

Araştırma Makalesi

Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi ile Multi Drug Resistance 1 Geni Ekspresyonu Arasındaki İlişki

Association Between Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia and Multi Drug Resistance 1 Gene Expression

Gözde TÜRKÖZ¹, İbrahim Ömer BARLAS¹, Selma ÜNAL², Ali Bülent ANTMEN³, Seval KUL⁴

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi Bilim Dalı, Mersin

³Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi Bilim Dalı, Adana

⁴Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Gaziantep

Özet

Amaç: Belirli bir ajana karşı dirençli olan bir tümör hücresinin yapısal ve fonksiyonel olarak birbirinden farklı ilaçlara karşı geliştirdikleri çapraz dirence çoklu ilaç direnci (Multi Drug Resistance: MDR) adı verilmektedir. MDR1 geni bu olayda önemli rol oynadığında, gendeki bazı tekli nükleotid değişimlerinin P-glikoprotein ekspresyonunu etkilediği bildirilmiştir. Bu tekli nükleotid değişimleri içinde en çok çalışılanlardan birisi C3435T polimorfizmidir. Bu çalışmada da akut lenfoblastik lösemi tanısı alıp kemoterapi gören hastaların MDR1 geni mRNA düzeyleri ile C3435T polimorfizmi ve tedaviye yanıt arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada 53 akut lenfoblastik lösemi tanısı konmuş ve kemoterapi alan hastalardan kan alınarak RNA izole edildi. Daha sonra izole edilen RNA'lar revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu ile cDNA'ya çevrildi. Elde edilen cDNA'lar MDR1 genine özgü primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla çoğaltıldı. Ekspresyon düzeyleri "Scion Image Beta 4.03" programı kullanılarak belirlendi. MDR1 genindeki C3435T polimorfizmini belirlemek için, elde edilen polimeraz zincir reaksiyon ürünleri, *Mbo I* enzimi ile kesildi ve agaroz jel elektroforezi sonrasında genotiplendirildi.

Bulgular: Çalışmamızda, MDR1 geni genotipleri ile MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0.026$).

Sonuç: MDR1 mRNA düzeyleri ile C3435T polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunduğundan tedaviye yanıtta C3435T polimorfizminin etkisinin önemli olabileceği düşünüldü.

Anahtar Sözcükler: MDR1; C3435T polimorfizmi; mRNA; RT-PCR; akut lenfoblastik lösemi

Abstract

Aim: Cross-resistance of a tumor cell developed against structurally and functionally different drugs is called Multi Drug Resistance (MDR). It's reported that certain single nucleotide polymorphisms of MDR1 gene altered P-glycoprotein expression when MDR1 gene plays a significant role in this mechanism. Among these single nucleotide polymorphisms, C3435T is one of the most studied polymorphisms. In this study, it was aimed to investigate the association among MDR1 gene C3435T polymorphism, MDR1 mRNA levels, and therapeutic response in the patients receiving chemotherapy following the diagnosis of acute lymphoblastic leukemia.

Method: In the study, peripheral blood samples were collected from 53 acute lymphoblastic leukemia patients receiving chemotherapy and subsequently, RNAs were isolated from each sample. Next, isolated RNAs were converted into cDNA by reverse transcriptase polymer chain reaction (RT-PCR). Resultant cDNAs were then amplified using MDR1 gene specific primers by PCR. Expression levels were determined using "Scion Image Beta 4.03" program. In order to determine C3435T polymorphism in MDR1 gene, PCR products were digested with *Mbo I* enzyme and genotyped following agarose gel electrophoresis.

Results: In our study, a statistically significant difference was found upon comparison of MDR1 gene genotypes with MDR1 gene mRNA levels/beta actin mRNA ratios ($p=0.026$).

Conclusion: As a statistically significant difference exists between MDR1 gene mRNA levels and C3435T polymorphism genotype distribution, it is assumed that C3435T polymorphism might have an important impact on therapeutic response.

Keywords: MDR1; RT-PCR; C3435T polymorphism; mRNA; acute lymphoblastic leukemia

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2011;4(2):8-11

Geliş Tarihi : 20.01.2012

Kabul Tarihi : 23.05.2012

Yazışma Adresi: Arş. Gör. Gözde TÜRKÖZ, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Çiftlikköy Kampüsü 33343, Mersin

Tel : 0324 3610684/1134

Faks : 0324 361 0015

E-posta : gozdeturkoz@hotmail.com

*Bu çalışma: "XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 28-31 Ekim 2009, Bodrum"da poster bildirisi olarak sunulmuştur.

**Bu çalışma: "Çocukluk Çağı Akut Lenfoblastik Lösemisi ile Multi Drug Resistance 1 Geni Ekspresyonu Arasındaki İlişki" isimli tez çalışmasından üretilmiştir.

Giriş

Akut lenfoblastik lösemi (ALL) olgunlaşmamış lenfoid öncü hücrelerinin klonal olarak çoğalması ile kemik iliği, periferik kan ve diğer organları istila etmesi sonucu oluşan bir lösemi çeşididir (1,2). Çocukluk çağı kanserlerinin yaklaşık 1/3'ünü oluşturmaktadır. Akut lösemilerin kesin nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte hem kalıtsal yatkınlığın, hem de çevresel faktörlerin ALL sürecinde etkili olduğu düşünülmektedir (2).

Çocukluk çağı kanserlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan ALL'nin Amerika'daki kanserle ilişkili çocuk ölümlerinin temel nedenidir. Her yıl 20 yaşın altında yaklaşık 3250 çocuk lösemi tanısı almaktadır ve bu sayının 2400'ünü ALL oluşturmaktadır (3). Dünya çapında yıllık insidansı 100.000'de 9-10 iken Türkiye'de bu oran Sağlık Bakanlığı verilerine göre 100.000'de 1.5'dir (4).

Çocukluk çağı kanser tedavisinde birçok hasta için umut verici gelişmeler olmasına rağmen, hastaların önemli bir kısmında tedaviye yanıt alınamamaktadır. Tedaviye yanıt alınmamasının temel nedenlerinden biri, hastada ilaç direncinin gelişmesidir (5). Bu olayda anti-kanser ilaçlarının metabolizması için önemli olan proteinleri kodlayan genlerin rol oynadığı düşünülmekte ve Multi Drug Resistance 1 (MDR1) geninin bu anlamda önemli olduğu bilinmektedir (6,7). Bu genin aşırı ekspresyonu, lösemilerin tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı bir direncin gelişmesine neden olmaktadır (8).

MDR1 geni, 7 numaralı kromozom üzerine yerleşmiş olup, 170-kDa'luk bir protein olan P-glikoproteini (P-gp) kodlamaktadır. P-gp, ATP bağlayıcı kaset taşıyıcı protein süper ailesinin bir üyesidir ve kanser hücrelerinden ilaçların dışarıya atılmasını sağlayan ATP-bağımlı bir pompanın çalışmasından sorumludur (6,8).

MDR1 geninde çeşitli tekli nükleotid değişimi (SNP: Single nucleotide polymorphism) belirlenmiş ve bu durumun P-gp ekspresyonunu etkilediği gözlenmiştir (9).

MDR1 geninde incelenen SNP'ler arasında en fazla ilgiyi, P-gp'nin azalan ekspresyonu ve aktivitesinden sorumlu, genin 26. eksonunda bulunan sessiz C3435T polimorfizmi çekmektedir (10).

Çalışmamızda, ALL tanılı ve kemoterapi alan hastaların MDR1 mRNA düzeyleri ve C3435T polimorfizmi ile tedaviye yanıt arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

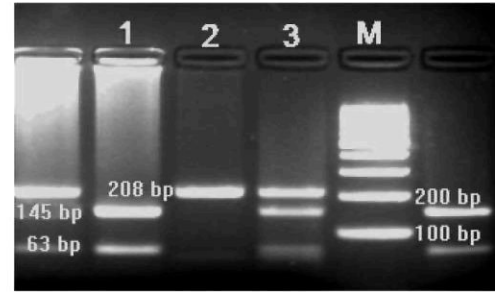
Gereç ve Yöntem

Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematolojisi

Bilim Dalı ve Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Hematolojisi Bilim Dalı'na başvuran, ALL tanısı konmuş ve kemoterapi alan 53 birey (0-15 yaş arası) dahil edildi.

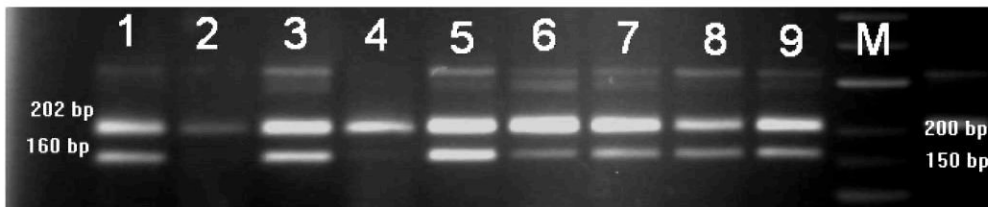
Kemoterapi tedavisi gören bireylerden alınan periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu kiti kullanılarak DNA izolasyonu yapıldı. Aynı zamanda alınan kan örneklerinden Asid Guanidinyum-Fenol-Kloroform (AGPC) yöntemiyle RNA izolasyonu yapıldı (11). İzole edilen RNA'lar "Revers Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyon (RT-PCR)" yöntemi ile cDNA elde etmede kullanıldı.

Çalışmada, MDR1 geni C3435T polimorfizmini belirlemek amacıyla MDR1 gen bölgesinin PCR ile amplifikasyonunu gerçekleştirmek için, bu bölgeye özgü F-5'-TTG ATG GCA AAG AAA TAA AGC-3' ve R-5'-CTT ACA TTA GGC AGT GAC TCG-3' primerleri kullanıldı (12). Amplifikasyon sonrası PCR ürünleri *Mbol* restriksiyon enzimi ile 37 °C'de 1 gece kesime bırakıldı. Kesilen PCR ürünlerinin %3'lük agaroz jelle elektroforezi sonrasında, C/C genotipi için 145/63 bp, T/T genotipi için 208 bp, C/T genotipi için ise 208/145/63 bp'lik fragmentler elde edildi (Şekil 1).



Şekil 1. MDR1 geni C3435T polimorfizmine ait alellerin elektroforez sonrası görüntüsü. M: DNA marker (Fermentas SM0241); 1. örnek C/C genotipi (145 ve 63 bp), 2. örnek T/T genotipi (208 bp), 3. örnek C/T genotipi (208, 145 ve 63 bp).

RT-PCR yöntemiyle elde edilen cDNA'lar ile MDR1-F-5'-CAG ACA GCA GGA AAT GAA GTT GAA-3', MDR1-R-5'-GCT TTC TGT CTT GGG CTT GT-3', internal kontrol olarak beta aktin F-5'-GGC GGC ACC ACC ATG TAC CCT-3', beta aktin R-5'-AGG GGC CGG ACT CGT CAT ACT-3' primerleri kullanılarak MDR1 gen ve beta aktin gen mRNA düzeyi belirlendi. "Scion Image Beta 4.03" programı kullanılarak belirlenen MDR1 geni ve beta aktin geni mRNA yoğunlukları birbirine oranlandı (Şekil 2).



Şekil 2. MDR1 geni ve internal kontrol beta aktin geni cDNA'larının elektroforez sonrası görüntüsü. M: DNA marker (Fermentas SM1208), 1-9: bireylere ait MDR1 geni (160 bp) ve beta aktin geni (202 bp) cDNA fragmentleri.

İstatistiksel Analiz

MDR1 geni C3435T polimorfizminin genotip dağılımının Hardy Weinberg dengesinde olup olmadığı belirlenerek, Hardy Weinberg dengesinin kontrolünde ki-kare testi kullanıldı. MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranı normal dağılıma uygunluk kontrolünde Shapiro Wilks testi kullanıldı ve normal dağılıma sahip olmadığı gözlemlendi. Bu nedenle iki grup karşılaştırmasında, Mann Whitney U Testi kullanıldı. İki gruptan fazla bağımsız grup karşılaştırmalarında (genotip ve mRNA düzeyi/β aktin mRNA düzeyi oranı) Kruskal Wallis ve anlamlı farklılık olan grupların belirlenmesinde Dunn çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Tanıtıcı istatistik olarak frekans, yüzde ve medyan (%25-%75'lik persantiller) değerleri verildi. İstatistiksel analizler, SPSS (Statistical Package for Social Sciences, version 11.5) Paket Programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Çalışma grubundaki toplam 53 bireyin 51'inde MDR1 geni 26. ekson bölgesinde bulunan C3435T polimorfizmine ilişkin genotipik gruplar ve oranlar Tablo 1'de verilmiştir. Çalışma grubuna ilişkin MDR1 geni C3435T polimorfizmi genotip dağılımı toplam 51 kişiden 13'ünün C/C genotipine (%25.5), 27'sinin C/T genotipine (%52.9), 11'i (%21.6) ise T/T genotipine sahip olduğu belirlendi. Çalışma grubuna ilişkin C/C, C/T, T/T genotip dağılımının Hardy Weinberg dengesinde olduğu gözlemlendi (p=0.665).

Akut lenfoblastik lösemili çalışma grubuna ait MDR1 C3435T genotip dağılımları ile MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu (p=0.026). C/T genotipine sahip bireylerde MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının T/T genotipine sahip bireylere göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptandı (p=0.021) (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma grubunda MDR1 C3435T genotip dağılımları ile MDR1 mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması

Genotip	Çalışma Grubu n (%)	Medyan (mRNA Düzeyi/Beta Aktin mRNA Düzeyi Oranı)	25-75 P*	p
C/C	13 (25.5)	0.880	0.742-1.122	0.026
C/T	27 (52.9)	0.910	0.765-1.280	
T/T	11 (21.6)	0.720	0.532-0.823	

*P: Persantil

Çalışma grubunda homozigot T/T genotipine sahip olan bireyler ile homozigot CC veya heterozigot C/T genotipe sahip olan bireyler MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları bakımından karşılaştırıldı (Tablo 2). Homozigot C/C veya heterozigot C/T genotipe sahip olan bireylerde MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları T/T genotipine sahip bireylere göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p=0.010).

Tablo 2. Homozigot T/T genotipine sahip olma ile homozigot C/C veya heterozigot C/T genotipe sahip olan bireylerin MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranlarının karşılaştırılması

Genotip	Ekspresyon			p
	Çalışma Grubu n (%)	Medyan	25-75 P*	
CC+CT	40 (78.4)	0.895	0.75-1.25	0.010
TT	11 (21.6)	0.720	0.52-0.83	

*P: Persantil

Cinsiyet ile MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları kıyaslandığında %25'lik ve %75'lik persantillere göre kızlarda medyan değeri 0.860 (0.690-0.990) iken, erkeklerde bu değer 0.840 (0.725-1.065) olarak belirlendi. Bu veriler göz önüne alındığında cinsiyet ile MDR1 geni mRNA düzeyi/beta aktin mRNA düzeyi oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı saptandı (p= 0.922).

Tartışma

Akut lenfoblastik lösemi çocukluk çağında oldukça yaygın görülen bir lösemi tipi olup, tedavisinde kemoterapi önemli bir yer tutmaktadır. ALL'li çocukların büyük bir kısmı tedaviye olumlu yanıt verirken, bir kısmında ise tedaviye karşı direnç gözlenmektedir (13). Çoklu ilaç direnci olarak adlandırılan bu direnç kemoterapide önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Kemoterapi sürecini etkileyen birçok gen polimorfizmi olduğu düşünülmüştür (13). Bu gen polimorfizimleri içinde, hastaların çeşitli MDR1 substratlarına karşı farklı tepkiler vermesini sağlayan MDR1 geninin 26. eksonunda yer alan C3435T polimorfizmi (rs1045642) önemli yer tutmaktadır. Bu polimorfizmin MDR1 geninde herhangi bir amino asit değişikliğine neden olmadan, MDR1 geni mRNA ekspresyonu ile P-gp aktivitesini etkilediği düşünülmektedir. C3435T polimorfizminin P-gp ekspresyon/ aktivitesini değiştirip kişinin tedaviye yanıtını etkileyerek ilaç direncinin gelişimine sebep olduğu belirtilmiştir (14).

Baran ve ark. (8), akut miyeloid lösemi (AML)'de ilaç direncini araştırmak için in vitro model olarak HL60 hücre hattıyla çalışmışlar ve hücre hattına artan konsantrasyonlarda vinkristin uygulamışlardır. Sonuçlar, yüksek vinkristin konsantrasyonlarında HL60 hücrelerinin hayatta kalabildiğini göstermiştir ve bu direnç MDR1 geninin aşırı ekspresyonu ile açıklanmıştır.

Hoffmeyer ve ark. (9), 3435 pozisyonundaki C→T dönüşümü ile intestinal P-gp ekspresyonunun azaldığını ve digoksin ilaç kullanımının arttığını gözlemiş ve CC genotipine sahip bireylerde ise intestinal P-gp seviyesinin arttığını ve intestinal digoksin ilaç alınımının azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca MDR1 geni C3435T polimorfizmi ile MDR1 geni mRNA düzeylerini karşılaştırmış ve CC genotipine sahip bireylerde mRNA ekspresyonunu TT genotipine sahip bireylerden daha yüksek bulmuşlardır.

Çalışmamızda, C/C ve C/T genotipine sahip bireylerin yüksek ekspresyona sahip olmaları ve ilaç direnci göstermeleri beklenmesine rağmen, remisyonadaki

hastalarda C/C ve C/T genotiplerine sahip bireylerin sayısı oldukça yüksektir. Tedaviye olumlu yanıt alınması, genotip ile mRNA/protein seviyeleri arasındaki ilişkinin çeşitli faktörlerden etkilendiği (çevre, transkripsiyonel regulasyon gibi) ve polimorfizmin etkisinin baskılanmış olabileceği düşünülebilir. mRNA ekspresyon seviyesi yüksek gözlenmekle birlikte, post translasyonel modifikasyonlar veya tedavide kullanılan çeşitli ilaçların P-gp aktivite düzeyinin değişmesine sebep olduğu düşünülmektedir (15,16).

Çalışma grubumuzda yüksek ekspresyon düzeyi gözlenmesine rağmen bireylerin çoğunluğunun tedaviye yanıt verdiği görülmüştür. Ekspresyon seviyeleri yüksek gözlenen de bireylerde remisyonun sağlanabileceği söylenebilir. Bu konu ile ilgili Pirker ve ark. (17)'nin, AML'li hastalarda MDR1 gen ekspresyonunun rolünü araştırmak için yaptıkları çalışmada, blast hücrelerinin teşhis aşamasında belirlenen mRNA düzeylerinin tedavi sonucuyla ilişkili olduğu gözlenmiştir. Hastaların %29'unda MDR1 mRNA seviyelerinin negatif, %71'inde ise mRNA seviyelerinin pozitif olduğu bulunmuştur.

Dong ve ark. (18)'nin, MDR1 gen ekspresyonunun akut lösemideki önemini ortaya koymak için yaptıkları çalışmada, tam remisyon gösteren hastalarda gittikçe artan mRNA seviyelerinin erken relaps gelişimine yol açtığını belirtmişlerdir. Dolayısıyla, çalışmamızda yüksek ekspresyon seviyeleri gözlenen hasta bireylerin tedaviye olumlu yanıt vermelerine rağmen, tedavinin ilerleyen aşamalarında relaps gelişim riskinin olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak; MDR1 mRNA düzeyleri ile MDR1 C3435T polimorfizmi genotip dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunması, MDR1 C3435T polimorfizminin tedaviye yanıtta prognostik bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Kaynaklar

- Cortes JE, Kantarjian HM. Acute lymphoblastic leukemia. A comprehensive review with emphasis on biology and therapy. *Cancer* 1995;76(12):2393-417.
- Jamrozik K, Balcerczak E, Smolewski P, Robey RW, Cebula B, Panczyk M, Kowalczyk M, Szmigielska-Kapłon A, Mirowski M, Bates SE, Robak T. Functional C3435T polymorphism of MDR1 gene: an impact on genetic susceptibility and clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *T Eur J Haematol* 2004;72(5):314-21.
- Jensen CD, Block G, Buffler P, Ma X, Selvin S, Month S. Maternal dietary risk factors in childhood acute lymphoblastic leukemia (United States). *Cancer Causes Control* 2004;15(6):559-70.
- Tumer TB, Sahin G, Arıncı E. Association between polymorphisms of EPHX1 and XRCC1 genes and the risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Arch Toxicol* 2012;86(3):431-9.
- Efferth T, Sauerbrey A, Steinbach D, Gebhart E, Drexler HG, Miyachi H, Chitambar CR, Becker CM, Zintl F, Humeny A. Analysis of single nucleotide polymorphism C3435T of the multidrug resistance gene MDR1 in acute lymphoblastic leukemia. *Int J Oncol* 2003;23(2):509-17.
- Jiang EZ, Chang YJ, Lee JW, Lee WK, Kim JS, Sohn SK, Lee KB, Suh JS. Multi-drug resistance (MDR1) gene expression in de novo acute leukemia cells: correlations with CD surface markers and treatment outcome. *J Korean Med Sci* 1998;13(6):617-22.
- Huh HJ, Park CJ, Jang S, Seo EJ, Chi HS, Lee JH, Lee KH, Seo JJ, Moon HN, Ghim T. Prognostic significance of multidrug resistance gene 1 (MDR1), multidrug resistance-related protein (MRP) and lung resistance protein (LRP) mRNA expression in acute leukemia. *J Korean Med Sci* 2006;21(2):253-8.
- Baran Y, Gündüz U, Ural AU. Expression of multi drug resistance (MDR1) gene in human promyelocytic leukemia cell line selected with vincristine. *Turk J Cancer* 2005;35(2):88-92.
- Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmöller J, John A, Cascorbi I, Gerloff T, Roots I, Eichelbaum M, Brinkmann U. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(7):3473-8.
- Krzysztof J, Ewa B, Barbara C, Agnieszka J, Marek M, Tadeusz R. No influence of 3435C>T ABCB1 (MDR1) gene polymorphism on risk of adult acute myeloid leukemia and P-glycoprotein expression in blast cells. *Ther Drug Monit* 2006;28(5):707-11.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162(1):156-9.
- Jamrozik K, Balcerczak E, Młynarski W, Mirowski M, Robak T. Distribution of allelic variants of functional C3435T polymorphism of drug transporter MDR1 gene in a sample of polish population. *Pol J Pharmacol* 2002;54(5):495-500.
- Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998;339(9):605-15.
- Li YH, Wang YH, Li Y, Yang L. MDR1 gene polymorphisms and clinical relevance. *Yi Chuan Xue Bao* 2006;33(2):93-104.
- Szabó K, Bakos E, Welker E, Müller M, Goodfellow HR, Higgins CF, Váradi A, Sarkadi B. Phosphorylation site mutations in the human multidrug transporter modulate its drug-stimulated ATPase activity. *J Biol Chem* 1997;272(37):23165-71.
- Toffoli G, Corona G, Gigante M, Boiocchi M. Inhibition of Pgp activity and cell cycle-dependent chemosensitivity to doxorubicin in the multidrug-resistant LoVo human colon cancer cell line. *Eur J Cancer* 1996;32A(9):1591-7.
- Pirker R, Wallner J, Geissler K, Linkesch W, Haas OA, Bettelheim P, Hopfner M, Scherrer R, Valent P, Havelec L, Ludwig H, Lechner K. MDR1 gene expression and treatment outcome in acute myeloid leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1991;83(10):708-12.
- Dong Z, Luo J, Xu W. Clinical significance of multidrug resistance gene (mdr1) expression in patients with acute leukemia. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 1997;19(1):72-5.