

PROTEOMICA COMO METODOLOGÍA PARA EL ESTUDIO DE PERFILES Y DIANAS EN LA LLC-B. ANÁLISIS DE RESULTADOS

M. Marín^{a,b}, E. Jantus^c, C. Reinoso^c, L. Sanz^b, R. Farras^c, J.J. Calvete^b y J. García-Conde^c

^aHospital Clínico Universitario de Valencia, Universidad de Valencia. Valencia, España. ^bInstituto de Biomedicina de Valencia, CSIC, Valencia, España. ^cCentro de Investigación Príncipe Felipe. Valencia, España.

Introducción: La leucemia linfática crónica B (LLC-B) es el síndrome linfoproliferativo crónico más frecuente en los países occidentales. Se han identificado diversos factores pronóstico, como son las mutaciones en la región variable del gen de las inmunoglobulinas IgVH, mutaciones somáticas del gen BCL6 en un 20-25% de los casos, o el nivel de expresión de los marcadores de superficie CD38 y ZAP70. La combinación de la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas permite, por un lado, la determinación de aquellas proteínas con expresión diferencial entre grupos de pacientes y su identificación de manera inequívoca. Nuestro objetivo es caracterizar el perfil proteómico de grupos de pacientes con LLC-B. El conocimiento de las alteraciones moleculares asociadas contribuirá a una catalogación más rigurosa de estos grupos.

Material y métodos: Hemos estudiado muestras de 39 pacientes de LLC-B, 10 con mutaciones en IgVH y BCL6, 14 sin mutaciones y 15 con mutaciones en IgVH pero no en BCL6. La expresión de CD38 y ZAP 70 era elevada en 12 y 15 pacientes, respectivamente. 100 µg de proteínas totales de linfocitos B fueron separadas mediante electroforesis 2D (isoelectroenfoque y SDS-PAGE). La adquisición y el análisis comparativo de las imágenes de los geles se realizó utilizando el programa LUDESI (www.ludesi.com). Las bandas de proteínas con expresión diferencial fueron escindidas, sometidas a digestión triptica automatizada e identificadas mediante combinación de huella peptídica por MALDI-TOF MS (Voyager DE-Pro) y secuenciación de iones peptídicos seleccionados mediante disociación inducida por colisión (CID) con un espectrómetro ESI-QTrap.

Resultados: La aplicación de la tecnología proteómica al estudio de la LLC-B ha permitido determinar la existencia de 72 proteínas con expresión diferencial. Las comparaciones entre grupos de pacientes en función de los estados mutacionales de IgVH y BCL6 evidenciaron 43 proteínas que variaban su expresión, mientras que cuando la comparación se realizó en función del nivel de expresión de los marcadores CD38 y ZAP70 se obtuvieron 29 proteínas cuya expresión diferencial era estadísticamente significativa. En conjunto, hemos identificado 36 de las 72 proteínas, entre las que cabe destacar vimentina, L-lactato deshidrogenasa (LDH) y calgranulina B.

Conclusiones: La aplicación de la proteómica al estudio de la patología molecular de los pacientes con LLC-B ha permitido la identificación de proteínas con expresión diferencial en cada uno de los diferentes grupos de pacientes. La identificación y posterior validación de este conjunto de proteínas es relevante para proponer posibles marcadores moleculares de diagnóstico, pronóstico o evolución de la enfermedad.