ارتباط پلی‌مورفیسم ژن *ZAP-70* (rs104893674"A/C") با خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد

معصومه رحیم‌زاده[۱]، *سیروس نعیمی[۱]، محمدمهدی مغنی‌باشی[۱]، خلیل خاشعی ورنامخواستی[۱]

۱. گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۳ فروردین ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۹
تاریخ انتشار: ۱۰ مهر ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف در بیماری لوسمی میلوئیدی حاد مقدار زیادی سلول نابالغ ایجاد می‌شود که می‌تواند مرتبط با حضور برخی از چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی در موقعیت‌های ژنی رمزکننده آنزیم‌های دخیل در مسیرهای سیگنالی هدایت‌کننده تکامل و فعال‌سازی سلول‌ها باشد. هدف این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم (A/C)rs104893674 ژن *ZAP-70* با خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد در نمونه‌های تهیه‌شده از بیمارستان‌های دو استان فارس و اصفهان بود.

مواد و روش‌ها در این مطالعه مورد ـ شاهدی که در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شد، ۹۴ فرد مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد به عنوان مورد و ۹۹ فرد سالم به عنوان کنترل (همسان‌سازی‌شده از لحاظ سن و جنس)، انتخاب شدند. پس از نمونه‌گیری و استخراج DNA، پلی‌مورفیسم مذکور با روش Tetra Primer ARMS PCR مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

ملاحظات اخلاقی این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1398.051 به تصویب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون رسید.

یافته‌ها نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از وجود ارتباط معنی‌دار همراه با اختصاصیت ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم (A/C) rs104893674 با استعداد ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد بود. بدین صورت که افراد با ژنوتیپ AC و دارای آلل A در این موقعیت پلی‌مورفیک، بیشتر مستعد ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد هستند (P=۰/۰۰۰).

نتیجه‌گیری ارتباط لوسمی میلوئیدی حاد با چندشکلی موقعیت ژنتیکی رمزکننده پروتئین *ZAP-70*، می‌تواند به عنوان گزینه‌ای برای پیش‌آگهی این عارضه در افراد مستعد مدنظر قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها:
لوسمی میلوئیدی حاد، زپ ۷۰، لوسمی، پلی‌مورفیسم

مقدمه

لوسمی، بیماری پیش‌رونده و بدخیم اعضای خون‌ساز بدن است که با اختصاص دادن ۸ درصد از کل سرطان‌ها به خود، پنجمین سرطان شایع جهان و بعد از سرطان معده شایع‌ترین سرطان در ایران محسوب می‌شود [۲، ۱]. براساس سرعت پیشرفت بیماری، لوسمی را می‌توان به دو نوع حاد و مزمن منشأگرفته از دو رده اصلی سلول‌های خونی یعنی رده‌های میلوئیدی و لنفوئیدی تقسیم‌بندی کرد [۳]. در این بین لوسمی حاد میلوئیدی با بروز سالانه حدود ۳/۵ در هر صد هزار نفر، شایع‌ترین شکل لوسمی حاد دوران بزرگسالی است [۵، ۴]. لوسمی حاد میلوئیدی با شیوع بیشتر در مردان نسبت به زنان به عنوان دومین سرطان خون شایع (۱۸/۵ درصد) و سومین سرطان خون کشنده در ایران به شمار می‌آید [۵، ۲]. در این سرطان هتروژن از لحاظ فنوتیپ و ژنوتیپ، در اثر تغییرات ژنتیکی در سلول‌های پیش‌ساز خونی، رشد و تمایز طبیعی این سلول‌ها دچار تغییر شده و باعث تجمع سلول‌های میلوئیدی غیرطبیعی و نابالغ در مغز استخوان و خون محیطی می‌شود. این سلول‌ها قادر به تقسیم و تکثیر بوده، اما توانایی تبدیل به سلول‌های خون‌ساز بالغ را ندارند [۶]. سالانه در اروپا تقریباً ۱۸۳۰۰ نفر مبتلا به این بیماری تشخیص داده می‌شود که با استفاده از راهکارهای درمانی مرسوم نظیر شیمی‌درمانی و پیوند مغز استخوان، تحت درمان قرار می‌گیرند [۷].

تحقیقات متعدد انجام‌شده در سراسر جهان و چند مطالعه محدود انجام‌شده در ایران برای شناسایی عوامل خطر این بیماری، نشان داده‌اند همچون سایر سرطان‌های دیگر، سبک زندگی در بروز آن تاثیر بسزایی دارد. نوع تغذیه، میزان استرس، ضعف سیستم ایمنی، مصرف دخانیات، نوع شغل، تماس با مواد شیمیایی و عوامل ژنتیکی از جمله عوامل شناخته‌شده مؤثر در بروز این نوع سرطان هستند. اما عمده تاکید پژوهشگران و درمانگران در تحقیقات اخیر صورت‌گرفته در این حوزه، بر نقش

* نویسنده مسئول:
دکتر سیروس نعیمی
نشانی: کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، دانشکده علوم، گروه ژنتیک.
تلفن: ۴۶۹۱۸۳۰ (۹۰۳) ۹۸+
پست الکترونیکی: naeimis@kau.ac.ir

عوامل ژنتیکی در بروز لوسمی حاد میلوئیدی است [۸]. از جمله عوامل ژنتیکی دخیل، وجود چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی است که تفاوت‌های فردی برای مستعد شدن در برابر نئوپلاسم‌های خاص را توضیح می‌دهد [۹]. چندشکلی‌های یک جایگاه ژنی بیان‌کننده پروتئین‌های دخیل در تکامل و فعال شدن سلول‌های میلوئیدی می‌توانند در عدم بلوغ این سلول‌ها نقش داشته باشند.

ژن *ZAP-70* واقع در موقعیت کروموزومی 2q11.2، دستورالعمل ساخت پروتئین‌کیناز وابسته به زنجیره زتا را فراهم می‌کند که به طور طبیعی روی سلول‌های NK و T بیان می‌شود و جزئی از مسیر پیام‌رسانی تکامل و فعال شدن سلول‌های خونی را هدایت می‌نماید. پروتئین فسفوترانسفرازی *ZAP-70* در مسیر سیگنالی تکامل سلول، به تیروزین‌های فسفریله‌شده زنجیره زتا به واسطه ITAM، متصل شده و فعال می‌شود. سپس *ZAP-70* فعال، تیروزین‌های ملکول‌های آداپتور مختلف نظیر LAT را فسفریله می‌کند [۱۰، ۱۱] (شکل شماره ۱). در ادامه، ملکول‌های آداپتور با ایفای نقش به عنوان محل‌هایی برای لنگراندازی آنزیم‌هایی نظیر PLCγ1 و دیگر فاکتورهای فعال‌کننده مسیرهای بالادستی، روند تکامل و فعال‌سازی سلول را پیش می‌برند [۱۲]. تا کنون ۸۳۴۰ چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی در ناحیه ژنی *ZAP-70* شناسایی شده است و مطالعات فراوانی به نقش پروتئین *ZAP-70* در بیماری‌های خودایمن و سرطان‌های مختلف اشاره کرده‌اند. برای مثال مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۰، *ZAP-70* را تیروزین‌کینازی دارای نقش حیاتی در تکامل و بیماری‌ها معرفی کرده است [۱۰]. در سال ۲۰۱۴، طی یک بررسی مشخص شد *ZAP-70* در تبدیل لوسمی لنفوسیتی مزمن به لنفومای تهاجمی B سل نقش دارد [۱۳]. نقش *ZAP-70* در بروز لوسمی لنفوسیتی حاد نیز در سال ۲۰۱۷ طی مطالعه‌ای گزارش شده است [۱۴].

rs104893674(A/C) از چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن *ZAP-70* است که به خاطر قرارگیری در داخل اگزون می‌تواند مستقیماً باعث افزایش یا کاهش عملکرد ژن و متعاقب آن افزایش یا کاهش استعداد ابتلا به بیماری‌ها شود. از طرفی تا کنون ارتباط آن با لوسمی میلوئیدی مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط این چندشکلی با خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد ـ شاهدی روی ۹۴ فرد مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد به عنوان گروه مورد و ۹۹ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام گرفت. تمامی افراد بزرگسال مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های دو استان فارس و اصفهان از مهر ۱۳۹۷ تا شهریور ۱۳۹۸ که دارای شاخص‌های لوسمی میلوئیدی حاد بودند و بیماری آن‌ها توسط پزشک متخصص تشخیص داده شده بود، وارد گروه بیمار (مورد) شدند. همچنین افراد فاقد سرطان که از نظر سن و جنس با نمونه‌های سرطانی همسان شده بودند وارد گروه کنترل شدند. افراد با سابقه هرگونه بیماری‌های داخلی از مطالعه خارج شدند. خصوصیات جمعیت‌شناختی افراد مورد بررسی در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

پس از اخذ رضایت‌نامه از افراد مورد مطالعه و پر کردن پرسش‌نامه، ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های حاوی EDTA جمع‌آوری شد. پس از جمع‌آوری کلیه نمونه‌ها، DNA به روش Salting out توسط کیت شرکت GeNet Bio ساخت کره جنوبی استخراج شد. سپس DNA استخراج‌شده در تیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد و به فریزر در دمای منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. در ادامه، کیفیت DNA استخراج‌شده روی ژل آگارز ۱ درصد مشخص شد و تعیین پلی‌مورفیسم rs104893674(A/C) با استفاده از روش Tetra Primer ARMS PCR در حضور آغازگر که براساس توالی ژن مربوطه توسط نرم‌افزارهای ملکولی Oligo 7 و Blast طراحی و سپس توسط شرکت Macrogen سنتز شده بود، انجام گرفت (جدول شماره ۲).

مخلوط واکنش PCR در حجم نهایی ۲۲ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر H_2O (آب مقطر استریل)، یک میکرولیتر (۱۰ پیکومول) از هر پرایمر کنترل رفت، کنترل برگشت، پرایمر برگشت و پرایمر آلل‌های C و A، ۱۱ میکرولیتر مسترمیکس 2x PCR Master (Ampliqon, Odense, Denmark) Mix Red. Mg cl2 و یک میکرولیتر DNA ژنومیک آماده شد و تحت برنامه دمای - زمانی مربوطه قرار گرفت (جدول شماره ۳).

محصول PCR، برای آلل C و A روی ژل آگارز ۲ درصد در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۳۵ دقیقه الکتروفورز شد و باندهای ظاهرشده با استفاده از Klac CD Gel Documentation System مشاهده شدند (تصویر شماره ۱).

جدول ۱. خصوصیات جمعیت‌شناختی افراد سالم و بیمار مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد

جنس	تعداد (میانگین سنی)	
	نمونه‌های بیمار (n =۹۴)	نمونه‌های سالم (n=۹۹)
مرد	۵۸ (۵۴/۸)	۶۱ (۵۵/۶)
زن	۳۶ (۴۴/۷)	۳۸ (۴۳/۵)

جدول ۲. مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

ژن	نام آغازگر	توالی آغازگر 3′-5′	طول	دمای Tm
ZAP-70 (rs104893674(A/C))	F.rs104893674C	5′- CTTCCGCAAGTTCTCCAGC-3′	۱۹	۵۹
	F.rs104893674A	5′-CTTCCGCAAGTTCTCCAGA -3′	۱۹	۵۷
	R.rs104893674	5′- CGATGAAGGCCATGACCTC-3′	۱۹	۵۹
	Control-F	5′-CCTCTGCACAGTTTGGAC -3′	۱۸	۵۶
	Control-R	5′-TCTGTCCAGCAATCCAGG -3′	۱۸	۵۶

تجزیه و تحلیل داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و آزمون آماری مجذور کای صورت گرفت.

یافته‌ها

نتایج ARMS-PCR

نتایج تست Tetra Primer ARMS PCR نشان‌دهنده قطعات تکثیریافته‌ای به طول ۱۶۹ جفت باز برای ژنوتیپ CC و ۲۳۷ جفت باز برای ژنوتیپ AC حاصل از تکثیر ژن *ZAP-70* در موقعیت rs104893674 (A/C) بود. از آنجایی که در بین نمونه‌ها افرادی با ژنوتیپ AA یافت نشد، محصول تکثیریافته‌ای برای آن روی ژل نمایان نشد.

مقایسه فراوانی آلل‌های A و C در موقعیت پلی‌مورفیسمی rs104893674 در بیماران و گروه کنترل

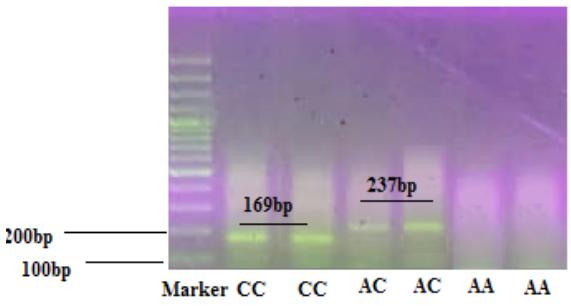
نتایج حاصل از آزمون مجذور کای ارتباط معنی‌داری را بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی هر دو آلل A و C در موقعیت پلی‌مورفیسمی rs104893674 نشان داد (P=۰/۰۰۰). نتایج شانس ابتلای ۲/۱۹ برابری برای لوسمی میلوئیدی حاد را در نتیجه حضور آلل A در این جایگاه چندشکلی اثبات کرد (OR=۲/۱۹) (جدول شماره ۴).

مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های AC، CC و AA پلی‌مورفیسم rs104893674 در بیماران و گروه کنترل

نتایج حاصل از آزمون مجذور کای ارتباط معنی‌داری را بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی ژنوتیپ‌های CC و AC در موقعیت پلی‌مورفیسمی rs104893674 نشان داد (P=۰/۰۰۰). در بین نمونه‌ها ژنوتیپ AA مشاهده نشد. شانس ۱/۵۷ برابری ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد برای افراد دارای ژنوتیپ AC در این موقعیت ژنتیکی تعیین شد (OR=۱/۵۷) (جدول شماره ۵).

بحث

سلول‌های سفید خونی معمولاً در صورت نیاز بدن، به طریقی منظم و کنترل‌شده رشد کرده و تقسیم می‌شوند، اما بیماری لوسمی در این روند اختلال ایجاد کرده و رشد سلول‌های خونی را از کنترل خارج می‌نماید. در لوسمی نوع حاد، مغز استخوان مقدار بسیار زیادی سلول‌های سفید خونی نارس تولید می‌کند و تولید طبیعی سلول‌های سفید خونی نیز متوقف می‌شود که منجر به از بین رفتن توانایی بدن در مقابله با بیماری‌ها می‌شود [۲]. با توجه به اینکه پژوهش‌های انجام‌شده روند بدخیمی لوسمی را به ژنتیک ارتباط می‌دهند، یکی از مهم‌ترین و دقیق‌ترین روش‌ها برای تشخیص این بیماری و پیش‌بینی آن، استفاده از DNA افراد و اطلاعات ژنتیکی آن‌هاست [۱۵]. بدین منظور در مطالعه حاضر ارتباط چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی rs104893674 واقع در موقعیت ژنی رمزکننده پروتئین *ZAP-70* با خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد مورد ارزیابی قرار گرفت. از آنجایی که چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی rs104893674 در داخل اگزون واقع شده است می‌تواند مستقیماً باعث افزایش یا کاهش عملکرد ژن و متعاقب آن افزایش یا کاهش استعداد ابتلا به بیماری‌ها شود. پیرو این بحث، نتایج ارتباط معنی‌داری همراه با اختصاصیت ژنوتیپی و آللی را



تصویر ۱. محصول RCP-SMRA حاصل از تکثیر ژن *ZAP-70* در موقعیت rs104893674(A/C)

جدول ۳. برنامه دمایی ـ زمانی PCR جهت تکثیر قطعه rs104893674(A/C)

ردیف	برنامه	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل‌ها
۱	دناتوراسیون اولیه	۹۴	۵ دقیقه	–
۲	دناتوراسیون	۹۴	۴۰ ثانیه	۳۲
۳	آنیلینگ	۵۷/۸	۴۰ ثانیه	
۴	اکستنشن	۷۲	۴۰ ثانیه	
۵	اکستنشن نهایی	۷۲	۵ ثانیه	۱

برای چندشکلی rs104893674 با خطر ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد نشان داد. بدین صورت که مشخص شد افراد با ژنوتیپ AC و دارای آلل A در این موقعیت پلی‌مورفیک، بیشتر مستعد ابتلا به لوسمی میلوئیدی حاد هستند. به طور مشابه مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۵، ارتباط پلی‌مورفیسم ژن *ZAP-70* را با خطر ابتلا به دیابت در جمعیت تونسی نشان داد [۱۶]. نتایج پژوهش دیگری در سال ۲۰۱۶، ارتباط بین پلی‌مورفیسم ناحیه 3′ UTR ژن *ZAP-70* را با خطر ابتلا به آرتریت روماتوئید اثبات کرد [۱۷]. آنالیز داده‌های اگزوم حاصل‌شده طی مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۷ نشان داد دو واریانت ژن *ZAP-70*، یکی واقع در اگزون ۱۲ (c.1505C>T) و دیگری واقع در اگزون ۶ (c.733G>A) با بروز نقص ایمنی مرتبط هستند [۱۸]. اما از آنجایی که بروز لوسمی میلوئیدی حاد به احتمال زیاد نتیجه تداخل عمل چندین ژن پلی‌مورفیک است، بهتر است جهت دست‌یابی به ارزیابی مطمئن‌تر، وضعیت پلی‌مورفیسم در ژن‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

جدول ۴. مقایسه فراوانی آلل‌های A و C در موقعیت پلی‌مورفیسم rs104893674 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد و گروه کنترل

آلل	تعداد (درصد)			نسبت شانس‌ها (دامنه پایین – دامنه بالا)	سطح معنی‌داری
	گروه بیمار	گروه کنترل	جمع		
A	۹۴ (۵۰)	۶۲ (۳۱)	۱۵۶ (۴۰/۴)	۲/۱۹ (۱/۴۴ –۳/۳۲)	۰/۰۰۰
C	۹۴ (۵۰)	۱۳۶ (۶۸)	۲۳۰ (۵۹/۶)	۱/۴۷ (۱/۲۰ –۱/۸۰)	۰/۰۰۰
جمع	۱۸۸ (۱۰۰)	۱۹۸ (۱۰۰)	۳۸۶ (۱۰۰)		

P=۰/۰۰۰ نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی هر دو آلل A و C؛ OR=۲/۱۹ نشان‌دهنده شانس ابتلای ۲/۱۹ برابری برای لوسمی میلوئیدی حاد در نتیجه حضور آلل A در این جایگاه.

جدول ۵. مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌های CC، AC و AA در موقعیت پلی‌مورفیسم rs104893674 در بیماران مبتلا به لوسمی میلوئیدی حاد و گروه کنترل

ژنوتیپ	تعداد (درصد)			نسبت شانس‌ها (دامنه بالا ـ دامنه پایین)	سطح معنی‌داری
	گروه بیمار	گروه کنترل	جمع		
AC	۹۴ (۱۰۰)	۶۲ (۶۲/۶)	۱۵۶ (۸۰/۸)	۱/۵۷ (۱/۳۷–۱/۸۵)	۰/۰۰۰
CC	۰ (۰)	۳۷ (۳۷/۴)	۳۷ (۳۷/۴)	۱/۰۹ (۰/۶۶ –۰/۹۷)	۰/۰۰۰
AA	۰ (۰)	۰ (۰)	۰ (۰)	–	–
جمع	۹۴ (۱۰۰)	۹۹ (۱۰۰)	۱۹۳ (۱۰۰)	–	–

P=۰/۰۰۰: نشان‌دهنده ارتباط معنی‌دار بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی ژنوتیپ‌های CC و AC؛ OR=۱/۵۷: نشان‌دهنده شانس ابتلای ۱/۵۷برابری برای لوسمی میلوئیدی حاد برای افراد دارای ژنوتیپ AC در این موقعیت.

نتیجه‌گیری

با توجه به ارتباط معنی‌دار پلی‌مورفیسم s104893674 با خطر بروز لوسمی میلوئیدی حاد می‌توان نتیجه گرفت که مارکرهای ژنتیکی، استراتژی‌های پیش‌گویی‌کننده قوی با حساسیت بالا برای تشخیص زودرس لوسمی میلوئیدی حاد هستند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه با کد اخلاق IR.IAU.KAU.REC.1398.051 به تصویب کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون رسید.

حامی مالی

این مقاله از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول، در گروه ژنتیک، دانشکده علوم‌پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون استخراج شده است.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله به یک اندازه شرکت داشته‌اند.

تعارض منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد واحد کازرون و کلیه عزیزانی که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشتند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

[1] Babaei M, Mousavi S, Malek M, Tosi G, Zolfaghari M, Danaei N, et al. Cancer occurrence in Semnan Province, Iran: Results of a population-based cancer registry. Asian Pac J Cancer Prev. 2005; 6(2):159-64. http://eprints.semums.ac.ir/860/1/APJCP_Volume_6_Issue_2_Pages_159-164.pdf

[2] Zand AM, Imani S, Sa'adati M, Borna H, Ziaei R, Honari H. [Effect of age, gender and blood group on blood cancer types (Persian)]. Kowsar Med J. 2010; 15(2):111-4. https://www.sid.ir/en/Journal/ViewPaper.aspx?ID=175155

[3] Robin KO, Mervin CY. Hematology, immunology and infectious disease: neonatology questions and controversies. 1th ed. Philadelphia: Saunders; 2008. https://www.elsevier.com/books/hematology-immunology-and-infectious-disease-neonatology-questions-and-controversies/ohls/978-1-4160-3158-1

[4] Kupsa T, Horacek JM, Jebavy L. The role of cytokines in acute myeloid leukemia: A systematic review. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2012; 156(4):291-301. [DOI:10.5507/bp.2012.108] [PMID]

[5] Fauci AS, Hauser SL, Kasper DL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. Oncology and hematology. Harrison's principles of internal medicine. 19th ed. New York: McGraw Hill Education; 2015. https://www.worldcat.org/title/harrisons-principles-of-internal-medicine/oclc/907408102#details-allauthors

[6] Steffen B, Muller-Tidow C, Schwable J, Berdel WE, Serve H. The molecular pathogenesis of acute myeloid leukemia. Crit Rev Oncol Hematol. 2005; 56(2):195-221. [DOI:10.1016/j.critrevonc.2004.10.012] [PMID]

[7] Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer incidence in five continents. IARC Sci Publ. 2002; 8(155). https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Scientific-Publications/Cancer-Incidence-In-Five-Continents-Volume-VIII-2002

[8] Saffar A, Rahgozar M, Shahi F, Biglarian A. [Survival analysis of acute myeloid leukemia (Persian)]. Iran Uni Med Sci. 2015; 22(134):41-8. http://rjms.iums.ac.ir/article-1-3921-en.html

[9] Chang FH, Tzeng DS, Lee TM, Chen TC, Hsu LS, Lung FW. Mutations in the p53 tumor suppressor gene in colorectal cancer in Taiwan. Kaohsiung J Med Sci. 2003; 19(4):151-8. [DOI:10.1016/S1607-551X(09)70464-4] [PMID]

[10] Wang H, Kadlecek TA, Au-Yeung BB, Goodfellow HES, Hsu LY, Freedman TS. *ZAP-70*: An essential kinase in T-cell signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2010; 2(5):a002279. [DOI:10.1101/cshperspect.a002279] [PMID] [PMCID]

[11] Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS. T cell activation. Annu Rev Immunol. 2009; 27:591-619. [DOI:10.1146/annurev.immunol.021908.132706] [PMID] [PMCID]

[12] Morrison DK. MAP kinase pathways. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2012; 4(11):a011254. [DOI:10.1101/cshperspect.a011254] [PMID] [PMCID]

[13] Parikh SA, Shanafelt TD. Risk factors for Richter syndrome in chronic lymphocytic leukemia. Curr Hematol Malig Rep. 2014; 9(3):294-9. [DOI:10.1007/s11899-014-0223-4] [PMID]

[14] Alsadeq A, Fedders H, Vokuhl C, Belau NM, Zimmermann M, Wirbelauer T, et al. The role of ZAP70 kinase in acute lymphoblastic leukemia infiltration into the central nervous system. Haematologica. 2017; 102(2):346-55. [DOI:10.3324/haematol.2016.147744] [PMID] [PMCID]

[15] Torkaman A, Moghaddam Charkari N, Aghaeipour M. An approach for leukemia classification based on cooperative game theory. Anal Cell Pathol (Amst). 2011; 34(5):235-46. [DOI:10.1155/2011/212174] [PMCID]

[16] Ferjeni Z, Bouzid D, Fourati H, Stayoussef M, Abida O, Kammoun T, et al. Association of TCR/CD3, PTPN22, CD28 and ZAP70 gene polymorphisms with type 1 diabetes risk in Tunisian population: Family based association study. Immunol Lett. 2015; 163(1):1-7. [DOI:10.1016/j.imlet.2014.11.005] [PMID]

[17] Chen S-Y, Liu M-F, Wang C-R. Genetic polymorphism of 3' untranslated region of zeta-chain associated protein kinase 70 kDa in southern Taiwanese patients with rheumatoid arthritis. Clinical rheumatology. 2016; 35(3):747-50. [DOI:10.1007/s10067-015-3044-5] [PMID]

[18] Chinn IK, Sanders RP, Stray-Pedersen A, Coban-Akdemir ZH, Kim VH-D, Dadi H, et al. Novel combined immune deficiency and radiation sensitivity blended phenotype in an adult with biallelic variations in ZAP70 and RNF168. Front Immunol. 2017; 8:576. [DOI:10.3389/fimmu.2017.00576] [PMID] [PMCID]

This Page Intentionally Left Blank