

2 SOUHRN

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie má velmi variabilní klinický průběh. Proto je nutné ke každému pacientovi přistupovat individuálně, dle prognostických faktorů. Cílem naší práce bylo zhodnotit metodou průtokové cytometrie význam stanovení exprese proteinu ZAP-70 v leukemických lymfocytech nemocných s CLL.

Nemocní a metodiky: V letech 2005-2009 byla na našem pracovišti stanovena exprese ZAP-70 v CLL buňkách u 138 pacientů (94 mužů a 44 žen; medián věku 59 let). Tato práce vznikla z podpory grantu: IGA NR/8373-3/05 a výzkumného záměru č. MZO 00179906 Ministerstva zdravotnictví České republiky. Projekt byl schválen Etickou komisí LF UK a FN v Hradci Králové. Exprese molekuly ZAP-70 byla hodnocena pomocí průtokové cytometrie s využitím monoklonální protilátky značené fykoerytrinem (klon 1E7.2). Exprese ZAP-70 byla analyzována dvěma způsoby; metodou izotypové kontroly a metodou střední fluorescenční intenzity (MFI). Stabilitu exprese molekuly ZAP-70 v čase jsme v průběhu onemocnění hodnotili u 44 pacientů. Výsledky exprese ZAP-70 byly porovnány s klinickými parametry pacientů, expresí CD38 a mutačním stavem IgVH.

Výsledky: Výsledky hodnocené pomocí MFI metody lépe rozdělily nemocné dle prognózy z hlediska období do léčby i celkového přežití než výsledky hodnocené pomocí izotypové kontroly. Z tohoto důvodu jsme v kombinovaných a multivariantních analýzách použili pouze tohoto výhodnějšího a objektivnějšího přístupu.

Při použití MFI metody byla doba bez léčby ($p=0,0003$) i celkové přežití ($p=0,01$) statisticky významně kratší u ZAP-70 pozitivních pacientů v porovnání se ZAP-70 negativními pacienty. Kombinovanou analýzou exprese ZAP-70 a IgVH jsme prokázali nejdelší období bez léčby ($p=0,0001$) i celkové přežití ($p=0,008$) u pacientů s negativní expresí ZAP-70 a s mutovanými IgVH geny. Kombinovanou analýzou exprese ZAP-70 a CD38 jsme také prokázali nejdelší období bez léčby ($p=0,0001$) i celkové přežití ($p=0,047$) u pacientů s negativní expresí ZAP-70 i CD38. Pokud byla do multivariantní analýzy zařazena ze všech moderních prognostických faktorů jen exprese ZAP-70, byl výsledek na hranici významnosti ($p=0,053$). Z jiných sledovaných parametrů byl významný již pouze věk ($p=0,004$).

Významné změny v expresi molekuly ZAP-70 v průběhu onemocnění byly zaznamenány u 15 nemocných při použití izotypové metody a u 9 nemocných při hodnocení MFI metodou. Většina změn ZAP-70 do pozitivivity, byla spojena s nemutovanými IgVH geny a provázána progresí či relapsem onemocnění.

Závěr: Z naší práce vyplývá, že stanovení exprese ZAP-70 je vhodné použít jako důležitý doplňující nepříznivý prognostický ukazatel k upřesnění individuálního rizika pacienta s CLL, zvláště pro zpřesnění prognostického zařazení pacientů s nejpříznivější prognózou. Zároveň jsme prokázali, že stanovení molekuly ZAP-70 má prognostický význam u pacientů s nedostupným vyšetřením ostatních moderních, finančně náročnějších prognostických ukazatelů. Naše výsledky prokazující změny ZAP-70 v průběhu onemocnění některých pacientů s CLL naznačují, že opakované stanovení ZAP-70 by mohlo mít význam zejména při progresi či relapsu onemocnění.