مجله دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (پیاورد سلامت) دوره۷ شماره ۳ مرداد و شهریور ۱۳۹۲، ۱۸۷-۱۷۷

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

ارتباط بین جهش‌های ژن FLT3 و بهبودی کامل بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مراجعه کننده به بیمارستان دکتر شریعتی

دکتر سکینه عباسی[1]، عبدالطیف اژدری[2]، شاهین محمدی[2]

چکیده

زمینه و هدف: مهمترین جهش‌های ژن FLT3 شامل جهش FLT3- ITD یا دو برابر شدن پشت سرهم توالی DNA و جهش نقطه ای D835 که خود از شایع‌ترین ناهنجاریهای ژنتیکی در لوسمی میلوئیدی حاد بوده و رشد بی رویه سلولهای سرطانی را افزایش می‌دهد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی دو جهش FLT3- ITD و D835 در بیماران میلوئیدی و تاثیر آنها را در بقای بیماران مورد مطالعه می‌باشد.

روش بررسی: از نمونه خون و یا مغز استخوان ۱۰۰ بیمار AML، DNA جهت تعیین شیوع جهش‌های مذکور و ارتباط آن‌ها با پیش آگهی به موقع بیماری استخراج و با روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. پس از جمع‌آوری اطلاعات از آزمونهای آماری t و x^2 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها : ۱۵٪ بیماران مورد آزمایش جهشITD^+ و ۸٪ نیز جهش $D835^+$ را در ژن FLT3 نشان دادند. بیماران با جهش ITD^+ نسبت به بیماران فاقد این جهشITD^- از نظر بدست آوردن بهبودی کامل شانس بیشتری داشتند(۸۳/۵٪ در بیماران ITD^+ ها در مقابل ۵۳/۳٪ در ITD^- ها). شمارش گلبول سفید نشان می‌دهد که میانگین آن در ITD^+ ها نسبت بیماران ITD^-(۷۳٦٤٦/ ml^3) به طور قابل ملاحظه‌ای ITD^-(۲٦۵۸۰/ml^3) بالاتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده نشان می‌دهد گرچه تاثیر جهشهای ITD–FLT3 و D835 در بقاء کلی بیماران از نظر آماری معنی دار نبود اما جهش ITD–FLT3 می‌تواند با توجه به افزایش شانس بهبودی کامل(Complete remission) در بیمار؛ فاکتور مهمی نیز در انتخاب نوع درمان مناسب باشد.

واژه‌های کلیدی: لوسمی میلوئیدی حاد، بهبودی کامل، ژنFLT3

* نویسنده مسئول :
دکتر سکینه عباسی؛
دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Abbasisk@tums.ac.ir

- دریافت مقاله : اسفند ۱۳۹۱ - پذیرش مقاله : تیر ۱۳۹۲

مقدمه

AML یکی از شایع ترین سرطانها در جهان است بطوریکه بر اساس گزارش موسسه ملی سرطان آمریکا هر ساله بیش از ۱۳۰۰۰ نفر در آمریکا به آن مبتلا می‌شوند و بیش از ۱/۲۵٪ مرگ ناشی از سرطان را در دنیا به خود اختصاص می‌دهد(۲و۱).

FLT3(fms- Like Tyrosine Kinase) عضو خانواده گیرنده تیروزین کینازهای کلاس III (TKRIII) بوده که شامل PDGFR, C-fms, C-Kit است(٤و۳). از نظر ساختمانی خانواده TKR از یک جایگاه خارج سلولی شامل ۵ توالی شبه ایمنوگلوبولینی، یک جایگاه درون غشایی(TM)، یک جایگاه نزدیک غشایی(JM)، دو جایگاه داخل سلولی تیروزین کیناز(TK2,TK1) که به وسیله یک جایگاه کیناز بینابینی(K1) و یک جایگاه C- ترمینال از هم جدا شده‌اند. FLT3 در سلول‌های

[1] استادیار گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[2] کارشناس ارشد هماتو لوژی، گروه هماتولوژی و بانک خون، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

بنیادی هماتوپویتیک بیان شده که به نظر می‌رسد نقش مهمی در هماتوپوئز داشته باشد(۵).

اتصال لیگاند به گیرنده باعث دایمریزه و فعال شدن از طریق اتوفسفریلاسیون گیرنده می‌شود، که این امر موجب القای چندین مسیر سیگنالینگ(Signaling) داخل سلولی شده که خود منجر به مهار روند مرگ سلولی و در افزایش رشد و تکثیر سلولها نقش مهمی دارند. بنابراین هر گونه تغییر در ساختمان یا بیان RTK می تواند ایجاد تومور کند(۷و٦).

اخیراً ناهنجاریهای مولکولی سوماتیکی متعددی در رابطه با AML بدست آمده که یکی از مهمترین آنها جهش سوماتیکی FLT3- ITD به صورت دو برابرشدن پشت سرهم در توالی DNA در جایگاه نزدیک غشایی(JM) رخ می‌دهد(۹و۸). ابتدا فرض بر این بود که جهش ITD ها در اگزون ۱۱ و۱۲ اتفاق می‌افتند.

اما مطالعات بعدی روی ساختمان ژنومیک FLT3 نشان داد که این ژن به جای ۲۱ اگزون به وسیله ۲٤ اگزون کد می‌شود و بنابراین جایگاه جهش ITD–FLT3 بجای اگزون ۱۱و۱۲، اگزون ۱٤ و ۱۵ قرار دارد(۱۰). طول جهش‌ها ITD متفاوت است اما توالیهای تکرار شده چارچوب(frame) یکسان دارند(۱۱). تحقیقات نشان می‌دهند که بیان ژن گیرنده FLT3–ITD موجب فعال شدن رشد بی رویه سلول‌های جهش یافته می‌شود(۱۸–۱۲).

جهش دیگر در ژن FLT3 جهش نقطه‌ای در کدان آسپارتیک اسید بنام D835 که در لوپ فعال سازی FLT3 Loop قرار گرفته است که مشابه جهش IDT باعث فسفریلاسیون FLT3 بدون حضور لیگاند می‌شود. D835 به عنوان یک جهش سوماتیک مرتبط با لوسمی گزارش شده است که تا کنون در افراد سالم گزارش نشده است.

تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران به بررسی این دو جهش در بیماران میلوئیدی پرداخته و تاثیر آنها در بقای بیماران مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی

در این تحقیق که یک مطالعه مقطعی است، نمونه‌های مغز استخوان یا خون محیطی ۱۰۰ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مراجعه کننده به بخش هماتولوژی بیمارستان دکترشریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران به مدت یک سال از مهر ۱۳۸۷ تا شهریور ۱۳۸۸ و پس از کسب رضایتنامه کتبی با تایید کمیته اخلاق پزشکی و پس از استخراج DNA (DNG™Plus Extaction Kit سینا ژن ایران) مورد آزمایشات مولکولی جهت بررسی جهش‌های ITD–FLT3 وD835 قرار گرفتند. پس از جمع‌آوری اطلاعات از آزمونهای آماری t و x^2 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

شناسائی جهش های ITD–FLT3 وD835 به وسیله روش PCR

اگزونهای ۱٤ و ۱۵(قبلاً اگزون ۱۱و۱۲ نامیده می‌شدند) بوسیله پرایمرهای:

14F 5'-GCAATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3'
15R 5'- CTTTCAGCATTTTGACGGCAACC-3'

تکثیر شدند. PCR در واکنش‌های ۵۰ میکرولیتری شامل ۳۰۰ نانوگرم از DNA ژنومیک، ۳۰۰ نانوگرم از هر پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTP، ۱ میلی مول $MgCl_2$، ۰/۰۵٪ از دترجنت W-1 و ۱ واحد Taq پلیمراز انجام شد.

مراحل PCR شامل یک مرحله دناتوراسیون اولیه در ۹٤°C برای ٤ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل °C ۹٤ برای ۱ دقیقه، C ° ۵۲ برای ۳۰ ثانیه و °C ۷۲ برای ۳۰ ثانیه و

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

یک مرحله طویل سازی پایانی ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه. محصولات PCR روی ژل آگارز 2٪ جداسازی شدند که نمونه‌هائی با توالی‌های طویل تراز توالی نرمال نمایانگر جهش $FLT3-ITD^{+}$ بودند.

D835 که روی اگزون ۲۰(قبلاً اگزون ۱۷) قرار دارد نیز توسط پرایمرهای:

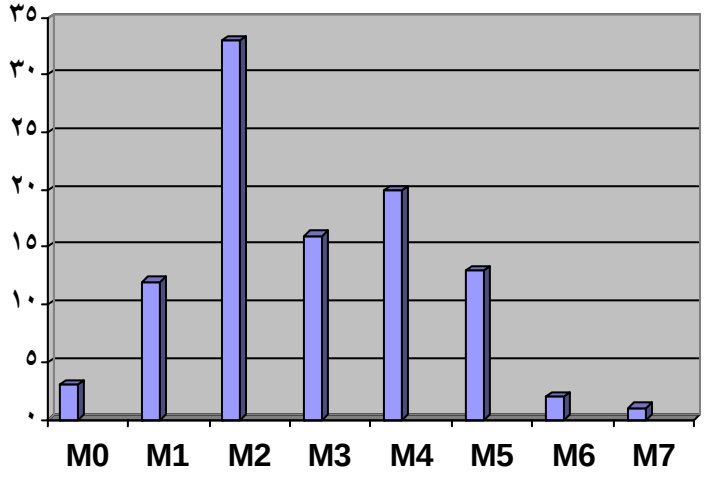
20F 5'-CCGCCAGGAACGTGCTTG-3'
20R 5'-GCAGCCTCACATTGCCCC-3'

تکثیرشد. آمینواسیدهای D835 و I836 بوسیله GATATC کد می‌شوند که محل اثر آنزیم EcoRV است. بنابراین جهش‌ها به وسیله از دست رفتن ناحیه برش قابل شناسایی هستند. PCR مانند بالا تنظیم شد. ۵ میکرولیتر از محصول PCR در واکنش‌های ۱۵ میکرولیتری بوسیله ۵ واحد EcoRV به مدت ۳ ساعت در ۳۷ °C مورد هضم قرار گرفت. محصولات هضم روی ژل آگارز ۳٪ جداسازی شدند.

پس از جمع‌آوری اطلاعات آزمونهای آماری t و x^2 جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت و p value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار فرض گردید.

یافته‌ها

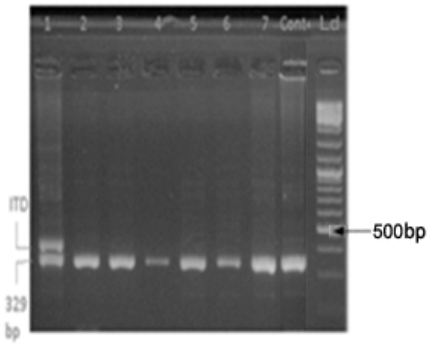
۱۰۰ بیمار AML با محدوده سنی بیماران از ۵ تا ۷۲ سال و با میانگین ۳۶ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. بیماران AML مورد مطالعه شامل گروه‌های M0=۳، M1=۱۲، M2=۳۳، M3=۱۶، M4=۲۰، M5=۱۳، M6=۲، M7=۱ نفر بودند(نمودار۱). این بیماران را ۵۳ نفر مرد و ٤٧ نفر زن تشکیل می‌دادند. این افراد در مرکز تحقیقات هماتولوژی انکولوژی بیمارستان دکتر شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران تحت درمان قرار گرفتند که ۱۵ نفر از آنان پس از بدست آوردن بهبودی کامل تحت درمان پیوند مغز استخوان نیز قرار گرفتند.



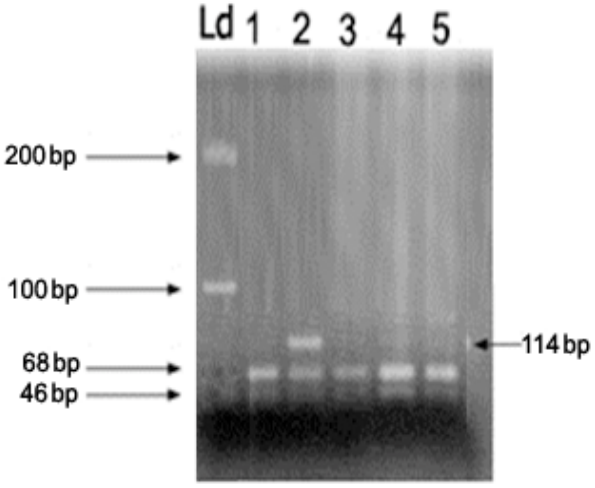
نمودار۱: نتایج حاصل از بررسی فراوانی زیر گروه های AML

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

از بین ۱۰۰ بیمار مورد مطالعه، ۱۵ نفر(۱۵٪) دارای جهش ITD و ۸ نفر(۸٪) دارای جهش D835 بودند. اما هیچکدام هر دو جهش را با هم نداشتند(شکل ۱و۲).



شکل ۱: الکتروفورز محصولات PCR برای جهش ITD بر روی آگارز ۲٪ است. ستون شماره ۱ با دو باند مربوط به بیمار دارای جهش ITD بوده که باند ۳۲۹ bp مربوط به Wild type FLT3 و باند بزرگتر مربوط به جهش(Internal tandem duplication (ITD می باشد. ستون های ۲ تا ۷ مربوط به بیماران Wild type FLT3 و بدون جهش می‌باشند

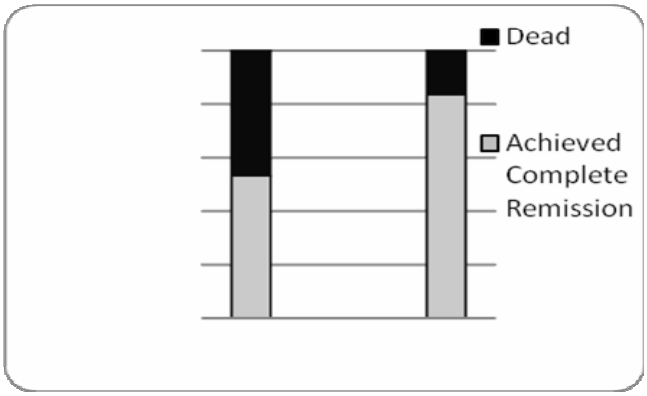


شکل ۲: الکتروفورز محصولات PCR برای جهش D835 بر روی آگارز ۳٪ است. ستون ۱ مربوط به Wild type FLT3 بوده و اثر آنزیم EcoRV درستون ۲ با دو باند مشاهده می شود که باند 114 bp جهش D835 را نشان می‌دهد

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

در هر یک از گروههایM1، M2، M3، M4، M5 سه بیمار دارای جهش FLT3-ITD شناسایی شد. در بقیه زیر گروه‌ها جهش فوق شناسایی نشد.

در M1(۳ از ۱۲ نفر و یا ۲۵٪)، M2(۳ از ۳۳ نفر و یا ۹٪)، M3(۳ از ۱٦ نفر و یا ۱۸/۷۵٪)، در M4(۳ از ۲۰ نفر و یا ۱۵٪) و در M5(۳/۱۳ نفر و یا ۲۳٪). در ۱ بیمار M7، ۲ بیمار M6 و ۳ بیمار M0 این جهش شناسایی نشد. از ۸۵ بیمار فاقد جهش FLT3-ITD، ۱٤ نفر در طی درمان در اثر عوارض درمان فوت کردند و از ۱۵ بیمار دارای جهش ۷ نفر در طی درمان فوت کردند. شایان ذکر است که تفاوت در میزان بدست آوردن بهبودی کامل در بیماران دارای جهش و فاقد آن معنی دار بود(p= ۰/۰۰۸)(نمودار۲).



نمودار ۲: مقایسه بیماران دارای جهش ITD و فاقد آن در میزان به دست آوردن بهبودی کلینیکی جهش FLT3-ITD

شمارش گلبول سفید(میانگین ۷۳٦٤٦ در میلی لیتر مکعب) در بیماران +ITD نسبت به افراد فاقد این جهش(میانگین ۲٦۵۸۰ در میلی لیتر مکعب) افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت(p=۰/۰۰٤)(۸۳/۵٪ در ITD^+ در مقابل ۵۳/۳٪ در ITD^-). بیشترین میزان شیوع جهش ITD در بیماران با سنین بین ۳٦ تا ٤۵ سال دیده می‌شود(۳۵٪).

از نظر میانگین سنی بیماران فاقد جهش دارای میانگین سنی ۲/۵±۳٤/۵ و بیماران دارای جهش میانگین سنی ٤۵ سال داشتند این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود(p=۰/۰۱). از ۸۵ بیمار فاقد جهش FLT3-ITD، ۱٤ نفر در طی درمان در اثر عوارض درمان فوت کردند و از ۱۵ بیمار دارای جهش ۷ نفر در طی درمان فوت کردند. این تفاوت در میزان بدست آوردن بهبودی کامل در بیماران دارای جهش و فاقد آن معنی دار بود(p=۰/۰۰۸). در مدت زمان پیگیری میانگین ۷۰۱ روز(حداقل ٦۱ و حداکثر ۳۰۰۰) میانگین بقای کلی برای کل بیماران، بیماران دارای جهش FLT3-ITD و بیماران فاقد جهش FLT3-ITD به ترتیب ۷۷٤ روز، ۵۵۷ و ۷۸٦ روز بود(p=۰/۰۸). به این ترتیب در بیماران مورد مطالعه در این طرح وجود جهش FLT3-ITD تاثیری در بقاء کلی بیماران نداشت.

جهش D835

از بین ۸ بیماری که جهش D835 را داشتند، ٤

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

نفر(۵۰٪) زیر گروهM1(۲/۱۲ نفر و یا ۱٦/٦٦٪) و در M2(٤/۳۳ نفر و یا ۱۲/۷٪) و در هر یک از زیر گروههای M4 و M3 یک نفر(به ترتیب ۱/۱٦ نفر و یا ٦/۲۵٪ و ۱/۲۰ و یا ۵٪) مشاهده شدند.

از بین بیمارانی که جهش D835 داشتند، ٤ نفر(۸۰٪) دارای لکوسیتوز(بالاتر از ۱۰ هزار در میلی لیتر مکعب) و ۱ نفر(۲۰٪) دارای تعداد گلبول سفید طبیعی(٤-۱۰ هزار در میلی لیتر مکعب) بود. میانگین شمارش گلبولهای سفید در بیماران دارای جهش ٦۱۰۰۰/ul و در بیماران فاقد جهش ۳۱۰۰۰/ul بود. این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود(p=۰/۰۰٤). از ۸ بیمار دارای جهش FLT3-D835 پنج بیمار بهبودی کامل پیدا کردند و از ۹۲ بیمار فاقد جهش، ۷٤ بیمار بهبودی کامل بدست آوردند که تفاوت معنی داری بین دو گروه دارای جهش و فاقد آن مشاهده نشد(p=۰/۲).

میانگین بقای کلی[Overall Survival(OS)] برای کل بیماران، بیماران دارای جهشD835 و بیماران فاقد جهش به ترتیب ۷۷٤، ۳۸۰ و ۷۹۲ روز بود(p=۰/۲). بدین ترتیب در بیماران مورد مطالعه وجود هر کدام از جهشهای FLT3 تاثیری در بقاء کلی بیماران نشان نداد(جدول ۱).

جدول۱: فراوانی جهش‌های FLT3-ITD و D835 در بین گروههای مختلف بیماران - p value کمتر از ۰/۰۵ است و اختلاف معنی دار بود

جهش ها / گروهها	تعداد	FLT3-ITD		D835	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
M0	۳	۰	-	۰	-
M1	۱۲	۳	*٪۲۵	۲	۱٦/٦٦*٪
M2	۳۳	۲	*٪۹	٤	۱۲/۱۷*٪
M3	۱٦	۳	*٪۱۸/۷۵	۱	٦/۲۵*٪
M4	۲۰	۳	*٪۱۵	۱	۵*٪
M5	۱۳	۳	*٪۲۳	۰	۰
M6	۲	۰	-	۰	۰
M7	۱	۰	-	۰	۰

بحث

در این مطالعه شیوع و پیش آگهی جهش‌های FLT3-ITD و D835 در ۱۰۰ بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد بررسی قرار گرفت که از بین ۱۰۰ بیمار مورد مطالعه، ۱۵ نفر(۱۵٪) از بیماران دارای جهش FLT3-ITD و ۸ نفر(۸٪) بیماران دارای جهش D835 بودند، در حالیکه هیچکدام از بیماران هر دو جهش FLT3-ITD و D835 را با هم نداشتند. این در حالی است که در تحقیقی مشابه روی ۸۰ بیمار AML با جهش FLT3-ITD، میزان ۱٤/۲۸٪ جهش را نشان می‌دهد(۱۹)، که با نتیجه ۱۵٪ حاصل از

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

تحقیق ما همخوانی دارد، گرچه در گزارش اخیر Yatsenko و همکارانش ۱۲/۱٪ گزارش شده است(۱٤). علاوه بر این، میزان بهبودی کامل [Complete Remission (CR)] در بیماران AML پژوهش ما با جهش FLT3-ITD افزایش بیست درصدی میزان بهبودی کامل را در مقایسه با بیماران بدون جهش نشان داد(p=۰/۰۱)، که با نتایج بدست آمده با گزارشات دیگر بر روی بیماران AML با جهشFLT3-ITD(بین۱-۲/۱٪) مطابقت دارد (۲۳-۱۹).

اما از نظر بقای کلی(Overall Survival (OS، بین بیماران با جهش‌های FLT3 و بیماران بدون جهش FLT3-ITD تفاوت معنی داری مشاهده نشد که با مطالعات Schnittger و همچنین Yatsenko و همکارانشان مبنی بر عدم تفاوت بقای کلی(OS) در دو گروه دارای جهش FLT3-ITD و فاقد آن همخوانی دارد، با این تفاوت که در مطالعه آنها میزان بالاتر عود نیز در بیماران با جهشهای FLT3-ITD گزارش شده است، که با سایر گزارشات منتشر شده همخوانی ندارد(۲٦-۲٤و۱٤). یافته‌های ما از دیدگاه همراهی FLT3-ITD و D835 با لکوسیتوز حمایت می‌کند. Yamamoto و همکارانش گزارش کرده‌اند که جهش D835 ارتباطی با بقای کلی(OS) ضعیف نداشته، اما همراه با بقای بدون بیماری [Disease Free Survival (DFS)] ضعیف است (۲۲و۲۰و۱۳). در یافته‌های ما جهش D835 تاثیری در بهبودی کامل(CR) و بقای کلی(OS) نداشت که این با نتایج بدست آمده از کار de Jonge و همکارانش در هلند بر روی ۵۲۵ بیمار میلوئیدی در سال ۲۰۱۱ مشابه است(۱٤). در حالی که Park و همکارانش در ۲۰۱۱ در کره در ۱٦٪ بیماران کاهش OS را نشان داده‌اند(۲۷).

اختلاف در میزان بهبودی کلی در بیماران دارای جهش FLT3-ITD و D835 ممکن است در سطح فعالیت کینازی و مسیرهای سیگنالینگ بین جهش‌های FLT3-ITD و D835 باشد. داده‌های حاضر از تئوری فعال شدن اولیه گیرنده تیروزین کیناز FLT3 به وسیله ITD و نه D835 و نقش آن در پاتوژنز AML و ایجاد پیش آگهی ضعیف حمایت می‌کند. شناسایی FLT3-ITD در بیماران به عنوان یک مارکر با ارزش تشخیصی و دریافت درمان متناسب با آن پیشنهاد می‌شود(۳۰-۲۸).

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که فراوانی جهشهای ITD-FLT3 و D835 در بیماران AML ما(به ترتیب ۱۵٪ و ۸٪) با موارد یکسان در جوامع مورد مطالعه دیگر مشابه است و گرچه تاثیر جهشهای ITD-FLT3 و D835 در بقاء کلی بیماران از نظر آماری تفاوت معنی داری را نشان نداد(به ترتیب p=۰/۰۸ و p=۰/۰۲) و اما جهش ITD-FLT3 می‌تواند با توجه به افزایش شانس بهبودی کامل [Complete Remission(CR)] در بیمار؛ فاکتور مهمی در انتخاب نوع درمان مناسب باشد. با این حال همچنان شناسایی FLT3-ITD در بیماران به عنوان یک مارکر با ارزش تشخیصی و دریافت درمان متناسب با آن پیشنهاد می‌شود. با توجه به محدودیت حجم نمونه در تحقیق مذکور جهت تائید نتایج فوق می‌بایست ترتیبی اتخاذ نمود که این پژوهش در آینده بر روی تعداد بیشتری از بیماران میلوئیدی انجام گیرد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق توسط مرکز تحقیقات خون شناسی و انکولوژی بیمارستان دکتر شریعتی و دانشکده

پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران حمایت شده است که بدینوسیله از زحمات آن مراکز امتنان و تشکر می‌نمائیم.

منابع

1. National Cancer Institute. SEER Stat Fact Sheets: Acute Myeloid Leukemia. Available at: http: //seer.cancer.gov/statfacts/html/amyl.html. Jun 14, 2010.

2. Jemal A, Thomas A, Murray T & Thun M. Cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2002; 52(1): 23–47.

3. Lemmon MA & Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell 2010; 141(7): 1117-34.

4. Rosnet O, Schiff C, Pebusque MJ, Marchetto S, Tonnelle C, Toriron Y, et al. Human FLT3/FLK2 gene: cDNA cloning and expression in hematopoietic cells. Blood 1993; 82(4): 1110-9.

5. Yarden Y & Ullrich A. Growth factor receptor tyrosine kinases. Annual Review of Biochemistry 1988; 57(1): 443-78.

6. Heldin CH. Dimerization of cell surface receptors in signal transduction. Cell 1995; 80(2): 213-23.

7. Turner AM, Lin NL, Issarachai S, Lyman SD & Broudy VC. FLT3 receptor expression on the surface of normal and malignant human hematopoietic cells. Blood 1996; 88(9): 3383–90.

8. Nakao M ,Yokota S, Iwai T, Kaneko H, Horiike S, Kashima K, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene found in acute myeloid leukemia. Leukemia 1996; 10(12): 1911-8.

9. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Büchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 2010; 115(3): 453-74.

10. Fenski R, Flesch K, Serve S, Mizuki M, Oelmann E, Kratz Albers K, et al. Constitutive activation of FLT3 in acute myeloid leukaemia and its consequences for growth of 32D cells. British Journal of Haematology 2000; 108(2): 322-30.

11. Yokota S, Kiyoi H, Nakao M, Iwai T, Misawa S, Okuda T, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is preferentially seen in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome among various hematological malignancies. A study on a large series of patients and cell lines. Leukemia 1997; 11(10): 1605-9.

12. Kiyoi H, Towatari M, Yokota S, Hamaguchi M, Ohne R, Saito H, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is a novel modality of elongation mutation which causes constitutive activation of the product. Leukemia 1998; 12(9): 1333-7.

13. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. Blood 2001; 97(8): 2434.

14. Yatsenko Y, Kalennik O, Maschan M, Kalinina I, Maschan A & Nasedkina T. NPM1, FLT3, and c-KIT mutations in pediatric acute myeloid leukemia in Russian population. J Pediatr Hematol Oncol 2013; 35(3): 100-8.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

15. Ottone T, Zaza S, Divona M, Hasan SK, Lavorgna S, Laterza S, et al. Identification of emerging FLT3 ITD- positive clones during clinical remission and kinetics of disease relapse in acute myeloid leukaemia with mutated nucleophosmin. Br J Haematol 2013; 161(4): 533-40.

16. Cesano A, Putta S, Rosen DB, Cohen AC, Gayko U, Mathi K, et al. Functional pathway analysis using SCNP of FLT3 receptor pathway deregulation in AML provides prognostic information independent from mutational status. PLoS One 2013; 8(2): 56714.

17. Burnet S, Martino & Sierra J. Hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia with internal tandem duplication of FLT3 gene(FLT3/ITD). Curr Opin Oncol 2013; 25(2): 195-204.

18. Pratcorona M, Brunet S, Nomedeu J, Ribera JM, Tormo M, Duarte R, et al. Favorable outcome of patients with acule myeloid leukemia harboring a low- allelic burden FLT3- ITD mutation and concomitant NPM1 mutatiob: relevanceto post- remission therapy. Blood 2013; 121(14): 2734-8.

19. Mały E, Przyborsk M, Nowak T, Nowak J & Januszkiewicz D. FLT3 internal tandem duplication and FLT3-D835 mutation in 80 AML patients categorized into cytogenetic risk groups. Postepy Hig Med Dosw 2010; 64(1): 466-70.

20. De Jonge HJ, Valk PJ, De Bont ES, Schuringa JJ, Ossenkoppele G, Vellenga E, et al. Prognostic impact of white blood cell count in intermediate risk acute myeloid leukemia: relevance of mutated NPM and FLT3-ITD. Haematologica 2011; 96(9): 1310–7.

21. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. Blood 2001; 98(6): 1752.

22. Rombouts WJ, Blokland I, Löwenberg B & Ploemacher RE. Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the Flt3 gene. Leukemia 2000; 14(4): 675-83.

23. Hong SD, Kim YK, Kim HN, Lee SR, Ahn JS, Yang DH, et al. Treatment outcome of all- trans retinoic acid/anthracycline combination chemotherapy and the prognostic impact of FLT3/ITD mutation in acute promyelocytic leukemia patients. Korean J Hematol 2011; 46(1): 24-30.

24. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, Kern W, Staib P, Wuchter C, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. Blood 2002; 100(1): 59.

25. Abu Duhier FM, Goodeve AC, Wilson GA, Gari MA, Peake IR, Rees DC, et al. FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high risk group. British Journal of Haematology 2000; 111(1): 190-5.

26. Brunet S, Labopin M, Esteve J, Cornelissen J, Socié G, Iori AP, et al. Impact of FLT3 Internal Tandem Duplication on the Outcome of Related and Unrelated Hematopoietic Transplantation for Adult Acute Myeloid Leukemia in First Remission: A Retrospective Analysis. J Clin Oncol 2012; 30(7): 735-41.

27. Park SH, Chi HS, Min SK, Cho YU, Jang S, Park CJ, et al. Prognostic significance of the FLT3 ITD mutation in patients with normal-karyotype acute myeloid leukemia in relapse. Korean Journal Hematol 2011; 46(2): 88-95.

28. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, Yokota S, Minami S, Miyawaki S, et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. Blood 1999; 93(9): 3074.

29. Abdelhamid E, Preudhomme C, Helevaut N, Nibourel O, Gardin C, Rousselot P, et al. Minimal residual disease monitoring based on FLT3 internal tandem duplication in adult acute myeloid leukemia. Leuk Res 2012; 36(3): 316-23.

30. Fan J, Li L, Small D & Rassool F. Cells expression FLT3/ITD mutations exhibit elevated repair errors generated through alternative NHEJ pathway: implications for genomic instability and therapy. Blood 2010; 116(24): 5298-305.

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 4:21 IRST on Saturday November 17th 2018

The Relationship Between FLT3 Mutations And Complete Remission Of AML Patients Referring To Shariati Hospital

Abbasi Sakineh[1](Ph.D) - Ajdari Abdollatif [2](MSc.) - Mohammadi Shahin[2](MSc.)

1 Assistant Professor, Medical Biotechnology Department, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2 Master of Science in Hematology, Hematology and Blood Bank Department, School of Allied Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Received : Feb 2013
Accepted : Jun 2013

Background and Aim: FLT3 gene is a member of class III receptor Tyrosine Kinase, which is expressed in most patients with acute myeloid leukemia (AML). Mutations of FLT3 such as Internal Tandem Duplication (ITD) and point mutation of the D835 are the most common genetic defects in myeloid leukemia. These two mutations in patients with MLA and their effect on survival rate were studied for the first time in Iran.

Materials and Methods: DNA was extracted from the blood or bone marrow samples of 100 patients with AML from October 2008 to September 2009. For further analysis, PCR was performed to determine the prevalence of these mutations and their association with prognosis. Moreover, t and x^2 statistical tests were applied for data analysis.

Results: According to the results, 15% of patients revealed FLT3-ITD mutations and 8% showed mutation of D835 in FLT3 gene. In terms of achieving complete remission (CR), patients with mutation of ITD had more chance than those without such mutation (83.5% versus 53.3%). The white blood cell count was significantly higher in the ITD^+ (mean = 73,646/ml) than ITD^- patients (mean = 26,580/ml).

Conclusion: The results indicate that FLT3-ITD mutations may reduce the chances of Complete Remission (CR) in patients; however, FLT3-ITD mutation is an important factor in selecting appropriate treatment.

Key words: Acute Myeloid Leukemia (AML), FLT3 Gene, Complete Remission

*** Corresponding Author:**
Abbasi S;
E -mail:
Abbasisk@tums.ac.ir