

P38

## Variación del proteoma de las micropartículas plaquetarias dependiendo del estímulo: papel de las proteínas de señalización

Isaac Rosa<sup>1,2</sup>, Andrés F. Parguñña<sup>1,2</sup>, Ela Shai<sup>3</sup>, David Varon<sup>3</sup>, Ángel García<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Farmacología, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España; <sup>2</sup>Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España; <sup>3</sup>Coagulation Unit, Hadassah-Hebrew University Medical Center, Jerusalem, Israel

[angel.garcia@usc.es](mailto:angel.garcia@usc.es)

Las micropartículas derivadas de plaquetas (PMPs) están elevadas en distintas patologías (ej. enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer). Estudios recientes sugieren que las PMPs son heterogéneas y muy dependientes del mecanismo de activación. Para estudiar esta cuestión, hemos llevado a cabo un análisis proteómico diferencial de PMPs originadas tras activación plaquetaria con diferentes estímulos.

Las PMPs se obtuvieron por ultracentrifugación tras activación con trombina (0.5 U/ml) o por estrés de tensión cortante (*shear stress*, 1800s<sup>-1</sup>). Las PMPs se cuantificaron mediante citometría de flujo y su proteoma se analizó utilizando electroforesis bidimensional de alta resolución y espectrometría de masas. Los geles se tiñeron con Sypro Ruby. El análisis de imagen se realizó con el software Ludesi REDFIN 3 y las proteínas reguladas diferencialmente (cambios de expresión de al menos 1,5 y  $p < 0,05$ ) fueron identificadas mediante espectrometría de masas. Las validaciones se hicieron mediante western blot. Las potenciales interacciones proteicas se analizaron mediante el software Ingenuity Pathway Analysis (IPA).

Se detectaron sobre 2200 spots por gel de los cuales 30 estaban expresados diferencialmente en la región de pl 4-7. Se identificaron 28 de ellos correspondientes a 26 proteínas únicas. Las proteínas de señalización constituyeron el grupo más importante, conteniendo receptores de membrana y proteínas adaptadoras. El análisis mediante IPA reveló que 21 de las 26 proteínas formaban parte de una red relacionada con ensamblaje, morfología y organización celular. Las validaciones confirmaron la expresión diferencial de la proteína adaptadora Dok-2 y la integrina alpha-6, ambas implicadas en la regulación de la angiogénesis, lo que podría indicar que tuviesen un papel en la regulación de la función de las células endoteliales llevada a cabo por las PMPs.

En conclusión, este estudio demuestra que las plaquetas liberan micropartículas en diferente cantidad y con diferente proteoma dependiendo del estímulo de activación.