

شناسایی الحاق $PLZF-RAR\alpha$ در بیماران با ریخت شناسی لوسمی پرومیلوسیتی حاد

محمد عراقی^۱، دکتر کامران علی مقدم^۲، دکتر ناهید عین الهی^۳،
بهرام چاردولی^۴، حمید رضا رحیمی^۵، شهربانو رستمی^۶، اردشیر قوام زاده^۷

چکیده

زمینه و هدف: لوسمی پرومیلوسیتی حاد (APL) با جابجایی کروموزومی (15:17) الحاق گرژن‌های PML و $RAR\alpha$ ، همراه است. شواهد سیتوژنتیک و مولکولی این جابجایی در ۹۰ تا ۱۰۰ درصد بیماران با ریخت شناسی APL شناسایی شده است. این بیماری به صورت ویژه ای به درمان با ATRA حساس بوده و به شیمی‌درمانی رایج بخوبی پاسخ می‌دهد. ناهنجاری (11;17)(q23;q21) همراه با بازآرایی $PLZF-RAR\alpha$ شایع‌ترین جابجایی جایگزین است که در کمتر از ۱٪ موارد APL دیده می‌شود. برخلاف $t(15:17)$ - APL، بلاست‌های بیماران دارای بازآرایی $PLZF-RAR\alpha$ به اثرات تمایزی رتینوئیدها مقاوم می‌باشند. بر این اساس و به منظور تعیین راهبردهای بهینه درمانی، بررسی و شناسایی این الحاق در تمام بیماران APL تازه تشخیص داده شده، اهمیت دارد.

هدف از این مطالعه شناسایی الحاق $PLZF-RAR\alpha$ و $PML-RAR\alpha$ در بیماران با ریخت شناسی APL مراجعه کننده به مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغزاستخوان بیمارستان شریعتی تهران در سال ۱۳۸۵ است.

روش بررسی: نمونه خون محیطی و/یا مغزاستخوان از ۲۰۰ بیمار با ریخت شناسی $AML-M3$ و ۲۰۰ بیمار مبتلا به زیرگروه‌های دیگر AML اخذ شده و سلولهای تک هسته‌ای بوسیله سانتریفوژ شیب غلظت فایکول جدا شد. RNA سلولی توسط محلول Trizol یا TriReagent استخراج شده و بوسیله Random Hexamer به $cDNA$ تبدیل گشت. PCR با پرایمرهای اختصاصی برای هر الحاق انجام و محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ حاوی ۰/۰۵٪ اتیدایوم بروماید الکتروفورز گردید.

یافته‌ها: با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس (RT-PCR) الحاق $PLZF-RAR\alpha$ در ۲ نفر (۱٪) از بیماران با ریخت شناسی لوسمی پرومیلوسیتی حاد شناسایی گردید.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج این تحقیق، RT-PCR یک روش حساس و سریع برای شناسایی ژنهای الحاقی در لوسمی‌ها بوده و با این روش امکان تعیین استراتژی صحیح درمانی و بدنبال آن، شناسایی حداقل بیماری باقیمانده در بیماران فوق وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: $PLZF-RAR\alpha$ ، $PML-RAR\alpha$ ، لوسمی پرومیلوسیتی حاد، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس.

* نویسنده مسئول:

شهربانو رستمی؛

مرکز تحقیقات خون و انکولوژی و پیوند

مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی

تهران

email:drostami@tmus.ac.ir

- دریافت مقاله: اردیبهشت ماه ۱۳۸۷ - پذیرش مقاله: خرداد ماه ۱۳۸۷

مقدمه

لوسمی پرومیلوسیتی حاد (APL) به وسیله ویژگی‌های ریخت شناسی خاصی مشخص می‌گردد. هم‌چنین برخی از ویژگی‌های بالینی، مانند اختلالات انعقادی و حساسیت به ترکیبات رتینوئید (مانند

^۱ کارشناس ارشد هماتولوژی و انتقال خون دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۲ دانشیار مرکز تحقیقات خون و انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۳ استادیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۴ کارشناس ارشد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۵ کارشناس ارشد ایمونولوژی مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۶ کارشناس ارشد هماتولوژی و انتقال خون مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۷ استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان دانشگاه علوم پزشکی تهران

^۱. Acute Promyelocytic leukemia

روش بررسی

در این طرح ۴۰۰ بیمار مراجعه کننده به مرکز تحقیقات خون پیوند مغز استخوان به بیمارستان شریعتی تهران در طی سال ۱۳۸۵ که بر اساس یافته‌های بالینی، ریخت شناسی و رنگ آمیزی سیتوشیمیایی به عنوان AML *de novo* تشخیص داده شده بودند مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند. تعداد شرکت کنندگان در این پژوهش نظر به نتایج مطالعات قبلی و با استفاده از فرمول آماری محاسبه گردید. از این تعداد، ۲۰۰ بیمار APL (گروه APL) و ۲۰۰ بیمار از زیر گروه‌های دیگر AML (گروه Non-APL) بودند. در بیماران با ریخت شناسی APL تعداد ۱۰۵ نفر (۵۲/۵٪) مؤنث و ۹۵ نفر (۴۷/۵٪) مذکر و محدوده سنی بیماران APL از ۲۰ تا ۷۹ سال متغیر بود.

از این بیماران پس از کسب رضایت جهت شرکت در مطالعه، ۱۰-۵ میلی لیتر نمونه خون محیطی و یا ۲-۱ میلی لیتر آسپیره مغز استخوان بر روی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد. از پرونده پزشکی بیماران جهت تکمیل فرم مشخصات بیماران و اطلاعات مربوط به شماره سلولی، میزان هموگلوبین و سایر موارد استفاده شد. نمونه مغز استخوان یا خون محیطی گرفته شده از بیماران در مدت کمتر از دو ساعت جهت جداسازی سلول‌های تک‌هسته‌ای توسط سانتریفوژ مورد استفاده قرار گرفت.

جهت جداسازی و تخلیص RNA از سولهای تک هسته‌ای خون و یا مغز استخوان، از محلول TRIZOL (Sigma, USA) استفاده گردید و سپس cDNA سنتز شد. پس از سنتز cDNA، محصول بدست آمده توسط پرایمرهای اختصاصی، مورد تکثیر قرار گرفت. به منظور تکثیر هر یک از الحاق‌ها از پرایمرهای مستقیم (forward) و معکوس (reverse) اختصاصی استفاده شد. برای تأیید محصولات بدست آمده و هم چنین برای افزایش حساسیت، در

ATRA^۱ و ترکیبات جدیدتر مانند تری‌اکسیدآرسنیک (As₂O₃)، APL را از دیگر اشکال لوسمی میلوپستی حاد (AML)^۲ مجزا می‌کند. APL با جابجایی دوطرفه (۱۷؛۱۵) t (q22;q21) شناخته می‌شود. این جابجایی، ژن‌های PML و RAR α را که به ترتیب روی کروموزم‌های 15q و 17q قرار گرفته‌اند، ملحق می‌کند. شواهد و نشانه‌های این جابجایی در ۹۰-۱۰۰ درصد بیماران با ریخت شناسی APL وجود دارد (۱،۲،۳).

ناهنجاری‌های کروموزومی دیگری نیز، مانند

t (5;17) (q35;q12-21)، t (11;17) (q23;q21) (q13;q21) (11;17) و del (17) گزارش شده‌اند که بواسطه، آن‌ها RAR α به ترتیب به ژن‌های PLZF، NPM، NuMA و STAT5b الحاق می‌شوند. همانند لوسمی پرومیلوپستی PML/RAR α ، بیماران دارای ژن‌های الحاقی NPM و NuMA به ATRA حساس می‌باشند. در مقابل، لوسمی‌های پرومیلوپستی دارای بازآرایی PLZF/RAR α به رتینوئیدها پاسخ نمی‌دهند و این نوع بیماران اگر تنها با ATRA درمان شوند، پیش‌آگهی ضعیفی نشان خواهند داد. PLZF-RAR α دومین بازآرایی مولکولی شایع در APL بوده و با توجه به مقاومت این نوع APL به رتینوئیدها و تری‌اکسیدآرسنیک و لزوم استفاده از شیمی‌درمانی ترکیبی، شناسایی و تعیین PLZF-RAR α قبل از انتخاب و شروع درمان اهمیت زیادی دارد (۲،۴،۵،۶،۷،۸).

نظر به اهمیت الحاق PLZF-RAR α جهت درمان صحیح بیماری، در این پژوهش از تکنیک مولکولی RT-PCR برای تعیین و شناسایی این الحاق در بیماران لوسمی پرومیلوپستیک حاد مراجعه کننده به مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران در طی سال ۱۳۸۵ استفاده شده است.

^۱ . All Trans retinoic Acid

^۲ . Acute myeloblastic leukemia

مرحله دوم PCR از پرایمرهای داخلی تر (Nested) شده بودند، استفاده گردید. محدوده ناحیه تکثیر با بهره گیری به عمل آمد. به منظور بررسی وجود RNA قابل تکثیر، از پرایمرهایی که برای ژن Abl طراحی

جدول شماره ۱: پرایمرهای طراحی شده برای آنالیز RT-PCR

اندازه ناحیه تکثیری (جفت باز)	نام و توالی پرایمر	ژن الحاقی هدف
		PLZF-RAR α :
	5'-TCCAGAGGGAGCTGTTTCAGC-3'	F1
4.4	5'-TCTTCTGGATGCTGCGGCGG-3'	R1
	5'-TCGAGCTTCCTGATAACGAG-3'	Nested-F2
268	5'-GGCGCTGACCCCA-TAGTGGT-3'	Nested-R2
	5'-TTCAGCGGCCAGTAGCATCTGACT-3'	Abl-S
199	5'-TGTGATTATAGCCTAAGACCCGGAGCTTTT- 3'	Ab1-AS

حضور باندی با اندازه مورد نظر در هر واکنش PCR تأیید گردید. در این مطالعه بر حسب اندازه DNA مورد نظر برای الکتروفورز از ژل های ۲/۵-۱/۵ درصد استفاده شد.

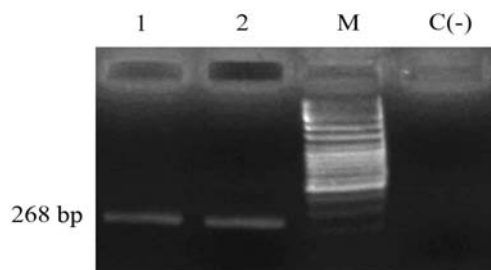
یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰۰ بیمار مبتلا به de novo AML جهت حضور ژن الحاقی PML-RAR α با روش RT-PCR بررسی شدند. از این تعداد، ۲۰۰ بیمار APL (گروه APL) و ۲۰۰ بیمار از زیرگروه‌های دیگر AML (گروه Non-APL) بودند. در بیماران با ریخت شناسی APL تعداد ۱۰۵ نفر (۵۲/۵٪) مؤنث و ۹۵ نفر (۴۷/۵٪) مذکر و در محدوده سنی ۷۹-۲۰ سال (متوسط ۳۸ سال) قرار داشتند. در هیچکدام از موارد بیماران APL non- ژن الحاقی PML-RAR α مشاهده نشد در حالی که این الحاق در ۱۹۸ بیمار از ۲۰۰ بیمار APL مورد مطالعه، مثبت

برای انجام PCR با توجه به تعداد نمونه، یک مخلوط کلی (Master Mix) تهیه و به مخلوط PCR، مقادیر مناسب پرایمر و آنزیم Taq DNA پلیمرز اضافه گردید. مخلوط کلی PCR شامل آنزیم Taq Polymerase (5 واحد (U) در میکرو لیتر)، پرایمرهای مستقیم (Forward) و معکوس (Reverse) (غلظت ۱۰ میلی مولار)، بافر ۱۰x، MgCl₂ (۵۰ میلی مولار)، dNTP Mix (۱۰ میلی مولار) و آب مقطر می‌باشد. مخلوط PCR در میکروتیوب‌های ۰/۵ میلی لیتری تقسیم شده و سپس مقدار لازم از DNA c بیمار (۲-۱ میکرو لیتر) به هرکدام از میکروتیوب‌ها اضافه گردید. در مواردی که به واکنش Nested PCR نیاز بود، ۱ میکرو لیتر از محصول PCR مرحله اول با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای توالی داخلی تر الحاق، تکثیر گردید. محصولات PCR بر اساس اندازه بر روی ژل آگارز رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، الکتروفورز شده و تکثیر DNA با

نمونه‌های بیماران دارای الحاق PLZF-RAR α ، ستون (-) C کنترل منفی (نمونه فرد سالم) و ستون - نشانگر اندازه (size marker) (۱۰۰ جفت باز) می‌باشد.

در الکتروفورز محصول Nested-PCR در بیماران دارای الحاق PLZF-RAR α با استفاده از پرایمرهای F2 و R2 باند اختصاصی گرفته شده، ۲۶۸ جفت باز می‌باشد. ستون‌های شماره ۱ و ۲ نمونه‌های بیماران دارای فیوژن PLZF-RAR α ، ستون (-) C کنترل منفی (نمونه فاقد cDNA) و ستون M نشانگر اندازه می‌باشد (تصویر شماره ۲).



تصویر شماره ۲: الکتروفورز محصول Nested-PCR در بیماران دارای فیوژن PLZF-RAR α با استفاده از پرایمرهای F2 و R2.

بحث

لوسمی پرومیلوسیتی حاد (APL) به وسیله ویژگی‌های ریخت شناسی خاصی مشخص می‌گردد. برخی از ویژگی‌های بالینی، مانند اختلالات انعقادی و حساسیت به ترکیبات رتینوئید (مانند ATRA) و ترکیبات جدیدتر مانند تری‌اکسیدآرسنیک (As₂O₃). APL را از دیگر اشکال لوسمی میلو بلاستیک حاد مجزا می‌کند.

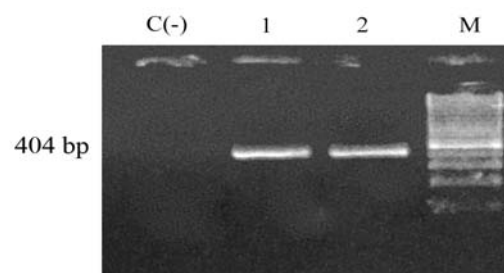
APL با جابجایی دوطرفه (q22;q21) (t(15;17)) شناخته می‌شود. این جابجایی، ژن‌های PML و RAR α را که به ترتیب روی کروموزوم‌های 15q و 17q قرار گرفته‌اند، مختل می‌کند. شواهد و نشانه‌های

بود. (۹۹٪). موارد APL که از نظر ژن الحاقی PML-RAR α ، منفی گزارش شدند (۲ نفر) جهت ژن الحاقی PLZF-RAR α مورد بررسی قرار گرفتند.

غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها از مهم‌ترین پارامترها و سنجش‌های آزمایشگاهی است که در لوسمی‌های و سایر اختلالات خونی دچار تغییر می‌شوند. در بیماران APL مورد مطالعه میانگین غلظت هموگلوبین ۹/۶ گرم در دسی لیتر، میانگین شمارش گلبول‌های سفید ۱۰۵۰۰ در هر میکرولیتر و میانگین شمارش پلاکتها ۷۲۰۰۰ در هر میکرولیتر بود.

در این مطالعه از ژن Abl به عنوان ژن House Keeping و به منظور کنترل ساخت cDNA وجود ژن قابل تکثیر، استفاده گردید.

برای شناسایی الحاق PLZF-RAR α از پرایمرهای F1 و R1 استفاده شد. با این پرایمرها محصول PCR در بیماران دارای الحاق PLZF-RAR α ، ۴۰۴ جفت باز بود. به این ترتیب ۲ نفر (۱٪) از بیماران APL دارای الحاق PLZF-RAR α بودند (تصویر شماره ۱). این الحاق در بیماران گروه Non-APL مشاهده نگردید.



تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصول PCR برای الحاق PLZF-RAR α با استفاده از پرایمرهای F1 و R1.

همانطور که در تصویر شماره ۱ ملاحظه می‌گردد با استفاده از پرایمرهای F1 و R1، باند اختصاصی گرفته شده، ۴۰۴ جفت باز می‌باشد. ستون‌های شماره ۱ و ۲

برخوردار بوده و بر اساس طراحی پرایمرهایی در دو طرف ناحیه الحاقی، ژن‌های الحاقی را مورد شناسایی قرار می‌دهد. در این مطالعه به دلیل دقت، سرعت و حساسیت بالا و نیاز به مقدار کم RNA از روش RT-PCR استفاده شد.

در ۲۰۰ بیمار APL مورد مطالعه، ۲ نفر (۱٪) دارای ژن الحاقی PLZF-RAR α بودند. این الحاق در بیماران مبتلا به زیرگروه‌های دیگر AML مشاهده نگردید.

در خصوص شناسایی و تعیین فراوانی ژن الحاقی PLZF-RAR α مطالعاتی صورت گرفته است. در یک بررسی توسط Jonathan D. Licht و همکارانش بر روی یک بیمار اهل چین با ریخت شناسی APL، جابجایی (q23;q21) (t(11;17)) و الحاق PLZF-RAR α شناسایی شد. این بیمار به درمان با ATRA پاسخ نداد. متعاقباً پنج بیمار لوسمی دیگر با (t(11;17)) و ژن الحاقی PLZF-RAR α شناسایی شدند. چهار نفر از آن‌ها از طریق ریخت شناسی تشخیص داده شده و یک نفر از آن‌ها از جمله بیمارانی بود که به گروه بیماران سرطانی دارای ویژگی‌های میلوئید و سلول‌های کشنده طبیعی تعلق داشت. تمام این بیماران ویژگی‌های سولی شناختی مابین AML-M2 و AML-M3 داشتند (۲).

پنج نفر از شش بیمار دارای APL-(t(11;17)) به درمان اولیه و ATRA پاسخ ندادند. بیمار ششم به شیمی‌درمانی اولیه پاسخ داده ولی بعد از مدت کوتاهی عدم پاسخ به ATRA و عود در وی دیده شد. از نظر بالینی این بیماران در ابتدای تشخیص خصوصیات غیرقابل تمایز از فرم کلاسیک APL داشتند. در آسیب‌ر اولیه مغز استخوان این بیماران افزایش پرومیلوسیت‌ها و شمارش کم گلبول‌های سفید خون محیطی دیده شد. در سه بیمار هم شواهدی از DIC دیده می‌شد.

این جابجایی در ۹۰-۱۰۰ درصد بیماران با ریخت شناسی APL وجود دارد.

ناهنجاریهای کروموزومی دیگری نیز مانند (t(11;17) (q23;q21)، (q35;q12-21) (t(5;17))، (q13;q21) و del(17) گزارش شده‌اند که بوسیله آن‌ها RAR α به ترتیب به ژن‌های PLZF، NPM، NuMA و STAT5b ملحق می‌شود. همانند لوسمی پرومیلوسیتی همراه با PML/RAR α ، بیماران دارای ژن‌های الحاقی NPM و NuMA به ATRA حساس می‌باشند. در مقابل، لوسمی پرومیلوسیتی دارای بازآرایی PLZF/RAR α به رتینوئیدها پاسخی نداده و در صورت درمان صرف با ATRA پیش‌آگهی ضعیفی نشان خواهند داد.

PLZF-RAR α دومین بازآرایی مولکولی شایع در APL بوده و با توجه به مقاومت این نوع APL به رتینوئیدها و تری‌اکسیدآرسنیک و لزوم استفاده از شیمی‌درمانی ترکیبی، شناسایی و تعیین PLZF-RAR α قبل از انتخاب و شروع درمان اهمیت زیادی دارد.

ژن الحاقی PLZF-RAR α را می‌توان با استفاده از تکنیک‌های مختلف از قبیل تعیین کاریوتیپ، هیبریدیزاسیون فلورسانس درجا (FISH) و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با رونویسی معکوس (RT-PCR) شناسایی کرد. تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که تعیین کاریوتیپ به دلایل مختلف نمی‌تواند جابجایی‌های کروموزومی را در همه بیماران مشخص کند. تکنیک FISH نسبت به کاریوتایپ روش دقیق‌تری برای نشان دادن بازآرایی فوق محسوب می‌گردد اما انجام و تفسیر نتایج آن نیاز به تجربه کافی داشته و همچنین حساسیت آن از روش‌های مولکولی کمتر است.

RT-PCR از تکنیک‌های مولکولی است که از سرعت و دقت کافی برای شناسایی ژن الحاقی PLZF-RAR α

تری اکساید آرسنیک به عنوان تنها ترکیبات درمانی، بسیار مهم است (۱).

نتیجه گیری

طبق مطالعات انجام شده شیوع ژن الحاقی PLZF-RAR α برابر ۰/۸٪ (کمتر از ۱٪) گزارش شده است ولی در بررسی ۲۰۰ بیمار مورد مطالعه در این تحقیق، ۲ بیمار (۱٪) دارای این الحاق بودند. اختلافاتی که در میزان شیوع این الحاق وجود دارد می‌تواند ناشی از متفاوت بودن تعداد بیماران مورد مطالعه در مطالعات مختلف، تفاوت‌های اتفاقی، تفاوت در تکنیک‌های مورد استفاده و محدوده سنی بیماران مورد مطالعه باشد.

به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده از این تحقیق شیوع الحاق PLZF-RAR α در گروه بیماران APL، با نتایج سایر مطالعات مطابقت دارد.

بر اساس یافته‌ها و نتایج حاصل از تحقیقات و مطالعاتی که توسط گروه‌ها و محققین مختلف و با توجه به خصوصیات ریخت‌شناسی و بالینی لوسمی پرومیلوسیتی با جابجایی (۱۱؛۱۷) t و دارای ژن الحاقی PLZF-RAR α را سندرم مجزایی از لوسمی پرومیلوسیتی (۱۵؛۱۷) t کلاسیک می‌دانند. از طرف دیگر شناسایی لوسمی پرومیلوسیتی با جابجایی (۱۱؛۱۷) t به دلیل پاسخ ضعیف به رتینوئیدها و هم‌چنین تری‌اکساید آرسنیک به عنوان تنها گزینه درمانی، بسیار مهم است.

در پنج نفر از این شش بیمار، تشخیص اولیه AML-M3 بود. در تمام شش مورد دارای (11;17) t، مقدار گرانول‌های میلوبلاست‌ها بیشتر از AML-M2 و کمتر از AML-M3 هیپرگرانولار بود. سلول‌های فاگوت، (faggot cell) هسته‌های دولوبی و گرانول‌های ریز نوع میکروگرانولار AML-M3 در نمونه‌های این بیماران یافت نشد. تنها یک بیمار خصوصیات ریخت‌شناسی فرم کلاسیک AML-M3 را نشان می‌داد (۲).

بر اساس این یافته‌ها، APL-(11;17) t دارای ژن الحاقی PLZF-RAR α از نظر بالینی یک سندرم مجزا از APL-(15;17) t کلاسیک دارای ژن الحاقی PML-RAR α بوده و بطور تجربی موارد (11;17) t از نظر ریخت‌شناسی در طیف کوچکی با خصوصیات مابین AML-M2 و AML-M3 کلاسیک قرار دارند. هم‌چنین ریخت‌شناسی APL به تنهایی نمی‌تواند پاسخ بالینی به درمان را، پیش‌بینی کند (۲).

در مطالعه دیگری که توسط David Grimwade و همکارانش بر روی ۶۱۱ بیمار APL انجام گرفت، ۱۱ مورد الحاق PLZF-RAR α شناسایی شد. از این ۱۱ مورد، ۹ مورد دارای (q23;q21) (11;17) t و ۲ مورد فاقد (q23;q21) (11;17) t بودند. در این مطالعه موارد دارای بازآرایی‌های مخفی PLZF-RAR α شناسایی شدند که در یک مورد از آن‌ها کاربوتیپ طبیعی بوده و PLZF-RAR α در نتیجه یک رویداد جابجایی ایجاد شده بود. طبق این بررسی PLZF-RAR α دومین بازآرایی مولکولی شایع در APL بوده و تقریباً ۰/۸٪ موارد را شامل می‌شود. شناسایی این گروه به دلیل پاسخ ضعیف به رتینوئیدها و هم‌چنین

1. Grimwade D, Biondi A, Mozziconacci M, Hagemeijer A, Berger R, et al. Characterization of acute promyelocytic leukemia cases lacking the classic t(15;17): results of the European Working Party. *Blood*. 2000 Aug; 96(4): 1297-1308
2. Jonathan D. Licht, Chomienne C, Goy A, Chen A. Clinical and Molecular Characterization of a Rare Syndrome of Acute Promyelocytic Leukemia Associated With Translocation (11; 17). *Blood*. 1995 Feb; 85(4): 1083-1094.
3. Sainty D, Liso V, Cantù-Rajnoldi A, Head D, Mozziconacci MJ, Arnoulet C, et al. A new morphologic classification system for acute promyelocytic leukemia distinguishes cases with underlying *PLZF/RARA* gene rearrangements. *Blood*. 2000 Aug; 96(4): 1287-1296.
4. Huang M, Ye YC, Chen SR, Chai JR, Lu JX, Zhao L, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1988 Aug; 72(2): 567-572.
5. Hong SH, David G, Wong CW, Dejean A, Privalsky ML. SMRT corepressor interacts with PLZF and with the PML-retinoic acid receptor alpha (RARalpha) and PLZF-RARalpha oncoproteins associated with acute promyelocytic leukemia. In: Vogt PK, editor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Aug; 94(17): 9028-9033.
6. He LZ, Guidez F, Tribioli C, Peruzzi D, Ruthardt M, Zelent A, et al. Distinct interactions of PML-RAR alpha and PLZF-RAR alpha with co-repressors determine differential responses to RA in APL. *Nat Genet*. 1998 Feb; 18(2): 126-135.
7. Melnick A, Licht JD. Deconstructing a disease: RARa, its fusion partners, and their roles in the pathogenesis of acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1999 May; 93(10): 3167-3215.
8. Chen Z, Guidez F, Rousselot P, Agadir A, Chen SJ, Wang ZY, et al. PLZF-RAR alpha fusion proteins generated from the variant t(11;17)(q23;q21) translocation in acute promyelocytic leukemia inhibit ligand-dependent transactivation of wild-type retinoic acid receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994 Feb; 91(3): 1178-1182.
9. Grimwade D, Gorman P, Duprez E, Howe K, Langabeer S, Oliver F, et al. Characterization of cryptic rearrangements and variant translocations in acute promyelocytic leukemia. *Blood*. 1997 Dec; 90(12): 4876-4885.