

IMUNOHISTOCHEMICKÁ DETEKCIA PROTEÍNU ZAP-70 A JEJ VÝZNAM V DIAGNOSTIKE B-CLL

Urbánová A.¹, Janega P.^{1,2}, Masárová K.³, Štefániková Z.³, Babál P.¹

¹Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

²Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

³Klinika hematológie a transfúziológie, Fakultná nemocnica s poliklinikou, pracovisko sv. Cyrila a Metoda, Bratislava, Slovenská republika

Souhrn

Chronická B-lymfocytová leukémia (B-CLL) je jedna z najčastejších chorôb lymfatického systému u dospelých pacientov. Je známa rôznorodým klinickým priebehom – od benígnych až po infaustné formy. Pre spresnenie diagnózy a určenie správnej terapie sú potrebné spoľahlivé prognostické markery. Perspektívnym sa ukázal byť proteín ZAP-70, ktorý môže byť vo zvýšenej miere exprimovaný leukemickými bunkami pacientov s B-CLL. Dáva sa do súvisu s horšou prognózou pacienta vyžadujúcou intenzívnejšiu terapiu už v začiatočných štádiách.

Základ prezentovanej štúdie tvorilo 20 prípadov biopsií kostnej drene od pacientov s diagnostikovanou B-CLL a 20 kontrolných prípadov bez nádorovej transformácie. Pri spracovaní materiálu bol okrem štandardnej imunohistochemickej metódy využitý aj amplifikačný systém (firmy DakoCytomation®). Výsledok bol hodnotený semikvantitatívne; ako negatívny (menej ako 5 % pozitívnych leukemických buniek), pozitívny (viac ako 30 % pozitívnych leukemických buniek) a nepravidelne pozitívny (medzi 5 % a 30 % pozitívnych leukemických buniek) a následne korelovaný s klinickým hodnotením prognózy pacienta. Výsledok pozitivity bol kontrolovaný aj morfológickou analýzou, určením plochy pozitivity markera ZAP-70 voči celkovej ploche jadier v preparáte. V kontrolných prípadoch bola pozorovaná pozitívita markera ZAP-70 viazaná čisto na T-lymfocyty. Miera jadrovej pozitivity proteínu ZAP-70 pozorovaná v transformovaných B-lymfocytoch vykazovala signifikantnú súvislosť s horšou klinickou prognózou pacienta v prípadoch ak bola hodnotená ako jednoznačne pozitívna, resp. negatívna pri oboch spôsoboch spracovania preparátu. Prípady s nepravidelnou pozitivitou nevykazovali jednoznačnú klinickú koreláciu. Použitie amplifikačného systému s možnosťou využiť nižšiu koncentráciu primárnej protilátky a potlačiť pozitívitu pozadia, zvýšilo kontrast nálezů a redukovalo počet prípadov s hodnotenou nepravidelnou pozitivitou z 30 % (pri bežnom imunohistochemickom spracovaní) na 10 %. Možno konštatovať, že ZAP-70 predstavuje hodnotný prognostický marker chronickej B-lymfocytovej leukémie. Jeho hodnotenie pomocou imunohistochemie je vhodnou metódou pre klinickú prax. Problematickým sa však stáva hodnotenie hranične a nepravidelne pozitívnych prípadov, pri ktorých môže byť nápomocným využitie histochemického amplifikačného systému. Minimalizácia výskytu falošnej pozitivity, resp. negativity vyžaduje striktné kritériá pri hodnotení nálezů.

Kľúčové slová: chronická B-lymfocytová leukémia – ZAP-70 – prognóza - imunohistochemia

Summary

Immunohistochemical Detection of ZAP-70 Protein and its Importance in the Diagnostics of B-CLL

Chronic B-lymphocytic leukemia (B-CLL) is one of the most frequent diseases of the lymphatic system in adults. It is known for its variable course – from benign to prospectless forms. Reliable prognostic markers are needed to precify the diagnosis and the correct therapy. The ZAP-70 protein, as a prospective marker, can be highly expressed in leukemic cells of B-CLL patients. It is related to a worse prognosis requiring intense therapy from the beginning.

The present study includes 20 cases of bone marrow trephine biopsy from patients with diagnosed B-CLL and 20 control cases without neoplastic infiltration. The specimens were investigated with standard immunohistochemical technique and with the use of the amplification system (DakoCytomation®). The results were evaluated semiquantitatively as negative (less than 5 %), positive (above 30 %), and irregularly positive (5–30 % of positive leukemic cells) and consecutively correlated with clinical evaluation of prognosis of the patient. The evaluation of the positivity was controlled also by morphometric analysis by determination of the area of ZAP-70 positivity related to the whole area of nuclei in the section. In the control specimens the ZAP-70 positivity was restricted to T-lymphocytes only. The level of the nuclear positivity of ZAP-70 protein detected in transformed B-lymphocytes showed significant correlation with the worse or the better clinical prognosis, respectively. Cases with irregular positivity did not show unambiguous clinical correlation. The use of the amplification system allowed to apply lower concentration of the primary antibody, reduction of background staining and increased the contrast of the findings leading to reduction of irregularly positive cases from 30 % (with routine histochemistry) to 10 %. It can be concluded that ZAP-70 represents a valuable prognostic marker for the chronic B-lymphocytic leukemia. Its evaluation by histochemistry is a suitable method for clinical praxis. Problematic may be the evaluation of borderline irregularly positive cases, in which the use of the histochemical amplification system is helpful. Strictly determined criteria are needed for limitation of inaccurate interpretation of the results.

Key words: chronic B-lymphocytic leukemia – ZAP-70 – prognosis – immunohistochemistry

Čes.-slov. Patol., 45, 2009, No. 2, p. 40–45