

## POLIMORFISMO Q43P DEL GEN DE LA TUBULINA $\beta$ 1: EFECTO SOBRE NIVELES DE ARNm Y PROTEÍNA E IMPLICACIONES MORFOLÓGICAS Y ULTRAESTRUCTURALES EN PLAQUETAS

L. Navarro-Núñez<sup>a</sup>, M.L. Lozano<sup>a</sup>, J. Rivera<sup>a</sup>, J. Marín<sup>b</sup>, J.A. Iniesta<sup>b</sup>, V. Vicente<sup>a</sup>, C. Martínez<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Centro Regional de Hemodonación, Universidad de Murcia. <sup>b</sup>Servicio de Neurología, Hospital Reina Sofía, Murcia

**Introducción:** Las plaquetas expresan principalmente 3 clases de tubulina  $\beta$ b (I, II y VI [o  $\beta$ b1]), siendo la  $\beta$ b1 mayoritaria y específica de megacariocitos y plaquetas. La tubulina  $\beta$ b1 es componente de la banda marginal plaquetaria y está implicada en el tránsito de gránulos desde el megacariocito a la plaqueta. En un único estudio, el polimorfismo Q43P de la tubulina  $\beta$ b1 (TUBB1 Q43P) se asoció a una disminución de niveles de proteína de causa desconocida y a la pérdida de la forma discoide en el 50% de las plaquetas en sujetos heterocigotos. Estas características justifican su papel protector frente a enfermedad cardiovascular y como factor de riesgo en hemorragia intracerebral en hombres.

**Objetivo:** Nuestro objetivo fue determinar los niveles de diferentes clases de tubulina en sujetos con TUBB1 Q43P y establecer sus posibles implicaciones morfológicas en plaquetas.

**Métodos:** Se obtuvieron muestras de plaquetas de individuos sanos de genotipo Q43P conocido (3 Q/Q, 3 Q/P, 1 P/P). Se realizó recuento plaquetario en sangre total. Los niveles de las diferentes tubulinas ( $\beta$ b1,  $\beta$ b clase I, y  $\beta$ a) así como de tubulina  $\beta$ b total fueron medidos con anticuerpos específicos mediante densitometría. Los niveles de ARNm de tubulina  $\beta$ b1 se cuantificaron mediante RT-PCR. La morfología y la ultraestructura plaquetaria se determinaron mediante microscopía electrónica e inmunofluorescencia. El recuento plaquetario (plaq./mL) destacó por una ligera reducción en el sujeto P/P (Q/Q: 254100 $\pm$ 43600, Q/P: 266800 $\pm$  75100, P/P: 143000).

**Resultados:** La densitometría mostró una disminución del 35-45% en los niveles de tubulina  $\beta$ b1 y tubulina  $\beta$ b total en portadores heterocigotos y del 70 % en el sujeto P/P. No se observaron cambios en la expresión de tubulina  $\beta$ b clase I y tubulina  $\beta$ a en función del genotipo. Los estudios de RT-PCR revelaron una disminución media del 45% en el ARNm de tubulina  $\beta$ b1 en sujetos Q/P y del 80% en el sujeto P/P, respecto a los Q/Q. Contrariamente a lo esperado, los estudios de microscopía en el sujeto P/P mostraron la presencia de sólo una minoría de plaquetas esféricas. La observación de un menor recuento plaquetario en el sujeto homocigoto es coherente con los estudios en ratones deficientes en tubulina  $\beta$ b1, que muestran trombopenia, y sugiere un efecto moderado de este polimorfismo en la trombopoyesis.

**Conclusión:** El polimorfismo TUBB1 Q43P condiciona la disminución en los niveles de ARNm, por menor estabilidad del ARNm o ligamiento con otra alteración genética responsable de una baja eficiencia transcripcional. Esto justifica los bajos niveles de proteína en portadores del alelo P43. Aunque esta disminución no es compensada por una mayor expresión de tubulina  $\beta$ b clase I, parece insuficiente para desestabilizar la banda marginal y provocar la pérdida de la forma discoide plaquetaria. Premio FEHH-FETH NOVO NORDISK 2006