



ZAP-70: un nuevo factor pronóstico en la leucemia linfocítica crónica

Guillermo J. Ruiz Delgado,* Luz del Carmen Tarín Arzaga**,***

RESUMEN

En la leucemia linfocítica crónica tipo B se han planteado diferentes factores pronósticos de la evolución de la enfermedad. Recientemente se añadió un nuevo factor determinado por la expresión de una proteína de 70 kDa, que se relaciona con la cadena Z del receptor de las células T, y que se representa por la abreviatura ZAP-70. Esta proteína no se expresa en los linfocitos B normales, pero sí en los de un subgrupo de leucemia linfocítica crónica, que no tiene mutaciones en los genes de la región variable de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IgVH). Varios estudios recientes sugieren que la expresión de esta proteína en los linfocitos leucémicos podría contribuir a la evolución más rápida de la leucemia linfocítica crónica tipo B, sin mutaciones en los genes IgVH. Se ha señalado que la determinación de la ZAP-70 puede ser un indicador pronóstico más simple que la caracterización del estado de mutación de los genes IgVH. En México se comienza a adquirir experiencia con el estudio de esta proteína.

Palabras clave: leucemia linfocítica crónica tipo B, factores pronósticos, ZAP-70.

ABSTRACT

In B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL), different prognostic factors have been proposed to predict the clinical course of the disease. Recently, there has been added a new prognostic factor defined by the expression of 70kDa protein that is associated with T-cell receptor zeta chain and known as ZAP-70. This protein is not expressed in normal B lymphocytes but is expressed in those of a B-CLL subgroup which do not display IgVH heavy chain variable-region gene mutations. Recent studies indicate that the expression of this protein in leukemic lymphocytes is associated to a more aggressive course of the disease. Likewise, it has been pointed out that the determination of ZAP-70 can provide a simpler prognostic factor than the present characterization of the IgVH gene mutational state. Studies looking for this protein in Mexico have started, despite the fact that chronic lymphocytic leukemia is extremely infrequent in our country.

Key words: B-CLL, prognostic factors, ZAP-70.

La leucemia linfocítica crónica tipo B (LLC-B) es una enfermedad heterogénea cuya evolución clínico-hematológica puede variar ampliamente de un paciente a otro. Hay pacientes que no requieren tratamiento alguno y otros con cursos muy agresivos del padecimiento. Por ello, se identificaron diferentes factores pronósticos de la evolución de la enfermedad para seleccionar el procedimiento más adecuado en cada caso. Los marcadores clínicos de la enfermedad, como la esplenomegalia y la adenomegalia, y algunos de laboratorio, como las

cifras de hemoglobina y el número de plaquetas, se utilizan para definir estadios del padecimiento en clasificaciones como las propuestas por Rai y por Binet.¹ Sin embargo, hay otros marcadores que se consideran de gran valor pronóstico y que se describieron en fechas relativamente recientes, como el estado de mutación de los genes de la región variable de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (IgVH) y la expresión del antígeno CD38 en los linfocitos leucémicos.²⁻⁵ La configuración de los genes IgVH permite dividir a la leucemia linfocítica crónica tipo B en dos subgrupos: en el primero los genes no muestran mutaciones y su evolución es rápida, y en el segundo los genes tienen mutaciones, es más estable, de evolución lenta y con mayores probabilidades de supervivencia.¹⁻³ El valor pronóstico de que haya o no mutaciones en estos genes es independiente de los estadios clínicos de la enfermedad y la configuración expresada por estos genes en los linfocitos leucémicos se mantiene sin variación durante la evolución de la leucemia.^{1,3,5,6}

* Hospital Médica Sur de la Ciudad de México.

** Hospital Universitario de Monterrey.

*** Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla.

Correspondencia: Dr. Guillermo J. Ruiz Delgado. Hospital Médica Sur, Puente de Piedra número 150, colonia Toriello Guerra, 14000, México, DF. E-mail: gruiz2@clinicaruiz.com
Recibido: octubre, 2005. Aceptado: diciembre, 2005.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

Sin embargo, este método de alta tecnología tiene el inconveniente de su laboriosidad y costoso, por lo que se realiza solamente en un número muy limitado de laboratorios.

En la leucemia linfocítica crónica los estudios iniciales mostraron baja expresión del CD38 en la membrana de los linfocitos leucémicos en los casos con mutaciones en los genes IgVH, mientras que estaba aumentada en los que no tenían mutaciones.⁴⁻¹⁰

Varias investigaciones recientes permitieron identificar un nuevo factor pronóstico en la leucemia linfocítica crónica: la proteína ZAP-70, miembro de la familia de proteínas tirosin cinasa citosólicas representada por la ZAP-70 y la Syk; son diferentes a las proteínas tirosin cinasa de la familia Src (relacionada con el sarcoma del virus de Rous). La ZAP-70 es una proteína de 70 kDa con actividad tirosin cinasa, que se relaciona con la subunidad Z del receptor de las células T. Las siglas que la representan provienen de su caracterización en inglés: *Zeta-associated protein-70 kDa*. El otro miembro de esta familia es la Syk, que es una proteína de 72 kDa que se purificó a partir del bazo porcino. Su abreviatura procede del término con que se identificó en inglés: *Spleen tyrosine kinase*.^{11,12} En los linfocitos B, la Syk desempeña una función importante relacionada con la transducción de señales dependientes de su receptor de membrana. La ZAP-70 se expresa normalmente en las células T y NK, mientras que la Syk lo hace en los linfocitos B y raramente en otras células del sistema hematopoyético. La ZAP-70 y la Syk tienen funciones equivalentes en los linfocitos T y B, respectivamente, y en estas células son elementos fundamentales para la ejecución de una cascada de señales en las que intervienen diferentes pasos de fosforilación y desfosforilación que activan otras cinasas de proteínas. Estas últimas transfieren al núcleo de la célula la información necesaria para la activación del linfocito y el desarrollo de sus funciones efectoras.^{13,14} Después que el receptor de las células T es estimulado por un antígeno, se activa un sistema de proteínas tirosin cinasa que induce la fosforilación de residuos de tirosina ubicados en determinados sitios de la cadena Z, los que se convierten en puntos de unión con la ZAP-70. Mientras no se encuentra unida a la cadena Z, la ZAP-70 permanece inactiva. Después de que se une con esta cadena, su activación ocurre rápidamente,

por la fosforilación de un residuo tirosina en su estructura. Aunque todos los pasos en los que interviene la ZAP-70 activada no están totalmente esclarecidos, se considera que es una proteína tirosin cinasa clave en la fosforilación de diversas proteínas que le sirven de sustrato y que intervienen en la cascada de señales que se desencadenan por la estimulación del receptor de las células T.^{12,13,15} Los linfocitos B normales no expresan la ZAP-70; sin embargo, estudios genéticos realizados en la leucemia linfocítica crónica tipo B, con el uso de micro reordenamientos (*microarrays*) de ADN, muestran un patrón característico en la expresión de un pequeño número de genes, entre los que está el de la ZAP-70.¹⁶ Se observó que la leucemia linfocítica crónica sin mutaciones en los genes IgVH expresaba la ZAP-70, lo que no sucedió en los casos con mutaciones en los genes IgVH. Por lo tanto, se planteó una correlación entre la expresión de esta proteína y el estado de mutación de estos genes.^{14, 16-18} Esta correlación no es absoluta, pues se comprobaron casos con mutaciones en los genes IgVH y alta expresión de la ZAP-70. Sin embargo, esto es excepcional y, por lo tanto, se acepta la expresión de la ZAP-70 como un indicador adecuado del estado de mutación de los genes IgVH, con valor pronóstico similar en la leucemia linfocítica crónica tipo B.¹⁶ Al contrario de lo que se ha señalado en relación con la expresión de CD38, la de la ZAP-70 se mantiene sin variación durante todo el tiempo que persiste la enfermedad, tal como ocurre con el estado de mutación de los genes IgVH.¹⁷ Se comprobó que la estimulación del receptor de las células B en la leucemia linfocítica crónica, que expresa la ZAP-70, provoca una fosforilación significativa de las proteínas tirosin cinasa citosólicas, mayor de la que se obtiene en las que no expresan la ZAP-70.¹⁴ Este hecho sugiere que la expresión de esta proteína se relaciona con aumento de la transducción de señales estimuladoras de los linfocitos B que podría contribuir a la evolución más agresiva que puede tener la leucemia linfocítica crónica de linfocitos B sin mutaciones en los genes IgVH.^{14,18-19} Hace poco, el estudio de la expresión de la ZAP-70 se simplificó y, además de su determinación mediante reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), puede realizarse por citometría de flujo y por inmunohistoquímica.^{17, 18, 20} Estas nuevas posibilidades contribuyen a que la determinación de la expresión

de ZAP-70 se haga más factible en la práctica clínica habitual, lo que proporciona un indicador pronóstico valioso y más simple que la caracterización del estado de mutación de los genes IgVH. En la práctica diaria es difícil definir cuáles son los pacientes con leucemia linfocítica crónica que van a requerir tratamiento, ya que muchos de ellos tienen un curso indolente prolongado y no necesitan tratamiento. Es probable que la determinación de la ZAP-70 sea útil para definir esto. Debido a sus cursos clínicos más agresivos, los pacientes con más de 20% de células leucémicas con expresión de la ZAP-70 pueden requerir tratamiento, en tanto que aquellos con células que no expresan la ZAP-70 podrían ser vigilados antes de decidir iniciarlo. La figura 1, tomada de la experiencia catalana en el estudio de esta proteína en un grupo de 56 pacientes,¹⁷ ejemplifica la relación entre la supervivencia a largo plazo de pacientes con leucemia linfocítica crónica y la expresión de la proteína ZAP-70 en las células linfoides malignas. Es muy clara la diferencia en la supervivencia entre los pacientes con leucemia linfocítica crónica ZAP-70 (+) y leucemia linfocítica crónica ZAP-70 (-).

EXPERIENCIA EN MÉXICO

A diferencia de lo que ocurre en poblaciones caucásicas, la leucemia linfocítica crónica en México es poco frecuente.^{21,22} Este padecimiento es el más común de las neoplasias hematológicas malignas en caucásicos, en tanto que en México es el menos frecuente; por lo tanto, las diferencias parecen ser de tipo racial.^{21,22} La investigación de la expresión de la proteína ZAP-70 en las células linfoides de pacientes con leucemia linfocítica crónica en México comenzó a desarrollarse recientemente. En un grupo de ocho pacientes estudiados y tratados en el Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla se encontró que tres de ellos tenían concentraciones altas de ZAP-70, en tanto que los demás tenían concentraciones bajas. Se trata de un grupo de pacientes seleccionados y el estudio de la proteína se hizo por medio de citometría de flujo en individuos vivos después de meses o años de haberse establecido el diagnóstico de la enfermedad. El cuadro 1 resume algunas de las características de estos pacientes con leucemia linfocítica crónica estudiados en Puebla. Es interesante que la paciente con mayor

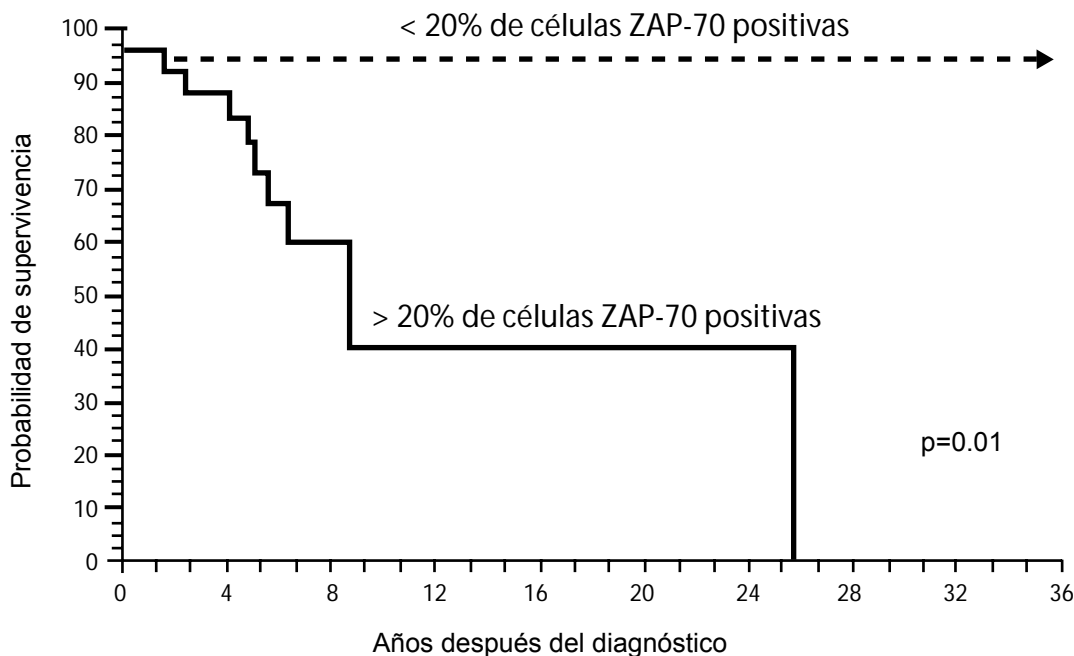


Figura 1. Probabilidad de supervivencia de pacientes con leucemia linfocítica crónica Binet A, de acuerdo con el porcentaje de expresión de la ZAP-70. Tomado y modificado de la referencia 17.

Cuadro 1. Características principales de los pacientes con leucemia linfocítica crónica

Núm.	Edad	Sexo	Rai	Inmunofenotipo	b2-M (mg/L)	ZAP-70 (%)	Meses (*)
1	50	F	0	CD5/CD20/CD43/CD79	1.5	75.3	195
2	57	F	0	CD19/CD20	1.2	2.9	43
3	80	M	2	ND	ND	0.5	9
4	62	M	0	CD19/CD20/ λ	2.3	72	6
5	54	M	0	CD19/CD20	1.4	90	19
6	58	F	0	CD19/CD20/ λ	0.2	1.57	3
7	62	M	0	CD19/CD20/ λ	1.4	1.2	4
8	80	F	2	CD5/CD19/CD20/ λ	ND	0.7	1

Rai: estadio clínico de acuerdo a Rai de la neoplasia. b2-M: beta 2 microglobulina. ND: no determinado. (*) tiempo transcurrido entre el diagnóstico de la enfermedad y la última observación de cada individuo.

tiempo de vigilancia de este padecimiento (195 meses) no ha requerido tratamiento; tiene expresión de la ZAP-70 al 75% de las células linfoides malignas. También es claro que, por el número reducido de pacientes estudiados y por su baja incidencia, no es posible hacer consideraciones relativas a la relación entre la supervivencia y la expresión de la ZAP-70. Se requiere estudiar mayor número de pacientes para poder hacer consideraciones más fundamentadas.

REFERENCIAS

- Hernández-Ramírez P. Leucemia linfocítica crónica. Diagnóstico y factores pronósticos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2003;19:2-3.
- Naylor M, Capra JD. Mutational status of IgVH genes provides clinically valuable information in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1837-9.
- Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated IgVH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1848-54.
- Matrai Z, Lin K, Dennis M, et al. CD38 expression and IgVH gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001;97:1902.
- Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1840-7.
- Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, Dohner H. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V (H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 2002;16:993-1007.
- Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest* 1998;102:1515-25.
- Rai KR, Dohner H, Keating MJ, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia: case-based session. *Hematology* 2001:140-56.
- Kay NE, Hamblin TJ, Jelinek DF, et al. Chronic lymphocytic leukemia. *Hematology* 2002:193-213.
- Mainou-Fowler I, Dignum HM, Proctor SJ, Summerfield GP. The prognostic value of CD38 expression and its quantification in B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Leuk Lymphoma* 2004;45:455-62.
- Bolen JB. Nonreceptor tyrosine protein kinases. *Oncogene* 1993;8:2025-31.
- Chan AC, Iwashima M, Turck CW, Weiss A. ZAP-70: a 70 kd protein-tyrosine kinase that associates with the TCR zeta chain. *Cell* 1992;71:649-62.
- Chan AC, Irving BA, Fraser JD, Weiss A. The α chain is associated with a tyrosine kinase and upon T-cell antigen receptor stimulation associates with ZAP-70, a 70 kDa tyrosine phosphoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:9166-70.
- Chen L, Widhopf G, Huynh L, et al. Expression of ZAP-70 is associated with increased B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002;100:4609-14.
- Kane LP, Lin J, Weiss A. Signal transduction by the TCR for antigen. *Curr Opin Immunol* 2000;12:242-9.
- Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2001;194:1639-47.
- Crespo M, Bosh F, Villamor N, et al. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2003;348:1764-75.
- Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003;101:4944-51.
- Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, et al. ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2004;363:105-11.
- Admirand JH, Rassidakis GZ, Abruzzo LV, et al. Immunohistochemical detection of ZAP-70 in 341 cases of non-Hodgkin and Hodgkin lymphomas. *Med Pathol* 2004;17:954-61.
- Ruiz-Argüelles GJ, Velázquez BM, Apreza-Molina MG, et al. Chronic lymphocytic leukemia is infrequent in Mexican mestizos. *Int J Hematol* 1999;69:253-5.
- Alemán-Hoey DD, Ruiz-Argüelles GJ, Verduzco-Rodríguez L, López-Ariza B, Labardini JR. Leucemia linfocítica crónica. I. Experiencia de 35 años en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. *Rev Invest Clin (Méx)* 1982;34:151-6.