

Сниженная экспрессия ZO-1 – неблагоприятный прогностический признак при хроническом лимфолейкозе

Стрыгин А.В.^{1,2}, Несмиянов П.П.¹, Доценко А.М.^{1,2}, Капланов К.Д.^{1,2,4}, Морковин Е.И.^{1,2,3}
¹ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, ²ГБУ «ВМНЦ», ³НИИ фармакологии ВолгГМУ, ⁴ГБУЗ «ВОКОД»

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что щелевые контакты могут играть существенную роль в устойчивости клеток хронического лимфолейкоза к различным химиотерапевтическим агентам. О количестве подобных контактов между клетками можно судить по экспрессии главного компонента щелевых контактов – коннексина Сх43, из которого состоят трансмембранные каналы, обеспечивающие плотный контакт между клетками. Экспрессия коннексинов и ряда близких к ним по функциям и природе молекул могут выступать в роли прогностических маркеров при некоторых лимфопролиферативных заболеваниях.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить экспрессию коннексина Сх43 и взаимодействующего с ним белка ZO-1 в клональных В-лимфоцитах, выделенных из крови пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ). Сопоставить экспрессию данных факторов с известными прогностическими маркерами – Zap-70 и CD38.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования являлись В-лимфоциты 113 пациентов с ХЛЛ. В качестве контрольной группы использованы В-лимфоциты 20 здоровых добровольцев в возрасте 45–70 лет. Лимфоциты выделяли методом дифференциального центрифугирования в градиенте плотности Фиколл-Гипак. Экспрессию Сх43 и ZO-1 определяли методом Вестерн-блоттинга. Экспрессию Zap-70 и CD38 оценивалась методом проточной цитометрии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Отмечено, что экспрессия Сх43 и ZO-1 различается у пациентов с различным прогнозом ХЛЛ и отрицательно коррелирует с экспрессией Zap-70 и CD38 ($r = -0,74$ и $r = -0,86$ соответственно, $p < 0,05$ в обоих случаях). У пациентов с ХЛЛ экспрессия ZO-1 и Сх43 были статистически значимо снижены по сравнению с показателями, полученными у здоровых добровольцев, в 2 и 4 раза соответственно ($p < 0,05$ и $p < 0,01$ соответственно). У пациентов с повышенной экспрессией ZO-1 выше продолжительность периода до начала терапии (на 1,5–3 мес., $p < 0,05$). Экспрессия ZO-1 коррелировала со стадией ХЛЛ по Binett. В случаях с низкой экспрессией ZO-1 отмечена повышенная экспрессия CD38 и Zap-70, а также снижение частоты спонтанного апоптоза на 30% ($p < 0,05$).

ВЫВОД

Представленные данные позволяют рассматривать ZO-1, как возможный перспективный прогностический маркер при ХЛЛ.

Табл. 1. Экспрессия ZO-1 в соответствии с клиническими стадиями по классификации Binet

Стадия по классификации Binet	Экспрессия ZO-1	
	Высокая (в пределах 3SD нормального распределения)	Низкая (ниже 3SD нормального распределения)
A	19	14
B	22	18
C	13	27

Табл. 2. Фенотипические различия при В-ХЛЛ

Фенотип	Количество случаев	Фенотип	Количество случаев
CD38+/Zap70+/ZO-1high	1	CD38+/Zap70+/ZO-1high	13
CD38+/Zap70-/ZO-1high	6	CD38+/Zap70-/ZO-1high	8
CD38-/Zap70+/ZO-1high	8	CD38-/Zap70+/ZO-1high	31
CD38-/Zap70-/ZO-1high	39	CD38-/Zap70-/ZO-1high	7
Всего	54 (48%)	Всего	59 (52%)

Рис. 1. А. Вестерн блот анализ экспрессии ZO-1 и Сх43 лимфоцитов В. Относительные плотности полос для экспрессии Сх43 С. Относительные плотности полос для экспрессии ZO-1 *, ** – $p = 0,008$

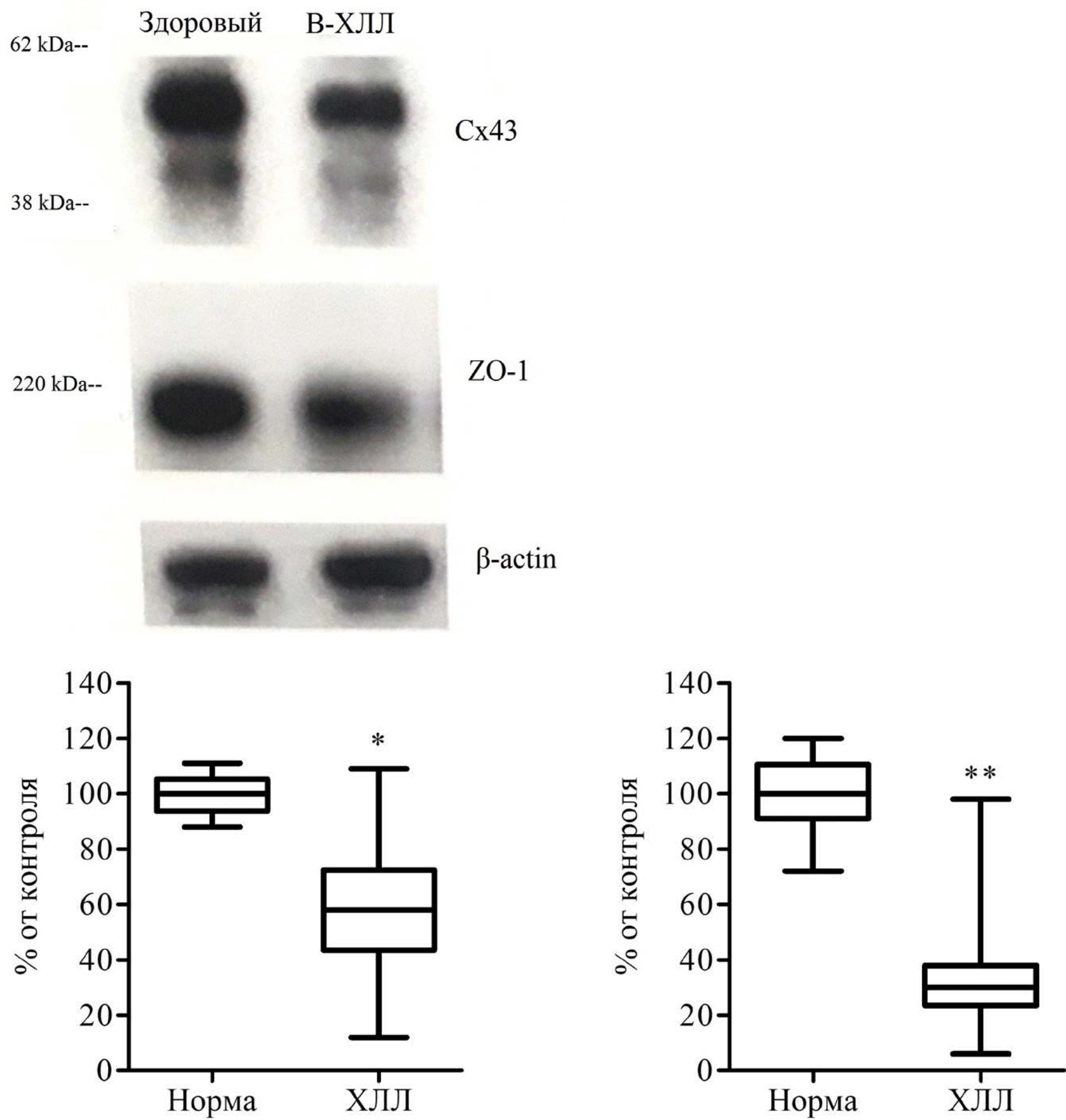


Рис. 2. Анализ методом проточной цитометрии экспрессии Fas (CD 95) и связывания аннексина V в нормальных клетках и В-ХЛЛ клетках.

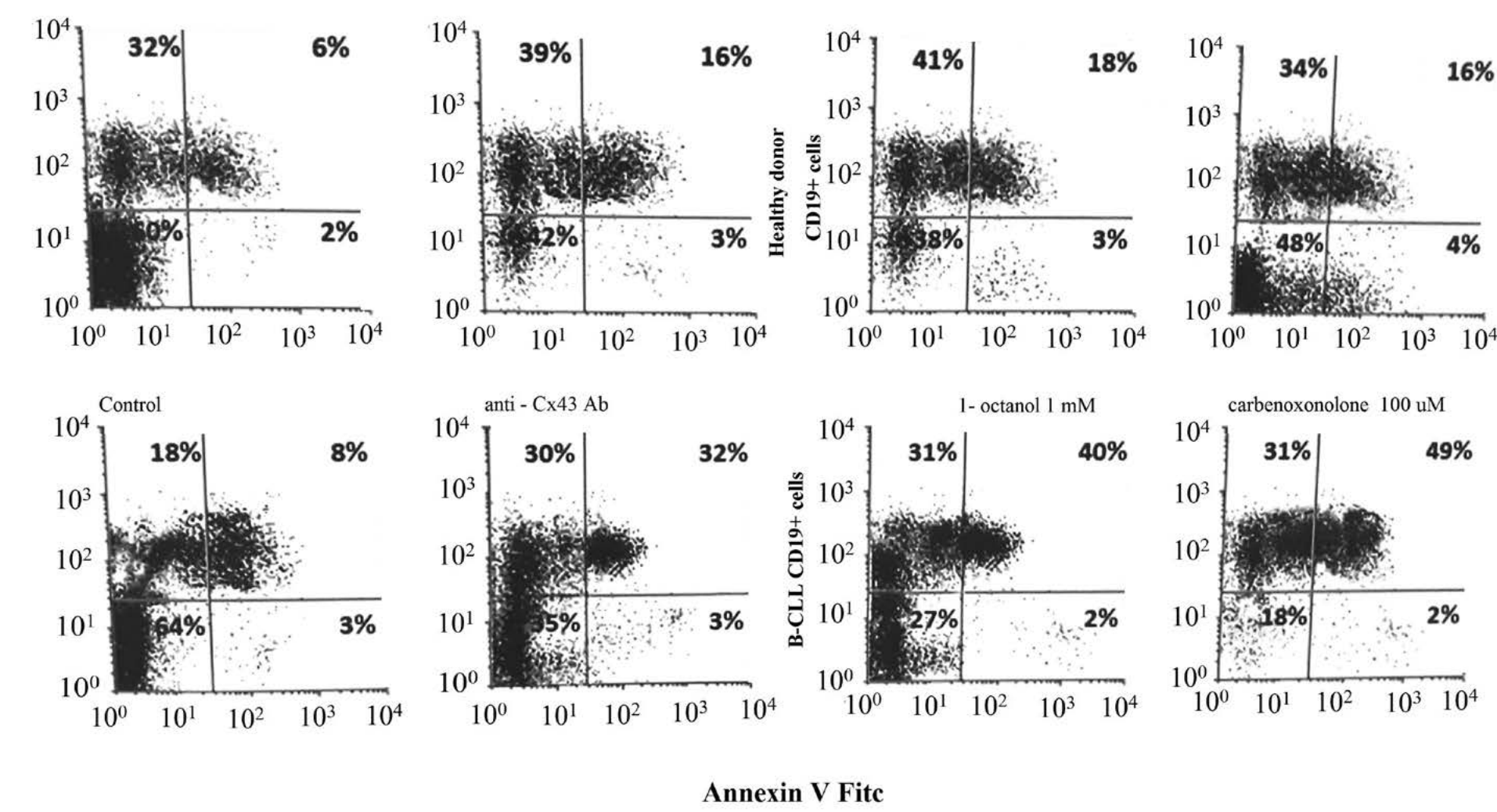


Рис. 3. График Каплан-Майера, сопоставляющий периоды времени от постановки диагноза до химиотерапии у пациентов, в соответствии с экспрессией CD38 / Zap70. А. Нормальная экспрессия ZO-1 В. Низкая экспрессия ZO-1

