

## ESTUDIO RETROSPECTIVO DE ZAP-70, EXPRESADO COMO INTENSIDAD MEDIA DE FLUORESCENCIA NORMALIZADA, EN PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA B EN ESTADIO A DE BINET

C. Palacio, L. Gallur, R. González, M. Solsona, A. Palacios<sup>b</sup>, A. López<sup>b</sup>.

Hospital Universitari Vall d'Hebron. <sup>a</sup> Laboratoris Clínics. Hematologia. <sup>b</sup> Servei d'Hematologia Clínica

**Introducción:** ZAP-70 es una proteína tirosina-quinasa implicada en la señalización celular mediada por el receptor de los linfocitos T. Los linfocitos leucémicos de un subgrupo de pacientes con leucemia linfática crónica B (LLC-B) expresan ZAP-70 relacionándose con la presencia de hipermutaciones somáticas de IgVH y con una evolución clínica peor. El método habitual de detección de ZAP-70 es la citometría de flujo. Los primeros estudios, realizados con técnicas de inmunofluorescencia indirecta, coinciden en el punto de corte óptimo entre ZAP-70+ y ZAP-70- (20%). La introducción de nuevos anticuerpos monoclonales anti-ZAP-70 conjugados ha facilitado técnicamente el estudio, pero a la vez ha producido resultados discordantes. Existe controversia sobre cuál es la metodología del análisis y la forma de expresión de los resultados más adecuadas.

**Pacientes y método:** Se estudian retrospectivamente 92 pacientes diagnosticados de LLC-B en estadio A de Binet entre Noviembre de 1978 y Diciembre de 2006 (56 varones y 39 mujeres). Se excluyeron los pacientes que antes del análisis del ZAP-70 habían recibido tratamientos con análogos de las purinas, anticuerpos monoclonales o trasplante de progenitores hemopoyéticos. Quince pacientes (16,3%) habían recibido tratamiento oral con alquilantes por primera vez una media de 55 meses antes del estudio (entre 8 y 218 meses). Se valoraron las siguientes variables: tiempo de duplicación linfocitario, LDH,  $\beta_2$ -microglobulina, timidina-quinasa1 (TK1), citogenética estudiada por FISH (CG), CD38 y ZAP-70. Para el estudio de ZAP-70, se marcan los leucocitos con anti-CD56-PE, CD3-ECD y CD19-PC5 (Beckman-Coulter<sup>tm</sup>), se permeabilizan con BD-FACS Permeabilizing Solution<sup>tm</sup> y después se incuban con anti-ZAP-70 conjugado con Alexa-Flúor 488 (clon 1E7.2, Caltag<sup>tm</sup>) o con su control isotópico. Las muestras se adquirieron en un citómetro de flujo EPICS (Beckman-Coulter<sup>tm</sup>). El análisis se hizo midiendo en los linfocitos B (CD19<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD56<sup>-</sup>) la intensidad media de fluorescencia (MFI) de ZAP-70 y de su control isotópico, y calculando la MFIn (MFIn = MFI ZAP-70/ MFI control isotópico).

**Resultados:** El 24.3% (17 de 70) presentaban CG de mal pronóstico (17p- y/o 11q-). La media de MFIn fue de 2.07 (rango: 1-3.81). El punto de corte óptimo estimado en función de la supervivencia libre de progresión (SLP) fue de 2.4 (máximo log-rank, p: 0.020). Aplicando este punto de corte se consideró ZAP-70+ cuándo MFIn  $\geq$  2.4. El 30% de los pacientes fueron ZAP70+ con una mediana de SLP de 39 meses (IC 95%: 27.2 a 50.8 m). En este grupo el 75% de los pacientes progresan a los 50 m del diagnóstico (IC 95%: 47.2 a 55.2 m). El 70% fueron ZAP-70- con una mediana de SLP no alcanzada. En el estudio multivariante sólo ZAP-70+ (MFIn) (p: 0.002) y TK1 elevada (p < 0.001) se asociaron a peor SLP.

**Conclusión:** ZAP-70 medido como MFIn tiene valor pronóstico independiente en pacientes con LLC-B en estadio A de Binet.