvegangen ved arvelige trombocyttsygdomme kan være autosomal recessiv, autosomal dominant, X-bunden eller endda kompleks med varianter i flere gener, der tilsammen resulterer i en klinisk blødningsfænotype [5]. Arvelige trombocyttsygdomme er derfor en yderst heterogen gruppe, hvor den enkelte sygdom kan være meget sjælden, men den samlede prævalens er estimeret til 0,01%. Dette tal menes dog at være underestimeret [6], og ud fra populationsbaserede beregninger af loss of function-varianter i 58 trombocytassocierede gener er mindst 0,329% af den generelle befolkning prædisponerede til at have en arvelig trombocyttsygdom [7].

Der er i dag identificeret mere end 60 forskellige gener associeret til arvelige trombocytsygdomme [8]. Nogle af disse gener har funktion i flere væv, og varianter heri kan være forbundet med syndromer, der rækker ud over det hæmostatiske system. De arvelige trombocytsygdomme kan inddeles i arvelige trombocytopenier (Tabel 1) og arvelige trombocytfnktionsdefekter (Tabel 2) med normalt trombocytaltal. Begge kan være forbundet med syndromer, og arvelig trombocytopeni kan også være forbundet med andre sygdomme [9]. Blødningsfænotypen er mukokutan og omfatter blødninger fra slimhinder og hud, menoragi samt forlænget blødningstid ved kirurgi og fødsler. Blødningstendensen kan variere fra ingen blødning (isoleret mild trombocytopeni) til svær blødningstendens med livstruende blødningsepisoder [10].

**TABEL 1** Oversigt over arvelige trombocytopenier med anført genetisk årsag, arvegang og særlige karakteristika.

Gen	Arvegang	Karakteristika
<i>Arvelig trombocytopeni</i>		
ACTN1	AD	Makrotrombocytopeni
CYCS	AD	Normal trombocytstørrelse
FLI1	AD/AR	Makrotrombocytopeni med nedsat trombocytfnktion
FYB	AR	Mikrotrombocytopeni
GF1B	AD/AR	Mangel på α-granula, aberrant CD34-ekspression, erythrocytanisocytose
GP1BA/ GP1BB/ GP9	AR	Bernard-Souliers syndrom, makrotrombocytopeni med svært nedsat GPIb-IX-V-ekspression
GP1BA/ GP1BB	AD	Mild makrotrombocytopeni
ITGA2B/ITGB3	AD	Makrotrombocytopeni med nedsat trombocytfnktion
IKZF5	AD	Normal trombocytstørrelse, mangel på α-granula
PTPRJ	AR	Mikrotrombocytopeni med nedsat trombocytfnktion
SLFN14	AD	Makrotrombocytopeni med nedsat antal δ-granula
THPO	AD	Normal trombocytstørrelse
TPM4	AD	Makrotrombocytopeni
TRPM7	AD	Makrotrombocytopeni
TUBB1	AD	Makrotrombocytopeni
<i>Arvelig trombocytopeni forbundet med syndromer</i>		
ACTB	AD	Baraitser-Winters syndrom, makrotrombocytopeni, mikrocefali, ansigtsabnormaliteter, intellektuelle defekter, leukocytose
ARPC1B	AR	Mikrotrombocytopeni, immundefekter, systemisk inflammation, væksthæmning, hepatosplenomegali
CDC42	AD	Takenouchi-Kosakis syndrom, makrotrombocytopeni, væksthæmning, intellektuelle defekter, ansigtsabnormaliteter, cerebrale malformationer
FLNA	XL	Makrotrombocytopeni, periventrikulær nodulær heterotopi
GALE	AR	Makrotrombocytopeni, anæmi, tilbagevendende neutropeni
GATA1	XL	Normal trombocytstørrelse, dyserytropoiese, talassæmi, splenomegali
KDSR	AR	Normal trombocytstørrelse, hudlæsioner, anæmi
MPIG6B	AR	Makrotrombocytopeni, anæmi, myelofibrose
NBEAL2	AR	Makrotrombocytter, grey platelets, knoglemarvsfibrose, splenomegali, forhøjet B <sub>12</sub> -vitaminniveau, dysreguleret immunsystem
RBM8A	AR	Normal trombocytstørrelse, manglende radii, knogleabnormaliteter, organmalformationer
SRC	AD	Makrotrombocytopeni, ansigtsdysmorfisme, osteoporose, prædisposition til myelofibrose, splenomegali og præmatur tab af alle tænder
STIM1	AD	Myopati, aspleni, miosis, kognitive defekter, immundefekter
Deletioner i 11q23	AD	Jacobsens syndrom, normal trombocytstørrelse, væksthæmning, malformationer intellektuelle defekter
<i>Arvelig trombocytopeni forbundet med anden sygdom</i>		
ABCG5/ABCG8	AR	Makrotrombocytopeni, sitosterolæmi, prædisposition til koronar aterosklerose
ANKRD26	AD	Makrotrombocytopeni, risiko for udvikling af myeloid cancer: 10%
DIAPH1	AD	Makrotrombocytopeni, risiko for udvikling af sensorineural døvhed
ETV6	AD	Normal trombocytstørrelse, risiko for udvikling af hæmatologisk cancer: 30%
GNE	AR	Makrotrombocytopeni, prædisposition til myopati
HOXA11	AD	Normal trombocytstørrelse, bilateral radioulnar synostose med prædisposition til knoglemarvsaplasi, døvhed
MECOM	AD	Normal trombocytstørrelse, bilateral radioulnar synostose med prædisposition til knoglemarvs aplasi, døvhed, B-celledefekt
MPL	AR	Normal trombocytstørrelse, alle patienter udvikler trilineær knoglemarvsaplasi
MYH9	AD	Makrotrombocytopeni, Döhle-legemer i leukocytter, prædisposition til sensineuronal døvhed, nefropati og nyreinsufficiens, katarakt
RUNX1	AD	Normal trombocytstørrelse, risiko for udvikling af hæmatologisk cancer: 40%, blødningstendens
THPO	AR	Normal trombocytstørrelse, prædisposition til trilineær knoglemarvsaplasi
WAS	XL	Mikrotrombocytopeni, eksem, immundefekter, øget risiko for udvikling af malign sygdom og autoimmunitet

AD = autosomal dominant; AR = autosomal recessiv; GP = glykoproteinkompleks; XL = X-bunden.

**TABEL 2** Oversigt over arvelige trombocytfunktionsdefekter med genetiske årsag, arvegang og særlige karakteristika.

Gen	Arvegang	Karakteristika <sup>a</sup>
<i>Arvelig trombocytfunktionsdefekt</i>		
<i>ANO6</i>	AR	Defekt Ca <sup>2+</sup> -afhængig translokation af fosfatidylserin til trombocytoverfladen, nedsat trombocytderiveret dannelse af trombin
<i>EPHB2</i>	AR	Nedsat trombocytrespons på kollagen, ADP, AA og tromboxanaloger
<i>GP6</i>	AR	Nedsat trombocytrespons på kollagen
<i>ITGA2B/ITGB3</i>	AR	Glanzmanns trombasteni, fravær af trombocyttaggregation, svær blødningstendens
<i>PTGS1</i>	AR/AD	Acetylsalicylsyrealignende trombocytfunktionsdefekt
<i>P2RY12</i>	AR/AD	Nedsat trombocytrespons på kollagen og AA, reversibelt med ADP og TRAP
<i>RASGRP2</i>	AR	Fravær af trombocyttaggregation, svær blødningstendens
<i>TBXA2R</i>	AR/AD	Fravær af trombocytrespons på AA og tromboxan
<i>Arvelig trombocytfunktionsdefekt forbundet med anden sygdom</i>		
<i>FERMT3</i>	AR	Syndrom med svær infektionstendens, osteopetrose, fravær af trombocyttaggregation, leukocytose, svær blødningstendens
<i>HPS1/HPS3/HPS4/HPS5/HPS6/AP3B1/DTNBP1/BLOC1S3/BLOC1S6/AP3D1</i>	AR	Hermansky-Pudlaks syndrom, albinisme, synstap, pulmonal fibrose, immundefekt, δ-granuladefekt
<i>LYST</i>	AR	Chediak-Higashis syndrom, albinisme, infektionstendens, δ-granuladefekt
<i>NBEA</i>	AD	Autisme, δ-granuladefekt
<i>PLA2G4A</i>	AR	Nedsat trombocytrespons på AA og kollagen, gastrointestinale ulcerationer
<i>STXBP2/UNC13D/STX11</i>	AR/AD	δ-granuladefekt, familier hæmofagocytisk lymfocytose
<i>TBXAS1</i>	AR	Ghosals syndrom, osteopetrose, nedsat trombocytrespons på kollagen og AA
<i>VIPAS39/VIPAS33B</i>	AR	Artrogrypose, nyreinsufficiens, kolestase, δ-granuladefekt

AA = arakidonsyre; AD = autosomal dominant; ADP = adenosindifosfat; AR = autosomal recessiv; TRAP = trombinreceptoraktiverende peptid.

a) Det er angivet om der ses nedsat respons på trombocytagonister ved lystransmissionsaggregometri.

I det følgende gennemgås et udvalg af arvelige trombocyt sygdomme med kendt genetisk årsag. Bernard-Souliers syndrom (BSS) er karakteriseret ved manglende eller nedsat ekspresion af glykoproteinkomplekset GPIb-IX-V, hvilket medfører defekt trombocytadhæsion og -aggregation. BSS er associeret til varianter i *GP1BA*, *GP1BB* eller *GP9*, der koder for hver deres underenhed af komplekset. Patienterne har trombocytopeni, makrotrombocytter (som kan være på størrelse med erythrocytter) i perifert udstryk og svær blødningstendens [11]. Glanzmanns trombasteni (GT) skyldes varianter i *ITGA2B* eller *ITGB3*, der koder for trombocytens fibrinogenreceptor (GPIIb-IIIa), som medierer aggregation af aktiverede trombocytter. Patienterne har normalt trombocytantal og svær blødningstendens [12]. Gray platelet-syndrom er associeret til varianter i *NBEAL* og er karakteriseret ved grå og blege, »spøgesagtige« makrotrombocytter i perifert udstryk og manglende α-granula ved elektronmikroskopi. Blødningstendensen er varierende, og tilstanden kan være ledsaget af splenomegali, højt niveau af B<sub>12</sub>-vitamin, autoimmune lidelser og myelofibrose [13].

Sygdomme i relation til trombocytens δ-granula indgår ofte i komplekse tilstande, hvor andre cellers organeller også er afficeret. Herunder kan nævnes Hermansky-Pudlaks syndrom, som er associeret til varianter i ti forskellige HPS-gener. Syndromet viser sig i form af albinisme, mild til moderat blødningstendens og evt. pulmonal fibrose, inflammatorisk tarmsygdom, neutropeni og immundefekt, afhængigt af typen [14]. Transkriptionsfaktordefekter i *RUNX1*, *ETV6* og *ANKRD26* medfører alle trombocytopeni og er forbundet med øget risiko for hæmatologisk malignitet [9]. Cytoskeletdefekten Wiskott-Aldrichs syndrom medfører X-bunden mikrotrombocytopeni med øget risiko for intrakranielle blødninger, eksem og immundefekt [10]. *MYH-9* sygdomme er karakteriseret ved makrotrombocytopeni samt inklusionlegemer i leukocytterne (Döhle-legemer) og kan desuden vise sig i form af høretab, nyresvigt og katarakt [15].

## KLINISKE KONSEKVENSER AF KORREKT DIAGNOSTICERING

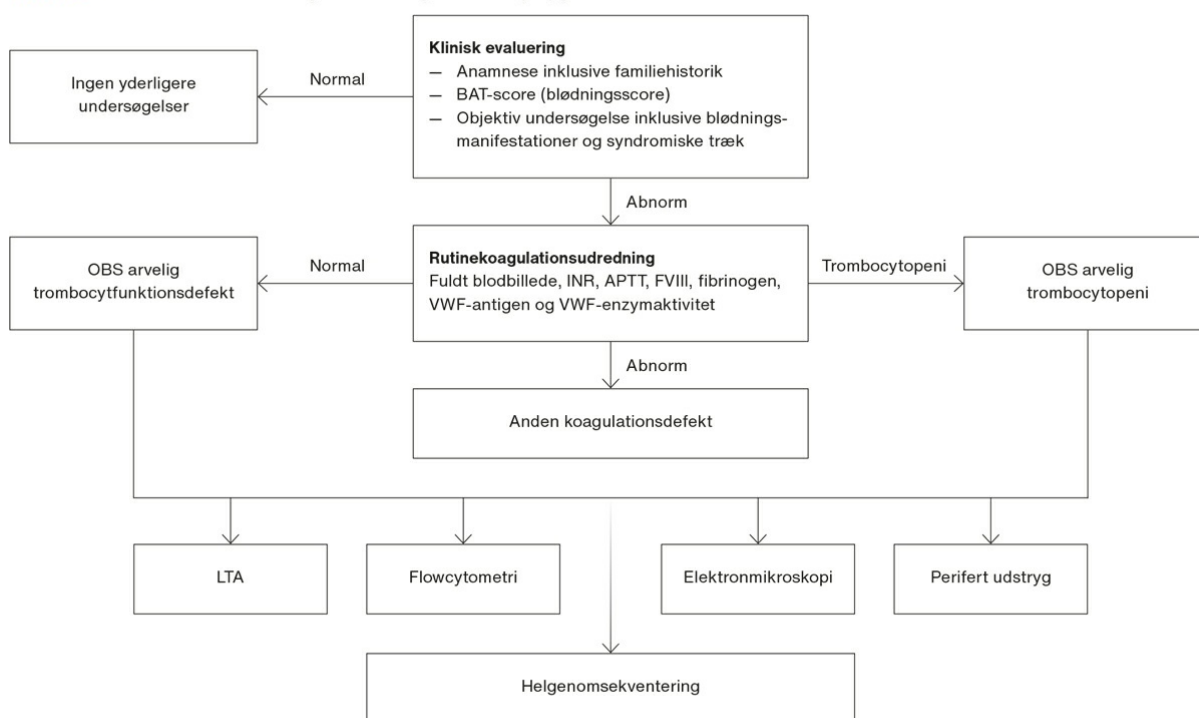
Livslang blødningstendens med gentagne mindre eller større blødninger samt kraftige menstruationer for kvinder kan have en stor indvirkning på patienternes livskvalitet [16], og de fleste patienter har et basalt behov for at kende årsagen til deres blødningstendens. Størstedelen af patienterne forbliver dog udiagnosticerede pga. manglende sygdomskendskab kombineret med manglende adgang til de nødvendige diagnostiske undersøgelser. Mange tilfælde bliver fejldiagnosticeret som immun trombocytopeni (ITP), og patienterne kan undergå unødvendig immunsupprimerende behandling, gentagne knoglemarvsundersøgelser eller endda splenektomi [9]. Det er dog essentielt at finde en korrekt diagnose for at kunne yde den optimale behandling. For *MYH-9*-associerede sygdomme kan iværksættelse af angiotensinkonverterende enzymhæmmer-behandling forebygge nyresvigt, og for patienter med øget risiko for hæmatologisk malignitet anbefales opfølgende blodprøvekontroller for at identificere udvikling af sekundær leukæmi. Kendskab til en sådan leukæmidisponerende variant kan desuden guide udvælgelsen af donor ved knoglemarvstransplantation. Ligeledes er viden om sygdommenes arvegegnede nødvendig for familierådgivning [17].

## UDREDNING OG DIAGNOSTIK AF ARVELIGE TROMBOCYTSYGDOMME

Man bør få mistanke arvelig trombocytosygdom hos patienter der har: 1) livslang trombocytopeni og familiehistorik med trombocytopeni, myelodysplasi eller leukæmi, 2) familiehistorik med mukokutan blødningstendens uanset trombocytaltal eller 3) en blødningstendens, der ikke er proportional med trombocytaltallet [18]. Diagnostikken af arvelige trombocytosygdomme udgør dog en vedvarende udfordring, da mange af analyserne er dårligt standardiserede, teknisk udfordrende og har lav reproducerbarhed [19].

Det første skridt mod en diagnose (**Figur 2**) er en grundig klinisk evaluering af patienten. Sværhedsgraden af patientens blødningstendens vurderes ved hjælp af bleeding assessment tool (BAT)-score [20]. Patienten spørges grundigt ind til blødningssymptomer fra 14 forskellige lokationer og scores efter blødningsepisodernes alvorlighed og behov for behandling. En signifikant BAT-score er defineret som  $> 3$  for mænd og  $> 5$  for kvinder. Anamnesen bør derudover omfatte indtag af trombocytthæmmende medicin og familiehistorik for blødning og hæmatologisk malignitet. Ved den kliniske undersøgelse vurderes blødningsmanifestationer (hæmatomer, petekkier mv.) samt tilstedeværelse af syndromiske præg. Ved fund af enten abnorm BAT-score og/eller klinisk undersøgelse laves en standardkoagulationsudredning.

**FIGUR 2** Flow chart for udredningen af arvelige trombocytsygdomme.



APTT = aktiveret partiel tromboplastintid; BAT = bleeding assessment tool; FVIII = koagulationsfaktor VIII; INR = koagulationsfaktor II, VII og X; LTA = lystransmissionsaggregometri; VWF = von Willebrand-faktor.

Hvis standardudredningen er normal, bør patienten udredes for arvelig trombocytsygdom, hvor guldstandarder inkluderer perifert udstryg, lystransmissionsaggregometri (LTA) og flowcytometri [21]. Perifert udstryg kan give information om trombocytstørrelse og -morfologi. Vha. LTA vurderes trombocytfunktionen ved at måle transmissionen af lys igennem en suspension af trombocytter, som øges, når trombocytterne aggregerer i respons på stimulering med forskellige agonister [22]. Med flowcytometri er det muligt at måle ekspresion af overfladeproteiner, indhold af  $\alpha$ - og  $\delta$ -granula og prokoagulant aktivitet [23]. Yderligere undersøgelser omfatter elektronmikroskopi til vurdering af strukturelle forandringer og  $\alpha$ - og  $\delta$ -granula indhold [21]. Sidste led i diagnostikken er genetisk udredning, som vi uddyber nedenfor.

## HELGENOMSEKVENTERING TIL DIAGNOSTIK AF ARVELIGE TROMBOCYTSYGDOMME

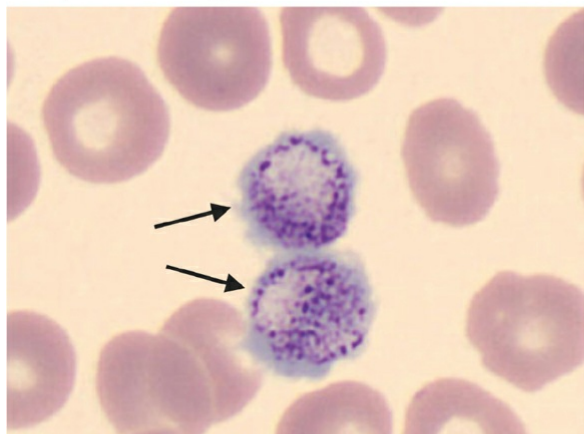
Den hastige udvikling inden for sekventeringsteknologier har betydet, at man ved en helgenomanalyse (WGS) nu kan kortlægge alle tre milliarder basepar, som udgør en patients arvmasse, på mindre end en uge. Tidligere anvendtes enkeltgenanalyser (Sangersekventering) eller genpaneler bestående af udvalgte gener. Fordelen ved at anvende WGS er, at varianter i genomets ikkekodende og regulatoriske områder også kan identificeres [24]. Patienter med arvelige trombocytsygdomme tilbydes i mange lande protokolleret udredning med WGS [5, 25, 26], hvilket vi også har gjort i Øresundsregionen siden 2015 [27]. Fremover bliver WGS-diagnostik af arvelige trombocytsygdomme muligt i både Øst- og Vestdanmark, idet arvelig hæmatologisk sygdom netop er udvalgt af Nationalt Genom Center (NGC: <https://ngc.dk/>) som en af de første sygdomsgrupper, hvor patienterne bør udredes via den nationale infrastruktur.

WGS-data filtreres til et opdateret in silico-genpanel, og til dette formål udgiver International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) årligt en opdateret liste over sygdomsdisponerende gener [8]. Når listen opdateres, er det altid muligt at reanalysere data og udvide antallet af gener og områder, der analyseres. Det er vigtigt, at patienten informeres grundigt om WGS-proceduren og de mulige konsekvenser af testresultatet. Alle

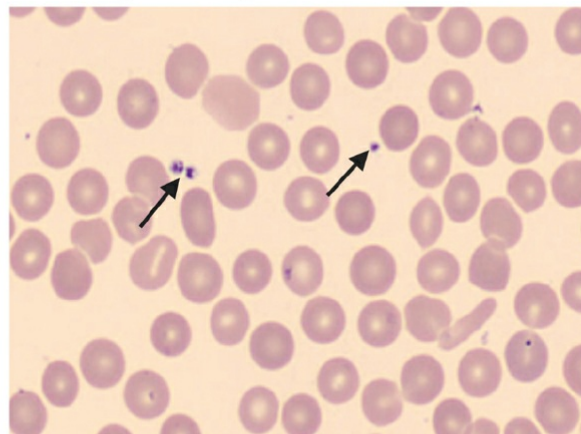
identificerede varianter klassificeres i henhold til American College of Medical Genetics (ACMG) guidelines (klasse 1-5; 1: benign, 2: formodentlig benign, 3: ukendt betydning, 4: formodentlig patogen, 5: patogen) [28] og genotype-fænotype-forhold drøftes ved en multidisciplinær team (MDT) konference. Ved fund af klasse 3-varianter diskuteres mulige funktionelle undersøgelser, der kan bidrage til at bestemme den kliniske betydning af varianten.

WGS har markant forbedret det diagnostiske udfald for patienter med arvelige trombocytopenier, hvor en diagnose kan stilles hos ca. 50% [29, 30]. Hos patienter med et normalt trombocytaltal er det dog kun omkring 10-20%, der opnår en diagnose [27]. Ved tilstedeværelse af veldefinerede syndromiske træk eller højt specialiserede laboratorieanalyser forenelige med trombocyt funktionsdefekt, øges sandsynligheden for at opnå en diagnose [29]. Af denne grund er det vigtigt, at patienter, hvor man har mistanke om arvelig trombocyt sygdom, henvises til højt specialiserede centre.

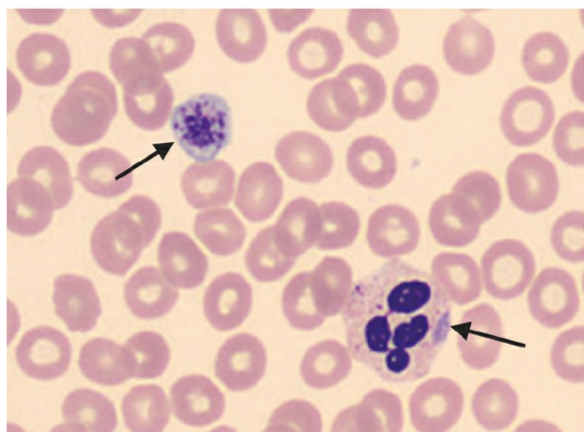
**Bernard-Souliers syndrom.** Giant platelets på størrelse med erythrocytter hos en patient med homozygot variant i *GP9*.



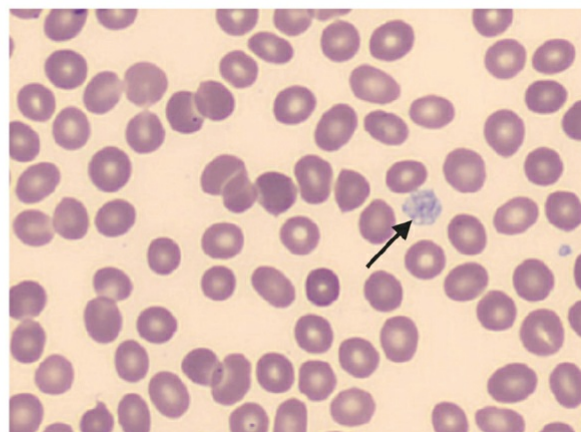
**X-bunden trombocytopeni** hos en patient med *WAS*-variant og mikrotrombocytter.



**MYH9-associeret trombocytopeni.** Makrotrombocyt og inklusionslegeme (Döhle-legeme) i leukocyt hos en patient med variant i *MYH9*.



**Gray platelet-syndrom** med blege trombocytter hos en patient med homozygot variant i *NBEAL2*.



Eksempler på perifere udstryk ved forskellige arvelige trombocyt sygdomme.

## BEHANDLING

Generelt er de terapeutiske muligheder for behandling af blødningssymptomer ved arvelige trombocyt sygdomme begrænsede og inkluderer desmopressin, trombocyttransfusioner, rekombinant FVIIa og antifibrinolytika. Resultatet af genetisk udredning har ikke på nuværende tidspunkt væsentlig betydning for den direkte blødningsbehandling.

## PERSPEKTIVER

Implementering af WGS har revolutioneret diagnostikken af arvelige trombocytsygdomme ved at identificere stribevis af nye gener og derved muliggjort, at langt flere patienter kan få en specifik diagnose. På grund af de komplekse forhold vedrørende trombocytfunktionen er den genetiske baggrund dog fortsat ukendt for hovedparten af arvelige trombocytsygdomme. Der er derfor behov for at udbrede kendskabet til disse sygdomme og dele viden om nye genetiske varianter [8], så patienterne på sigt kan få målrettet behandling.

**Korrespondance** *Nanna Brøns*. E-mail: [nanna.broens@regionh.dk](mailto:nanna.broens@regionh.dk)

**Antaget** 24. juni 2021

**Publiceret på ugeskriftet.dk** 18. oktober 2021

**Interessekonflikter** ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på [ugeskriftet.dk](https://www.ugeskriftet.dk)

**Referencer** findes i artiklen på [ugeskriftet.dk](https://www.ugeskriftet.dk)

**Artikelreference** *Ugeskr Læger* 2021;183:V02210176

## SUMMARY

### Inherited platelet disorders

Nanna Brøns, Maria Rossing & Eva Birgitte Leinøe

*Ugeskr Læger* 2021;183:V02210176

Inherited platelet disorders (IPD) cover a heterogenous group of disorders with large differences in severity, disease mechanisms and prevalence. Pathogenic variants in more than 60 different genes, associated with megakaryocyte or platelet number and/or function, are causal of IPD. Due to disease heterogeneity IPDs are often difficult to diagnose, problematic to manage and underestimated. In the past decade, genetic diagnostics using whole-genome sequencing has revolutionised the field by identifying numerous novel genes involved in IPD aetiology as described in this review.

## REFERENCER

1. Nurden AT, Freson K, Seligsohn U. Inherited platelet disorders. *Haemophilia* 2012;18(suppl 4):154-60.
2. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer Metastasis Rev* 2017;36:195-8.
3. Hoffman M, Monroe DM. A cell-based model of hemostasis. *Thromb Haemost* 2001;85:958-65.
4. Gremmel T, Frelinger AL 3rd, Michelson AD. Platelet physiology. *Semin Thromb Hemost* 2016;42:191-204.
5. Westbury SK, Turro E, Greene D et al. Human phenotype ontology annotation and cluster analysis to unravel genetic defects in 707 cases with unexplained bleeding and platelet disorders. *Genome Med* 2015;7:36.
6. Maclachlan A, Watson SP, Morgan NV. Inherited platelet disorders: Insight from platelet genomics using next-generation sequencing. *Platelets* 2017;28:14-9.
7. Oved JH, Lambert MP, Kowalska MA et al. Population based frequency of naturally occurring loss-of-function variants in genes associated with platelet disorders. *J Thromb Haemost* 2021;19:248-54.
8. Megy K, Downes K, Simeoni I et al. Curated disease-causing genes for bleeding, thrombotic, and platelet disorders: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2019;17:1253-60.
9. Nurden AT, Nurden P. Inherited thrombocytopenias: history, advances and perspectives. *Haematologica* 2020;105:2004-19.
10. Bolton-Maggs PHB, Chalmers EA, Collins PW et al. A review of inherited platelet disorders with guidelines for their management on behalf of the UKHCDO. *Br J Haematol* 2006;135:603-33.
11. Savoia A, Kunishima S, De Rocco D et al. Spectrum of the mutations in bernard-soulier syndrome. *Hum Mutat* 2014;35:1033-



- 45.
12. Nurden AT. Glanzmann thrombasthenia. *Orphanet J Rare Dis* 2006;1:10.
  13. Pluthero FG, Di Paola J, Carcao MD, et al. NBEAL2 mutations and bleeding in patients with gray platelet syndrome. *Platelets* 2018;29:632-5.
  14. Merideth MA, Introne WJ, Wang JA et al. Genetic variants associated with Hermansky-Pudlak syndrome. *Platelets* 2020;31:544-7.
  15. Seri M, Pecci A, Di Bari F et al. MYH9-related disease. *Medicine (Baltimore)* 2003;82:203-15.
  16. Presky KO, Kadir RA. Women with inherited bleeding disorders – challenges and strategies for improved care. *Thromb Res* 2020;196:569-78.
  17. Downes K, Borry P, Ericson K et al. Clinical management, ethics and informed consent related to multi-gene panel-based high throughput sequencing testing for platelet disorders: Communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2020;18:2751-8.
  18. Lambert MP. What to do when you suspect an inherited platelet disorder. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:377-83.
  19. Lassila R. Platelet function tests in bleeding disorders. *Semin Thromb Hemost* 2016;42:185-90.
  20. Rodeghiero F, Tosi A, Abshire T et al. ISTH/SSC bleeding assessment tool: a standardized questionnaire and a proposal for a new bleeding score for inherited bleeding disorders. *J Thromb Haemost* 2010;8:2063-5.
  21. Gesele P, Harrison P, Gachet C et al. Diagnosis of inherited platelet function disorders: Guidance from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2015;13:314-22.
  22. Cattaneo M, Cerletti C, Harrison P et al. Recommendations for the standardization of light transmission aggregometry: a consensus of the working party from the platelet physiology subcommittee of SSC/ISTH. *J Thromb Haemost* 2013;11:1183-9.
  23. Vinholt PJ, Frederiksen H, Hvas A-M et al. Measurement of platelet aggregation, independently of patient platelet count: a flow-cytometric approach. *J Thromb Haemost* 2017;15:1191-202.
  24. Simeoni I, Stephens JC, Hu F et al. A high-throughput sequencing test for diagnosing inherited bleeding, thrombotic, and platelet disorders. *Blood* 2016;127:2791-803.
  25. Bastida JM, Lozano ML, Benito R et al. Introducing high-throughput sequencing into mainstream genetic diagnosis practice in inherited platelet disorders. *Haematologica* 2018;103:148-62.
  26. Johnson B, Lowe GC, Futterer J et al. Whole exome sequencing identifies genetic variants in inherited thrombocytopenia with secondary qualitative function defects. *Haematologica* 2016;101:1170-9.
  27. Leinøe E, Zetterberg E, Kinalis S et al. Application of whole-exome sequencing to direct the specific functional testing and diagnosis of rare inherited bleeding disorders in patients from the Öresund Region, Scandinavia. *Br J Haematol* 2017;179:308-22.
  28. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015;17:405-24.
  29. Downes K, Megy K, Duarte D et al. Diagnostic high-throughput sequencing of 2396 patients with bleeding, thrombotic, and platelet disorders. *Blood* 2019;134:2082-91.
  30. Leinøe E, Gabrielaite M, Østrup O et al. Outcome of an enhanced diagnostic pipeline for patients suspected of inherited thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2019;186:373-6.