

میزان مقاومت چند دارویی و روش اندازه‌گیری آن در بیماران

مبتلا به لوسمی میلوبلاستیک و لنفوبلاستیک حاد

دکتر کامران علی مقدم^۱، دکتر مژگان اعلمی صمیمی^۲، آسیه عشوری^۳، دکتر مهرانگیز توتونچی^۴،
دکتر محمد فرهادی لنگرودی^۵، دکتر فاطمه نادعلی^۶، دکتر مسعود ایروانی^۷، دکتر سید اسداله موسوی^۸،
دکتر علی خداپنده^۹، دکتر محمد جهانی^{۱۰}، دکتر اردشیر قوام‌زاده^{۱۱}

چکیده

سابقه و هدف

مقاومت دارویی علت عمده شکست درمانی در بیماری‌های بدخیم خصوصاً بیماری‌های بدخیم خونی است و شایع‌ترین نوع مقاومت دارویی به علت بروز pgp (گلیکوپروتئین p) می‌باشد. مشکل عمده بروز این ژن در بدخیمی‌های خونی، عدم وجود یک روش استاندارد برای کشف و بررسی کمیت بروز ژن در نمونه‌های توموری و عدم تطابق با کلینیک بیمار است. هدف از انجام طرح حاضر، تعیین میزان مقاومت چند دارویی (MDR) بر اساس بیان pgp در شروع درمان و استفاده از آن به منظور پیش‌بینی پاسخ به درمان و پیامد عود یا فوت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع کاربردی بود. تعداد ۱۸۵ بیمار در فاصله خرداد ۱۳۸۰ تا اردیبهشت ۱۳۸۵ وارد مطالعه شدند. برای هر یک از بیماران تشخیص بر اساس مورفولوژی، ایمونوفنوتیپ و سیتوژنیک انجام گرفته و بروز pgp، بر اساس فلوسیتومتری مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی میزان pgp ابتدا خون محیطی و نمونه‌های مغز استخوان بر روی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل و طی مراحل جهت بررسی آماده شد. سپس همه بیماران با توجه به نوع بیماری تحت دستور عمل درمانی استاندارد قرار گرفتند و پاسخ به درمان مشخص شد. پس از پی‌گیری بیماران، یافته‌های بالینی بر حسب مقاومت اولیه و نیز میزان بقا، عود و بهبودی کامل محاسبه شده و سپس با یافته‌های آزمایشگاهی مقایسه شدند. جهت تحلیل نتایج از آزمون‌های من-ویتنی، کروسکال - والیس، کاپلان - مایر (kaplan-meier) و کای‌دو (Chi-square) استفاده شد.

یافته‌ها

از ۱۸۵ بیمار با میانه سنی ۲۸/۵ سال (با دامنه تغییرات ۱۱ تا ۷۶ سال)، ۱۲۸ بیمار AML و ۵۷ بیمار ALL، ۶۲٪ مرد و ۳۸٪ زن بودند. pgp با سن، جنس، نوع بیماری (ALL و AML) و نیز تعداد سلول‌های سفید رابطه معنی‌داری نشان نداد، هم چنین میزان بیان pgp در زیر گروه‌های مختلف بیماری AML نیز رابطه معنی‌داری نداشت. میزان بقای کلی (OS) دو ساله ۶۳٪ (خطای معیار ۴/۸٪) و میزان بقای عاری از بیماری (DFS) در این مدت ۴۲٪ (خطای معیار ۵٪) به دست آمد، هم چنین نتایج نشان داد که DFS با pgp در بیماران ALL و AML-none M₃ رابطه معنی‌داری دارد.

نتیجه‌گیری

میزان بروز pgp در سطح سلول، احتمالاً یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده برای پیش‌بینی شانس عود محسوب می‌شود و می‌تواند در تصمیم‌گیری درمانی نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: مقاومت چند دارویی، گلیکوپروتئین P، لوسمی میلوبلاستیک حاد، لوسمی لنفوبلاستیک حاد

تاریخ دریافت: ۸۶/۴/۱۲

تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۱/۲۹

- ۱- مؤلف مسؤول: فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی - صندوق پستی: ۱۴۱۱۴
- ۲- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - استادیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
- ۳- کارشناس ارشد آمار حیاتی - مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
- ۴- پزشک عمومی - مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
- ۵- متخصص آسیب شناسی - استادیار مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
- ۶- PhD هماتولوژی - مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
- ۷- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی

مقدمه

اصطلاح مقاومت چند دارویی (MDR) با مشاهده مقاومت متقاطع سلول‌های تومور نسبت به چند داروی مورد استفاده در شیمی درمانی و پس از قرار گرفتن در معرض این مواد، تعریف می‌شود.

مقاومت دارویی از مکانیسم‌هایی است که باعث عدم پاسخ به شیمی درمانی در بدخیمی‌های خونی و تومورهای جامد می‌گردد. در بدخیمی‌های خونی، MDR اغلب با بیان بیش از اندازه pgp ایجاد می‌گردد. این پروتئین مانند پمپ عمل کرده داروهای شیمی درمانی را از سلول خارج می‌کند و در حقیقت میزان بیان pgp با میزان حساسیت دارویی و نتایج بالینی درمان ارتباط دارد (۱). میزان بقا در افراد با بیان بالای MDR کمتر از سایرین بوده و ظهور بیش از حد آن مهم‌ترین فاکتور پیش‌آگهی در مقاومت به درمان اولیه می‌باشد (۲-۴). در افراد مسن مبتلا به AML، بروز pgp افزایش می‌یابد به طوری که کاترین و همکاران، بروز pgp را در افراد مسن ۷۱٪ نشان داده‌اند که می‌تواند یکی از دلایل عدم جواب به درمان و پیش‌آگهی بد در این بیماران باشد (۵، ۶).

مطالعه اولین و همکاران نیز ارتباط افزایش pgp با نتیجه درمانی بد، طول مدت بقای بدون عود (Relapse free survival) و بقای کلی (Overall survival) را نشان داد (۷). مشکل MDR در بیماری‌های بدخیم کودکان (هم چون نوروبلاستوم و سایر بیماری‌ها) نیز مطرح است و باعث بروز اشکال در روند درمانی می‌گردد. در ایجاد MDR مکانیسم واحدی وجود ندارد و بیان pgp می‌تواند یکی از علل عمده ایجاد مقاومت در سلول‌های سرطانی باشد. ولی بعید به نظر می‌رسد که این عامل به عنوان تنها مکانیسم مرتبط در این رابطه مطرح باشد، بنابراین باید از روشی عملی‌تر که در آن میزان انباشت دارو در سلول اندازه‌گیری می‌شود برای تعیین MDR سود جست. در طرح حاضر، از فلوسیتومتری که یک روش بسیار مناسب برای بررسی تجمع سطح سلولی آنتی‌ژن‌ها در آزمایشگاه بر روی سلول‌های بلاست لوسمیک است، هم چنین از مشخصات کلینیکی بیماران جهت یافتن اهمیت کلینیکی بروز pgp روی سلول استفاده شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع کاربردی بود. این مطالعه مقطعی در بیماران مبتلا به ALL و AML مراجعه کننده از خرداد ۱۳۸۰ لغایت اردیبهشت ۱۳۸۵ در مرکز تحقیقات هماتولوژی، انکولوژی و سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفت.

برای هر یک از بیماران تشخیص بر اساس مورفولوژی، ایمونوفنوتیپ و سیتوژنیک از نظر بروز pgp بر اساس لوسمی میلو بلاستیک حاد (AML) با رژیم ۷+۳ (ARA-C+Daunorubicin)، بیماران جدید لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL) با رژیم Megachop، بیماران عودی در هر دو گروه بیماران با رژیم flag (Fludarabine) + ARA-C + GCSF و بیماران پرومیلوسیتیک (APL) با آرسنیک تحت درمان قرار گرفتند. بیماران مبتلا به AML-M₃ به علت تفاوت روش درمانی در آنالیز داده‌ها به صورت گروهی جداگانه طبقه‌بندی و بررسی شدند. تمام بیماران وارد شده در هر یک از گروه‌های درمانی با توجه به نوع بیماری تحت درمان قرار گرفتند و پاسخ درمانی به صورت زیر در نظر گرفته شد.

تعاریف مربوط به پاسخ به درمان و پیگیری بیماران به شرح زیر است:

مرگ در حین درمان (DDI): مرگ در طی و یا بعد از اولین و دومین دوره درمانی با مغز استخوان آپلاستیک و یا هیپوسلولار

رمیسیون کامل (CR): بلاست کمتر از ۵ درصد در مغز استخوان، شمارش نوتروفیل بالای $10^9 \times 1/5$ در لیتر، شمارش پلاکت بالای $10^9 \times 100$ در لیتر و عدم وجود شواهدی دال بر لوسمی در سایر نقاط بدن

مقاومت اولیه: بلاست بالای ۵ درصد در مغز استخوان و یا شواهدی مبنی بر وجود لوکمی در سایر نقاط بدن علی‌رغم حداقل دو دوره شیمی‌درمانی مؤثر

عود زودرس (ER): عود در ۶ ماه اول بعد از حصول رمیسیون

بقای کلی (OS): احتمال بقای بیماران، که از زمان ورود به مطالعه و شروع درمان برای بیمار تا زمان فوت و یا خروج

مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. برای بررسی ارتباط در جداول متقاطع نیز از آزمون کای دو استفاده شد. آنالیز آماری یافته‌ها با نرم‌افزار SPSS ۱۱/۵ انجام شد.

یافته‌ها

تعداد کل بیماران مورد بررسی ۱۸۵ بیمار بود که ۵۷ بیمار ALL و ۱۲۸ بیمار AML (شامل ۴۵ بیمار AML-M₃) بودند. ۶۲٪ از بیماران مرد و ۳۸٪ زن، میانه سنی ۲۸/۵ سال با دامنه ۱۱ تا ۷۶ سال بود. ۷۸/۳٪ از بیمارانی که وارد مطالعه شده بودند موارد تشخیص جدید و ۲۱/۷٪ بیماران با حداقل یک بار عود در درمان‌های پیشین خود بودند. وضعیت اولیه در هنگام شروع به درمان و نیز پاسخ اولیه بیماران به درمان در جدول ۱ آمده است. بین وضعیت اولیه و پاسخ به درمان (گروه‌بندی شده به صورت رمیسیون کامل و بقیه حالات) رابطه معنی‌داری مشاهده نشد. میانه pgp و دامنه تغییرات آن در بیماری AML-M₃ none M₃، ۹۷/۶-۰/۹ (۰/۱-۰/۹)، در بیماران AML-M₃T، ۹۹/۱-۱/۰۳ (۰/۱-۱/۱)، در بیماران ALL، ۹۷/۷-۱/۱ (۰/۱-۱/۱) بود. pgp با سن، جنس، نوع بیماری ALL و AML و نیز تعداد گلبول سفید رابطه معنی‌داری نشان نداد.

pgp در بیماران AML-M₃ در مقایسه با سایر بیماران AML، مقادیر بالاتری داشت اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. بین pgp و وضعیت اولیه بیماران در هنگام شروع به درمان و پاسخ اولیه آن‌ها به درمان نیز رابطه معنی‌داری وجود نداشت.

از ۱۸۵ بیمار، وضعیت ۸ بیمار نامشخص بود به طوری که این بیماران پس از دریافت درمان، مراجعه دیگری جهت ارزیابی پاسخ به درمان و پیگیری‌های بعدی نداشتند و ۴۹ بیمار (۲۷/۷٪) در آخرین پیگیری فوت شده بودند. میانه زمان پیگیری افراد زنده پس از شروع درمان ۲۰۴ روز (از ۱۰ روز تا ۴ سال و ۸ ماه) بوده است که با در نظر گرفتن این مدت کوتاه پیگیری و نیز پیش‌آگهی بهتر بیماران AML-M₃ و در نتیجه پیگیری طولانی‌تر این بیماران نسبت به سایر بیماران مورد مطالعه، میزان بقای کلی (OS) پس از دو سال از شروع درمان در کل بیماران ۶۳٪ (۰/۴۸ = خطای معیار) بوده است (نمودار ۱).

از مطالعه به علت عدم مراجعه و یا پایان پیگیری بیماران، محاسبه شده است.

بقای عاری از بیماری (DFS): احتمال باقی ماندن بیماران در رمیسیون که از زمان حصول رمیسیون تا زمان عود، فوت و یا خروج بیمار از مطالعه در آخرین پیگیری می‌باشد.

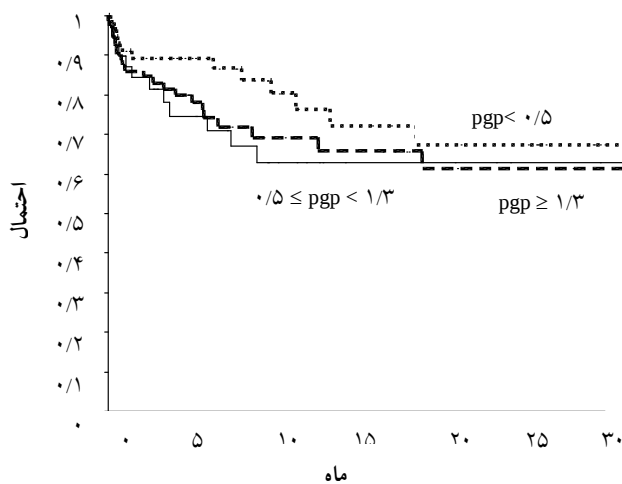
روش آزمایشگاهی بررسی pgp: برای بررسی pgp، ابتدا خون محیطی و نمونه‌های مغز استخوان در داخل لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. سلول‌های منونوکلئر به دست آمده توسط روش سدیمانتاسیون فایکول با فسفات بافر سالین (PBS) شسته شده و برای بررسی زنده بودن از آزمایش خروج تریپان آبی استفاده شد. سپس در هر یک از لوله‌های آزمایش و کنترل منفی، ۱۰^۵×۲/۵ سلول در ۱۰۰ میکرولیتر از محلول ۲ درصد PBS-BSA ریخته، به لوله آزمایش ۵ میکرولیتر از Anti-pgp (داکو - دانمارک) و به لوله کنترل منفی ۵ میکرولیتر از آنتی‌بادی کنترل منفی (داکو - دانمارک) اضافه شد.

پس از مخلوط کردن محلول حاصل، لوله‌ها به مدت یک ساعت در حرارت اتاق و تاریکی قرار داده شدند. سپس سلول‌ها دو بار با محلول سرد ۲ درصد PBS-BSA شسته شد (۵ دقیقه، ۱۵۰۰ rpm). لوله کنترل منفی با ۳۰۰ میکرولیتر از محلول پارافرم آلدئید ۱٪ فیکس شد و تا زمان آنالیز در یخچال ۴ °C قرار داده شدند. به سلول‌های لوله آزمایش، ۱۰۰ میکرولیتر از آنتی‌بادی دوم (داکو - دانمارک) و ۱۰۰ میکروگلوبولین FITC (Immunoglobulins/FITC) رقیق شده به نسبت ۱/۲۰ با محلول ۲ درصد PBS-BSA اضافه شد. مجدداً یک ساعت در حرارت اتاق و تاریکی انکوبه شدند و سلول‌ها با محلول ۲ درصد PBS-BSA سرد، دو بار شسته و با فیکساتیو فیکس شدند. تا زمان آنالیز در یخچال ۴ °C نگهداری شدند (قابل ذکر است که محتویات لوله‌ها تا یک هفته در یخچال بدون تغییر باقی می‌مانند).

برای مقایسه pgp در دو گروه از تحلیل آماری غیر پارامتری من - ویتنی و در مقایسه بیش از دو گروه، از روش کروسکال والیس استفاده شد. جهت برآورد OS و DFS از آزمون کاپلان - مایر و از آماره log-rank جهت

جدول ۱: وضعیت اولیه بیماران و پاسخ اولیه به درمان

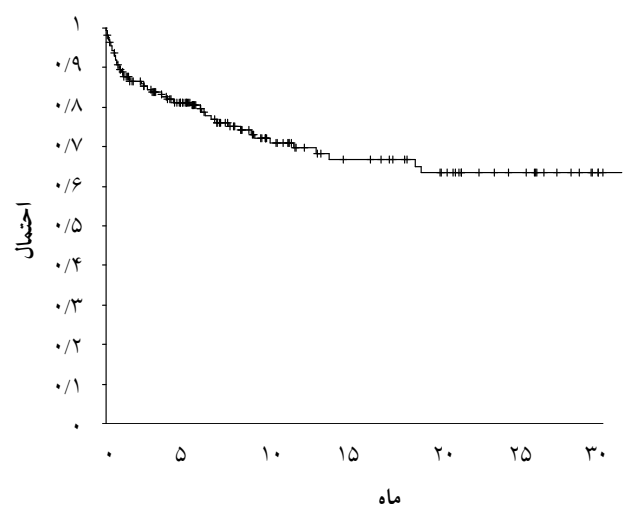
مقاومت	پاسخ اولیه به درمان بیماران			مجموع
	مقاومت اولیه	عود	رمیسیون کامل	
تشخیص جدید	۱۳	۴	۱۶	۸۹
وضعیت اولیه	۱۰/۷	۳/۳	۱۳/۱	۷۳
بیماران	۶	۱	۵	۱۷
درصد فراوانی	۲۰/۷	۳/۴	۱۷/۲	۵۸/۶



نمودار ۲: بقای کلی (Overall Survival) به تفکیک زیر گروه‌های pgp در بیماران تحت مطالعه

میزان بقای عاری از بیماری (DFS) دو سال پس از شروع درمان ۴۲٪ (خطای معیار ۵٪) و میانه زمان بقا تا عود یا فوت، ۱ سال و ۷ ماه بود. DFS با نوع بیماری ALL و به تفکیک زیر گروه‌های بیماری ALL با AML- M_3 و non M_3 رابطه معنی‌داری را نشان نمی‌دهد، البته به نظر می‌رسد که اثر بیماری بر خطر عود و یا فوت، با زمان تغییر می‌کند به طوری که در ماه‌های ابتدایی پس از رمیسیون، خطر عود و یا فوت در بیماران AML بیشتر بوده اما عود و یا فوت در بیماران ALL با گذشت زمان افزایش یافته است (نمودارهای ۳ و ۴).

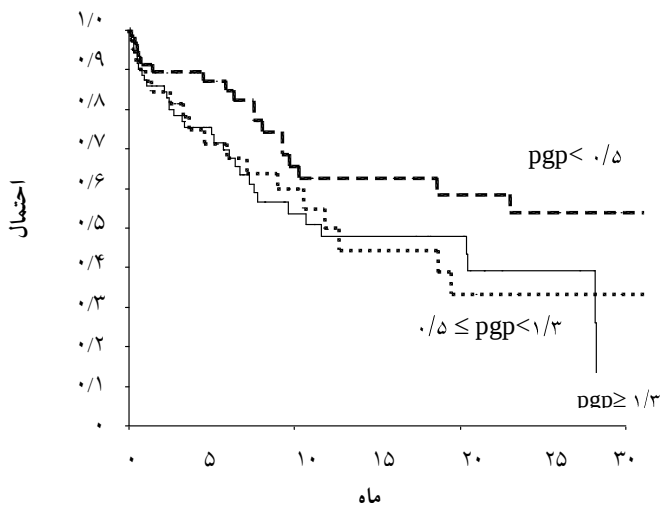
با توجه به این که بیماران AML- M_3 دارای درمان متفاوتی با سایر بیماران می‌باشند، با تحلیل جداگانه در این گروه از بیماران و سایرین چنین به دست آمد که DFS با



نمودار ۱: بقای کلی (Overall Survival) در بیماران تحت مطالعه

OS با نوع بیماری (AML یا ALL) رابطه معنی‌داری نشان نمی‌دهد، هم چنین OS با سن رابطه ندارد. با توجه به اثر مخدوش‌گری سن در گروه‌های بیماری، پس از تعدیل گروه‌های بیماری بر اساس سن، OS هم چنان با نوع بیماری رابطه‌ای نداشت. OS با pgp نیز رابطه معنی‌داری نشان نداد (نمودار ۲).

اگر چه رخداد عود در بیماران ALL (۲۵٪) بیشتر از بیماران AML (۱۶٪) بوده است اما تفاوت معنی‌داری بین بیماران ALL با AML از این نظر دیده نشد. هم چنین در زیر گروه‌های بیماری به تفکیک ALL، AML-non M_3 و AML- M_3 نیز در این مدت پیگیری، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. شانس عود مجدد در بیماران عودی و بیماران جدید با مدت پیگیری متوسط ۲۰۴ روز، رابطه معنی‌داری را نشان نداد.

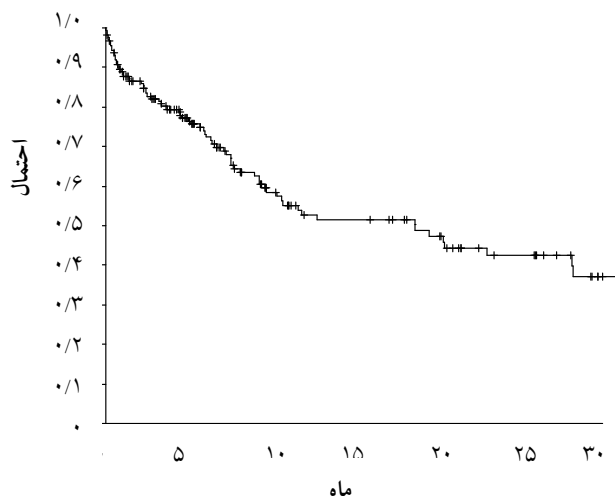


نمودار ۵: بقای عاری از بیماری (DFS) به تفکیک زیر گروه‌های pgp در بیماران تحت مطالعه

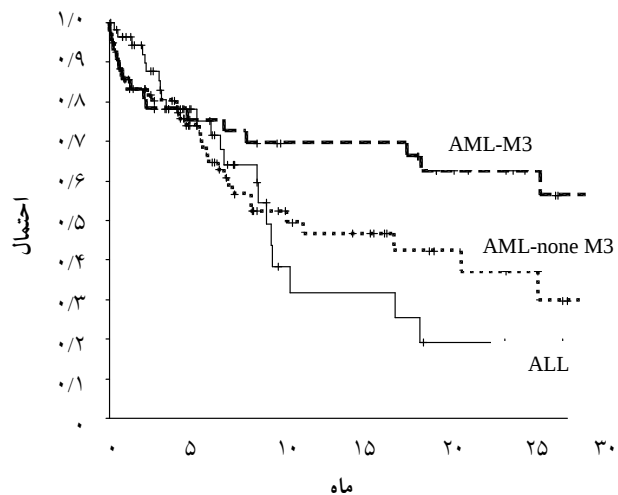
داشت ($p=0/001$). به طوری که با بررسی ارتباط DFS با pgp در طبقات وضعیت اولیه بیمار، رابطه معنی‌داری مشاهده شد ($p=0/031$). بر این اساس خطر عود و یا فوت در بیماران عودی ۲/۴۳ برابر بیماران جدید در مقدار برابری از pgp برآورد شده و هم چنین به دست آمده که در یک وضعیت اولیه مشخص برای بیمار، $pgp > 1$ خطر عود و یا فوت را ۱/۶۹ برابر می‌کند. جهت تعیین نقطه برشی از میزان بیان pgp در هنگام شروع به درمان، به منظور پیش بینی رخداد عود و یا فوت و نیز پاسخ اولیه بیمار به درمان، از نمودار ROC استفاده شد اما با توجه به عدم معنی‌داری رابطه OS با pgp و نیز رسم نمودار ROC که تاییدی بر این نتایج بود و هم چنین محدودیت مطالعه در پیگیری بیماران، نتایج به دست آمده نشان داد که از میزان بیان pgp نمی‌توان برای پیش‌بینی رخداد مرگ و یا تعیین پاسخ اولیه بیمار به درمان استفاده نمود.

اگر چه بر اساس داده‌های این مطالعه و کم بودن تعداد بیماران با مقادیر بالای بیان pgp، رسم نمودار ROC امکان تعیین نقطه برشی به طور معنی‌دار و با حساسیت و ویژگی بالا را نمی‌دهد اما معنی‌داری DFS با بیان pgp در بیماران AML-non M3 و ALL را می‌توان پیش‌بینی کرد. اما استفاده از آن در بیماران AML-M3 نتیجه‌ای در بر ندارد و

جهت تعیین نقطه برش مناسب، طرح‌ریزی مطالعه‌ای با این هدف مورد نیاز است.



نمودار ۳: بقای عاری از بیماری (DFS) در بیماران تحت مطالعه



نمودار ۴: بقای عاری از بیماری (DFS) به تفکیک زیر گروه‌های بیماری در بیماران تحت مطالعه

pgp در بیماران AML-M3 رابطه معنی‌داری ندارد اما در سایر بیماران این رابطه مشاهده شد ($p=0/024$). به عبارتی می‌توان از میزان بیان pgp در این گروه از بیماران برای پیش‌بینی رخداد عود یا فوت استفاده نمود.

DFS با سن و میزان بیان pgp در کل بیماران رابطه معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. (pgp بر اساس چارک‌ها به ۳ گروه $0/5 <$ ، $0/5$ تا $1/3$ و $\geq 1/3$ طبقه‌بندی شدند) (نمودار ۵).

رخداد عود و یا فوت در بیماران عودی و بیماران جدید در مدت زمان پیگیری بیماران رابطه معنی‌داری

بحث

در این مطالعه، میزان بقای کلی (OS) پس از دو سال از شروع درمان ۶۳٪ بوده است که نسبت به مطالعات مشابه برآورد بالاتری را نشان می‌دهد، اما از دلایل این امر می‌توان به مدت زمان پیگیری کوتاه بیماران و نیز تحت تاثیر قرار گرفتن نتایج به علت پیش‌آگهی بهتر بیماران AML-M₃ نسبت به سایر بیماران، اشاره نمود.

کاترین و همکارانش بروز MDR1 را در افراد مسن بیشتر از افراد جوان گزارش کرده‌اند. به طوری که در مقایسه با مطالعه سوگ که بروز آن را در تمام بیماران ۴۰٪ گزارش کرده بود، بروز در افراد مسن توسط محقق یاد شده ۷۱٪ گزارش گردیده است (۵، ۶). اما در مطالعه ما ارتباطی بین سن و بروز MDR1 وجود نداشت که البته چون اکثریت جمعیت بیماران جوان بوده‌اند، این نتیجه قابل انتظار بوده و جهت تعیین بروز MDR1 در جمعیت مسن باید نمونه با سن بالاتر از ۵۰ سال را بررسی کرد.

کاترین و همکاران MDR را موثر در OS و DFS ندانسته‌اند. در مطالعه ما نیز ارتباط معنی‌داری بین OS و DFS و میزان مقاومت دارویی وجود نداشت. اما OS و DFS به طور قابل توجهی با افزایش مقاومت دارویی

کاهش پیدا می‌کند که البته به علت مدت پیگیری کم قابل تعمیم نمی‌باشد (۷، ۱).

با این حال به دلیل تفاوت در روش‌های کار لازم است که مطالعات جامع‌تری درخصوص این آزمایش به خصوص در پیش‌بینی یافته‌های بالینی انجام داد. بنابراین با توجه به یافته‌ها آگاهی از میزان وسعت وجود هر یک از این فاکتورها در پیش‌بینی آینده و هم چنین در برنامه‌ریزی برای مبارزه با این بیماری‌ها اهمیت فوق‌العاده‌ای خواهد داشت.

نتیجه‌گیری

میزان بروز pgp در سطح سلول احتمالاً یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده برای پیش‌گویی شانس عود محسوب می‌شود و می‌تواند در تصمیم‌گیری درمانی نقش داشته باشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بر اساس طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران و با حمایت مالی این دانشگاه در مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند سلول‌های بنیادی بیمارستان دکتر شریعتی به انجام رسید.

References :

- 1- Shtil AA. Emergence of multidrug resistance in leukemia cells during chemotherapy: mechanisms and prevention. *J Hemato Ther Stem Cell Res* 2002;11(2):231-41.
- 2- Malagola M, Damiani D, Martinelli G, Michelutti A, Cesana B, Vivo AD, *et al.* Case-control study of multidrug resistance phenotype and response induction treatment including not fludarabine in newly diagnosed acute myeloid leukaemia patients. *Br J Haematol* 2007;136(1):87-95.
- 3- Candoni A, Damiani D, Michelutti A, Masolini P, Michieli M, Michelutti T, *et al.* Clinical characteristics, prognostic factors and multidrug-resistance related protein expression in 36 adult patients with acute promyelocytic leukemia. *Eur J Haematol* 2003;71(1):1-8.
- 4- Del Principe MI, Del Poeta G, Maurillo L, Buccisano F, Venditti A, Tamburini A, *et al.* P-glycoprotein and BCL-2 levels predict outcome in adult acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2003; 121(5): 730-8.
- 5- Leith CP, Dopecky KJ, Chen IM, Eijdem L, Slovak ML, McConnell TS, *et al.* Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia. A southwest oncology group study. *Blood* 1999;94:1086-99.
- 6- Leith CP, Kopecky KJ, Godwin J, McConnell T, Slovak ML, Chen IM, *et al.* Acute myeloid leukemia in the elderly: assessment of multidrug resistance (MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy. A southwest oncology group study. *Blood* 1997;89:3323-9.
- 7- Legrand O, Simonin G, Beauchamp-Nicoud A, Zittoun R, Marie JP. Simultaneous activity of MRP1 and pgp is correlated with in vitro resistance to daunorubicin and with in vivo resistance in adult acute myeloid leukemia. *Blood* 1999;94:1046-56.

Multiple drug resistance in acute myelocytic leukemia/acute lymphocyte leukemia patients and MDR evaluation

Alimoghaddam K.¹(MD), Alami Samimi M.¹(MD), Ashori A.¹(BS), Toutounchi M.¹(MD)
Farhadi Langroudi M.²(MD), Nadali F.¹(PhD), Iravani M.¹(MD), Mousavi S.A.¹(MD)
Khodabandeh A.¹(MD), Jahani M.¹(MD), Ghavamzadeh A.¹(MD)

¹Shariati Hospital, Hematology, Oncology and BMT Research Center, Tehran, Iran

²Iranian Blood Transfusion Organization-Research Center, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Drug resistance is a common cause of treatment failure in malignant disorders especially hematological malignancies. Overexpression of P-glycoprotein (pgp) is the most common cause of drug resistance. Studies on the importance of pgp are controversial that is attributed to the lack of a standard method for pgp assay and the lack of consistency with clinical data. The aim of this study is Multiple drug resistance (MDR) evaluation according to pgp expression in leukemic cells at the beginning of treatment, and prediction of responses to treatment, relapse or death.

Materials and Methods

Between June 2001 and May 2006, we studied 185 leukemic patients. Diagnosis was performed on each case via morphology, based on immunotypes, and by cytogenetic method; pgp expression was also evaluated by flowcytometry. For pgp evaluation, we collected peripheral blood or bone marrow samples in EDTA. Then, patients went under treatment by standard protocols and their responses to treatment were observed. Patient follow ups for response to treatment, complete remission, resistance to induction, relapse or death were conducted. Finally, clinical data were compared with laboratory results. Mann-Whitney, kruskal-valis, kaplan-meier, and chi-square tests were used for data analysis.

Results

From 185 patients with the median age of 28.5 years (within the age range of 11-76), 128 patients showed AML and 57 ALL. 62% were male and 38% female. Pgp expression showed no significant correlation with age, sex, type of leukemia, and white blood cells count. There was no significant association between pgp expression and AML subtype. Two-year Overall Survival (OS) and Disease Free Survival (DFS) were 63% and 42% respectively. DFS showed significant correlation with pgp in ALL and non-M3 subtype of AML (P=0.024).

Conclusions

Expression of pgp would be a prognostic factor for relapse prediction and might be important in treatment planning.

Key words: Multiple drug resistance, P-Glycoprotein, Acute myelocytic leukemia, Acute lymphocytic leukemia

SJIBTO 2008; 5(1): 39-45

Received: 3 July 2007

Accepted: 18 Feb 2008

Correspondence: Alimoghaddam K., Hemato-Oncologist. Shariati Hospital, Hematology, Oncology and BMT-Research Center.

P.O.Box: 14114, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88029390; Fax: (+9821) 88004140

Email: alimogh@ams.ac.ir