

بررسی تغییرات طول تلومر در فازهای مزمن و بلاستیک لوسمی مزمن میلوژن

نادیا باقری^۱، دکتر یوسف مرتضوی^۲، دکتر سید حمیداله غفاری^۳، دکتر کامران علی مقدم^۴،

دکتر علی اکبر پورفتحاله^۵، نیلوفر شایان^۶، دکتر اردشیر قوامزاده^۷

چکیده

سابقه و هدف

در سلول‌های پستانداران، طول تلومر و ساختار آن با سرطان‌ها و پیری سلولی مرتبط می‌باشد. کوتاه شدگی پیشرونده طول تلومر در ناپایداری ژنومی نقش دارد و کوتاه شدن آن در طیف وسیعی از سرطان‌های انسانی و هم چنین تغییر شکل و پیشرفت برخی بدخیمی‌های خونی گزارش شده است. لوسمی مزمن میلوژن (CML) در طول دوره بیماری دارای مراحل مختلفی می‌باشد. در این مطالعه جهت بررسی تغییرات طول تلومر، به بررسی لکوسیت‌های خون محیطی بیماران فاز مزمن (CP) و فاز بلاستیک (BP) CML پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مطالعه انجام شده از نوع توصیفی بود. ۱۴ بیمار CML فاز مزمن و ۷ بیمار فاز بلاستیک که از فروردین سال ۸۳ به بخش خون بیمارستان شریعتی مراجعه کرده بودند مورد مطالعه قرار گرفتند. طول تلومر در ۲۱ بیمار CML با روش لکه‌گذاری ساترن در آزمایشگاه مرکز تحقیقات خون و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی تهران بررسی و با افراد کنترل نرمال هم سن مورد مقایسه قرار گرفتند. جهت تحلیل نتایج از رگرسیون خطی و تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

۷۱/۴۳٪ (۴۷/۷۷ = ۹۵/۰۹ CI) از بیماران CP-CML در هنگام تشخیص، قطعات تکراری تلومری (TRF) کوتاه‌تر از حد نرمال (متناسب با سن) داشتند. میانگین طول تلومر در بیماران CP-CML و BP-CML به ترتیب برابر با $۶/۹۸ \pm ۱/۲۶$ kb و $۴/۸۱ \pm ۱/۰۶$ kb بود که نسبت به میانگین طول تلومر در افراد نرمال هم سن ($۱۰/۲۷ \pm ۱/۱۹$) دارای کاهش معنی‌دار بود. هم چنین میانگین طول تلومر در افراد BP-CML اختلاف آماری معنی‌داری را نسبت به CP-CML نشان داد. میانگین میزان کوتاه‌شدگی طول تلومر در بیماران CP-CML و BP-CML نسبت به افراد نرمال هم سن به ترتیب $۳/۳۱ \pm ۱/۳۸$ kb و $۵/۲۷ \pm ۰/۹$ kb بود.

نتیجه‌گیری

تفاوت معنی‌دار آماری میانگین طول تلومر بیماران CP-CML و BP-CML نسبت به افراد نرمال هم سن و تفاوت آشکار اندازه TRF در فاز مزمن و بلاستیک می‌تواند در پیشگویی تغییر فاز بیماری از مزمن به بلاستیک کمک کننده باشد.

کلمات کلیدی: لوسمی مزمن میلوژن، تلومر، لکه‌گذاری ساترن

تاریخ دریافت: ۸۶/ ۵/۱۰

تاریخ پذیرش: ۸۷/ ۱/۲۵

۱- دانشجوی PhD هماتولوژی و بانک خون - دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران

۲- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی - دانشیار دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- PhD ایمونوتیک - استادیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی

۴- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی - دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی

۵- PhD ایمونولوژی - استاد دانشگاه تربیت مدرس

۶- کارشناس ارشد سلولی و مولکولی - 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

لوسمی مزمن میلوژن (CML)، یک اختلال کلونال میلوپرولیفراتیو است که با کروموزوم فیلادلفیا (Ph)، حاصل جا به جایی متقابل بین بازوی بلند کروموزوم های ۲۲ و ۹ ($q11 : q34$) ($t(9:22)$) مشخص می شود. حاصل این بازآرایی، ایجاد فیوژن ژنی BCR-ABL می باشد (۱). محصول فیوژن فوق یک تیروزین کیناز خود به خود فعال می باشد که سبب گسترش رده میلوئیدی می گردد (۲). بیماری CML دارای سه فاز مزمن، تسریع شده و بلاستیک می باشد و معمولاً در فاز مزمن تظاهر می یابد (۳). معمولاً بیماران سال های متمادی در این فاز باقی می مانند و سرانجام وارد فاز تسریع شده و بلاستیک می شوند که در این صورت، لوسمی حاد میلوئیدی و یا لنفوئیدی رخ می دهد (۲). در این مرحله، بیماری منجر به مرگ بیمار در کمتر از ۶ ماه می گردد (۳). اگر چه کروموزوم فیلادلفیا معمولاً تنها یافته سیتوژنتیک غیر طبیعی در بیماران فاز مزمن CML می باشد، اختلالات سیتوژنتیک اضافی غیر طبیعی مانند $+8$ ، Ph ، $+19$ ، $iso17q$ معمولاً در فاز بلاستیک CML دیده می شود (۱).

تلومرها ساختارهای خاص انتهایی کروموزوم ها می باشند که از توالی های ساده تکرار شونده ($TTAGGG_n$) تشکیل شده اند و جهت حفظ عملکرد و ساختار ژنوم مهم می باشند (۴). از جمله اعمال تلومر می توان به ممانعت از اتصال انتهایی کروموزوم ها به یکدیگر و جلوگیری از تخریب و بازآرایی آن ها اشاره نمود (۳). عملکرد تلومرها توسط قطعات DNA و پروتئین های اتصال یابنده به تلومر و در نهایت ایجاد یک ساختار نوکلئوپروتئینی در انتهایی کروموزوم ها تضمین می گردد (۵).

به دلیل عدم توانایی DNA پلیمراز در تکثیر قطعات انتهایی کروموزوم ها (end replication problem)، تقسیم سلولی منجر به کوتاه شدن توالی های تلومریک می گردد (۵، ۴).

آنزیم تلومراز، یک ریبونوکلوپروتئین می باشد که تکرارهای تلومریک را توسط زیر واحدی از جنس RNA به عنوان الگو (hTR) همراه با فعالیت کاتالیتیک پروتئین نسخه بردار معکوس خود (hTERT)، سنتز نموده و بدین

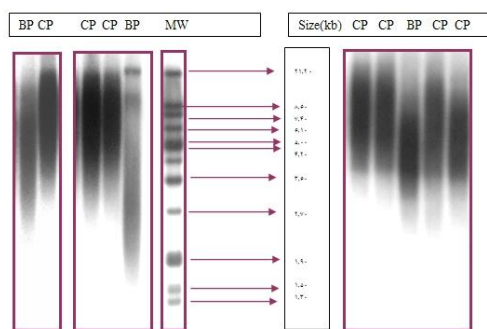
وسيله کاهش طول تلومر را جبران می نماید (۵، ۴). در صورت فقدان آنزیم تلومراز، این عمل صورت نمی پذیرد (۶). در انسان سلول های ژرم لاین، واجد آنزیم تلومراز بوده و طول تلومر خود را حفظ می نمایند در حالی که سلول های سوماتیک فاقد آنزیم تلومراز می باشند (۳). از آن جا که تلومرها فاقد ژن هستند، میزانی از کوتاه شدگی تلومر در سلول های سوماتیک قابل تحمل می باشد اما زمانی که این خوردگی ها سبب کوتاه شدگی تلومر در حد بحرانی گردد، منجر به ناپایداری ژنتیکی، فرسودگی و پیری سنی (Cell ageing) می شود (۷، ۵، ۴، ۲). یکی از مکانیسم های ناپایداری ژنتیکی که نقش مهمی در سرطان ها ایفا می نماید، از دست رفتن طول تلومر در آن ها می باشد (۸).

مطالعات قبلی نشان داده اند که طول تلومر در سلول های خونی می تواند نشان دهنده تاریخچه تکثیر آن ها باشد. کوتاه شدگی طول تلومر در تومورهای توپر (Solid Tumor) و بدخیمی های هماتولوژیک مانند AML، MDS و هم چنین در پیشرفت مرحله بیماری گزارش شده است (۹، ۳، ۲). از آن جا که کوتاه شدن طول تلومر به طور اولیه با سابقه تعداد تکثیر سلول مرتبط می باشد، در این مطالعه بیماران CML در فازهای مزمن و بلاستیک جهت بررسی تغییرات طول تلومر مرتبط با تکامل و پیشرفت بیماری مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۱۴ بیمار CML فاز مزمن در هنگام تشخیص و ۷ بیمار فاز بلاستیک که همگی دارای ترانس لوکیش ($t(9:22)$) (کروموزوم Ph) بوده و یا جهت فیوژن BCR-ABL، PCR مثبت داشتند و به بخش خون بیمارستان شریعتی تهران از فروردین ماه ۱۳۸۳ مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ۵ میلی لیتر خون وریدی بیماران CML فاز مزمن در هنگام تشخیص (با طیف سنی ۵۷-۱۹ سال) و بیماران BP-CML در هنگام ورود به فاز بلاستیک (با طیف سنی ۵۸-۲۹ سال) و ۹ نمونه از افراد نرمال (با طیف سنی منطبق با بیماران فوق) گرفته شد. قبل از اخذ نمونه های خون محیطی، کلیه

کیت غیر رادیواکتیو کمی لومینسانس تعیین طول تلومر به نام Telo TAGGG Telomere (رُوش - آلمان) انجام گرفت. فیلترها در معرض Hyprfilm ECL (بیوتک) قرار گرفته و سپس با دوربین عکس برداری شدند. میانگین طول تلومر، به صورت تعیین پیک دارای قوی ترین دانسیته توسط نرم افزار Multi Analyst (بیوراد) انجام شد (شکل ۱).



شکل ۱: آنالیز طول تلومر: DNA ژنومیک هضم شده با *HinfI* و *RsaI* با استفاده از هیبریداسیون پروب TTAGGG در هر نمونه با تعیین ناحیه دارای حداکثر دانسیته و مقایسه با شاخص وزن مولکولی، میانگین طول تلومر مشخص گردید. کاهش مشخص در طول تلومر نمونه های فاز بلاستیک نسبت به فاز مزمن دیده می شود. موقعیت تقریبی شاخص وزن مولکولی با واحد کیلو باز (kb) در سمت راست عکس نشان داده شده است. CP: نمونه DNA بیمار فاز مزمن، BP: نمونه DNA بیمار فاز بلاستیک.

آنالیز رگرسیون خطی بر روی نمونه های کنترل نرمال (طول تلومر در مقابل سن افراد) صورت گرفت و با توجه به نرمال بودن توزیع داده ها، از تحلیل واریانس یک طرفه جهت ارزیابی اختلاف طول تلومر در افراد نرمال و بیماران CP-CML و BP-CML استفاده شد. جهت مقایسه ۲ به ۲ گروه ها از آزمون List Significant Difference (LSD) استفاده شد.

یافته ها

در این مطالعه طول تلومر یا قطعات محدود انتهایی (Terminal Restriction Fragment، TRF) نمونه های خون محیطی ۹ فرد کنترل نرمال در محدوده سنی بیماران (با طیف سنی ۵۴-۲۳ سال و میانگین ۳۶/۳ سال) بین kb ۸/۰۴-۱۱/۲۷ (میانگین kb ۱۰/۲۷) بود. کمترین میزان دیده

بیماران و افراد نرمال فرم رضایت نامه را امضا نمودند. DNA ژنومیک از گلبول های سفید خون تام نمونه بیماران و افراد نرمال، با استفاده از روش پروتئیناز Salting out-K استخراج گردید.

گلبول های قرمز با بافر حاوی ۱۰ میلی مول NaCl و ۱۰ میلی مول Tris-HCl لیز و به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۱۵۰۰ سانتریفوژ (۳-۴ بار) گردید. سپس توده گلبول های سفید در بافر TES حاوی ۵۰ میلی مول NaCl، ۱۰ میلی مول EDTA و ۱۰ میلی مول Tris-HCl لیز شده و با افزودن SDS ۱٪ و پروتئیناز K (۲۰ mg/ml) به مدت یک شب در ۵۰°C انکوبه گردید. پس از آن ۶ مول NaCl به مخلوط فوق افزوده شد و در rpm ۳۴۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی به لوله جدید منتقل شد و DNA با ایزوپروپانل رسوب داده شد. پس از شستشوی DNA با اتانل (۲٪)، DNA استخراج شده در بافر TE (۱۰ میلی مول Tris-HCl، ۰/۵ میلی مول Na-EDTA، pH=۷/۴) حل گردید و غلظت و درجه خلوص آن ها با دستگاه فتومتر اپندورف اندازه گیری شد. هم چنین سالم بودن DNA و یکپارچگی آن بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ (سیگما) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱ میکروگرم از DNA با آنزیم *HinfI* و *RsaI* هضم شده و روی ژل ۰/۸٪ الکتروفورز گردید. پس از الکتروفورز، ژل در HCl ۰/۲۵ مول به مدت ۵-۱۰ دقیقه غوطه ور شد و با محلول ۰/۵ مول NaOH و ۱/۵ مول NaCl (۲ بار، هر بار ۱۵ دقیقه) شستشو داده شد. سپس در ۰/۵ مول Tris-HCl و ۳ مول NaCl (pH=۷/۵) (۲ بار، هر بار به مدت ۱۵ دقیقه) خنثی گردید.

DNA جدا شده بر اساس سایز به غشای دارای بار مثبت (رُوش - آلمان) از طریق انتقال در دمای اتاق و با استفاده از SSC $20 \times$ (۳ مول NaCl، ۰/۳ مول سیترات سدیم، pH=۷) در طی یک شب منتقل گردید. پس از انتقال DNA، غشا به طور مختصر ۲ بار با SSC $2 \times$ آبکشی و در دمای ۱۲۰°C به مدت ۲۰ دقیقه جهت ثابت شدن، حرارت داده شد و سپس مجدداً با SSC $2 \times$ شستشو گردید.

هیبریداسیون لکه گذاری ساترن و مرحله تفکیک توسط

شده در گروه نرمال $8/04 \text{ kb}$ بود. اندازه TRF در ۱۴ بیمار CP-CML (با طیف سنی ۵۷-۱۹ سال و میانگین $35/4$ سال) بین $9/21 \text{ kb}$ - $4/66$ (میانگین $6/98 \text{ kb}$) و TRF 7 بیمار BP-CML (با طیف سنی ۵۸-۲۹ سال و میانگین 42 سال) بین $6/75 \text{ kb}$ - $3/56$ (میانگین $4/81 \text{ kb}$) بود. جهت بررسی کوتاه شدگی طول تلومر نسبت به سن مربوطه، آنالیز رگرسیون روی مقادیر TRF گروه کنترل نرمال انجام شد. آنالیز رگرسیون کوتاه شدگی طول TRF همراه با افزایش سن را با معادله خط به صورت $A \times 0/033 - T = 11/461$ (A= age, years) $T = \text{TRF, kb}$) نشان داد. بر این اساس کوتاه شدگی طول تلومر مرتبط با سن 33 bp به ازای هر سال محاسبه گردید. طول تلومر متناسب با سن هر بیمار توسط فرمول معادله خط محاسبه شد و کوتاه شدگی تلومر به صورت مقادیر پایین تر از طول مورد انتظار برای سن بیمار، در صورتی که کمتر از $2 \times \text{SD} - m$ باشد، تعریف گردید. بر این اساس $43/71$ ($47/77$: 95 CI) بیماران CP-CML (۱۱ نفر از ۱۴ بیمار) دارای کوتاه شدگی طول تلومر در هنگام تشخیص نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن بودند. میزان کوتاه شدگی طول تلومر در بیماران CP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر $31/3$ ($38/1$: SD) بود. میانگین TRF در بیماران CP-CML ($6/98 \text{ kb}$) و BP-CML ($4/81 \text{ kb}$) دارای تفاوت آماری معنی داری با افراد کنترل نرمال ($10/27 \text{ kb}$) هم سن بود ($p < 0/0001$). میانگین کوتاه شدگی طول تلومر در بیماران BP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر $27/5$ ($9/0$: SD) بود. هم چنین TRF در ۲ گروه CP-CML و BP-CML دارای تفاوت معنی دار آماری بود ($p < 0/0001$).

بحث

در این مطالعه طول تلومر بیماران BP-CML و CP-CML مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور DNA خون محیطی ۱۴ بیمار CP-CML در هنگام تشخیص، ۷ بیمار BP-CML در هنگام ورود به فاز بلاستیک و ۹ فرد نرمال با انطباق سنی نسبت به گروه بیماران برای توالی های تکراری تلومر با روش لکه گذاری ساترن مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین طول تلومر افراد نرمال $10/27 \text{ kb}$ بود.

مقادیر نرمال با اطلاعات سایر گروه ها که طول تلومر را در لکوسیت های انسانی مطالعه کرده اند هم خوانی داشته است (۱۰، ۳). کوتاه شدگی طول تلومر مرتبط با سن (33 bp به ازای هر سال) مشابه مقادیر گزارش شده دیگر مقالات ($31-45 \text{ bp}$ به ازای هر سال) می باشد (۱۵-۱۰، ۶).

میانگین پیک TRF در بیماران CP-CML هنگام تشخیص $6/98 \text{ kb}$ بود که بیش از $2/3$ بیماران ($43/71$ ٪) کاهش طول تلومر را نسبت به گروه کنترل نرمال هم سن، با TRF کوتاه تر از مقدار $7/89 \text{ kb}$ ($2 \times \text{SD} - m$) برای گروه کنترل هم سن، نشان دادند ($p < 0/0001$). این یافته هماهنگ با یافته های اوهاشیکی بر روی ۲۳ بیمار فاز مزمن با طیف سنی ۷۷-۱۴ سال با میانگین TRF $1/68 \text{ kb} \pm$ و بولت وود و همکارانش بر روی ۴۱ بیمار ۸۰-۲۰ سال با میانگین TRF $6/4 \text{ kb}$ ($10/6$ -۴) می باشد (۱۰، ۳). در مطالعه بولت وود، 78 ٪ بیماران فاز مزمن دارای کاهش طول تلومر نسبت به افراد کنترل نرمال هم سن خود بوده اند و میانگین طول تلومر بیماران BP-CML $4/81 \text{ kb}$ بود که کاهش چشمگیر نسبت به گروه کنترل نرمال هم سن و نسبت به طول تلومر در فاز مزمن را نشان داد ($p < 0/0001$). نتایج گروه بیماران فاز بلاستیک نیز مطابق با یافته های گروه بولت وود و اوهاشیکی است که میانگین TRF به ترتیب بر روی ۱۲ و ۲۱ بیمار فاز بلاستیک برابر با $4/1 \text{ kb}$ ($5/4$ -۳) و $4/53 \text{ kb}$ ($5/5$ -۳/۲) گزارش شده است (۱۰، ۳). کاهش طول تلومر در بیماری های بدخیم غیر هماتولوژیک و هم چنین برخی بدخیمی های هماتولوژیک و همراه با پیشرفت بیماری نشان داده شده است (۱۳، ۱۱، ۴، ۳). کاهش طول تلومر در MDS اغلب همراه با ترانسفورماسیون لوکمیک می باشد (۱۶، ۱۵، ۳). به طور مشابه رابطه ای بین کاهش طول تلومر و پیشرفت CLL دیده شده است (۱۷، ۳). این مطالعه نیز مطرح می کند که کاهش مشخص در طول تلومر می تواند نمایی از پیشرفت بیماری CML و ترانسفورماسیون به لوکمی حاد باشد و نظریه وجود رابطه ای بین ترن اور سلول های بنیادی (Stem Cells)، ناپایداری ژنتیکی و تکامل بدخیمی را حمایت می نماید که تایید آن نیازمند اندازه گیری سریال طول تلومر در طی روند

نتیجه گیری

در این مطالعه درجه کوتاه شدگی طول تلومر را در بیماران CML فاز مزمن و بلاستیک در مقایسه با افراد نرمال هم سن مقایسه کردیم. مدل دینامیک تلومر در CML، از دست رفتن چشمگیر طول تلومر هنگام تشخیص و کوتاه شدگی با پیشرفت بیماری به فاز بلاستیک، می تواند نشان دهنده شدت بیماری بوده و در نتیجه اطلاعات پروگنوستیک مهمی در ارتباط با انتخاب بیماران در خطر بالای ترانسفورماسیون و اتخاذ شیوه مناسب درمان در اختیار ما قرار دهد.

تشکر و قدردانی

هزینه تحقیق حاضر توسط معاونت تحقیقات و فن آوری وزارت بهداشت تامین گردیده است. بدین وسیله مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را اعلام می داریم.

بیماری، درمان و بررسی دقیق پیشرفت مرحله بیماری، زمانی که این تغییرات در طول تلومر رخ می دهد، می باشد (۱۸).

با توجه به آن که کاهش واضح در طول تلومر به علت افزایش سن و تقسیمات سلولی در DNA رخ می دهد، میزان کاهش طول تلومر نسبت به همسالان نرمال می تواند کم و بیش متناسب با تعداد تقسیمات سلولی باشد و وجود TRF کوتاهتر هنگام تشخیص و یا کاهش چشمگیر آن طی روند بیماری، نشانه کاهش سلول های بنیادی نرمال و در نتیجه پیش آگهی بدتر و یا بقای کمتر در پاسخ به درمان باشد (۱۹، ۶). به طور کلی اندازه گیری TRF هنگام تشخیص می تواند واجد اهمیت بالینی در انتخاب بیماران در خطر بالای ترانسفورماسیون و راهنمایی جهت نحوه درمان باشد.

References:

- 1- Goldman JM. Chronic myeloid leukemia. In: Hoffbrand AV, editor. Postgraduate Haematology. 5th edition. Black well science;2005:603-18.
- 2- Brummendorf TH, Holyoake TL, Rufer N, Barnett MJ, Schulzer M, Eaves CJ, *et al.* Prognostic implications of differences in telomere length between normal and malignant cells from patients with chronic myeloid leukemia measured by flow cytometry. *Blood* 2000;95(6):1883-90.
- 3- Boulwood J, Fidler C, Shepherd P, Watkins F, Snowball J, Haynes S, *et al.* Telomere length shortening is associated with disease evolution in chronic myelogenous leukemia. *Am J Hematol* 1999;61(1):5-9.
- 4- Engelhardt M, Mackenzie K, Drullinsky P, Silver RT, Moore MA. Telomerase activity and telomere length in acute and chronic leukemia, pre- and post-ex vivo culture. *Cancer Res* 2000;60(3):610-7.
- 5- Fajkus J, Simickova M, Malaska J. Tiptoeing to chromosome tips: facts, promises and perils of today's human telomere biology. *Philosophical Transactions: Biological Science* 2002;357(1420):545-62.
- 6- Iwama H, Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Hayashi S, Kawakubo K, Shay JW, *et al.* The relationship between telomere length and therapy-associated cytogenetic responses in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer* 1997;79(8):1552-60.
- 7- Brummendorf TH, Ersöz I, Hartmann U, Bartolovic K, Balabanov S, Wahl A, *et al.* Telomere length in peripheral blood granulocytes reflects response to treatment with imatinib in patients with chronic myeloid leukemia. *Blood* 2003;101(1):375-6.
- 8- Murnane JP. Telomeres and chromosome instability. *DNA Repair (Amst)* 2006;5(9-10):1082-92.
- 9- Yamada O, Oshimi K, Motoji T, Mizoguchi H. Telomeric DNA in normal and leukemic blood cells. *J Clin Invest* 1995;95(3):1117-23.
- 10- Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Iwama H, Hayashi S, Shay JW, Toyama K. Telomerase activity and cytogenetic changes in chronic myeloid leukemia with disease progression. *Leukemia* 1997;11(2): 190-4.
- 11- Terasaki Y, Okumura H, Ohtake S, Nakao S. Accelerated telomere length shortening in granulocytes: a diagnostic marker for myeloproliferative diseases. *Exp Hematol* 2002; 30 (12):1399-404.
- 12- Boulwood J, Peniket A, Watkins F, Shepherd P, McGale P, Richards S, *et al.* Telomere length shortening in chronic myelogenous leukemia is associated with reduced time to accelerated Phase. *Blood* 2000;96 (1):358-61.
- 13- Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature* 1990;346(6287):866-8.
- 14- Robertson JD, Gale RE, Wynn RF, Dougal M, Linch DC, Testa NG, *et al.* Dynamics of telomere shortening in neutrophils and T lymphocytes during ageing and the relationship to skewed X chromosome inactivation patterns. *Br J Haematol* 2000;109 (2):272-9.
- 15- Ohyashiki JH, Ohyashiki K, Fujimura T, Kawakubo K, Shimamoto T, Iwabuchi A, *et al.* Telomere shortening associated with disease evolution patterns in myelodysplastic syndromes. *Cancer Res* 1994;54 (13):3557-60.
- 16- Boulwood J, Fidler C, Kusec R, Rack K, Elliott PJ, Atoyebi O, *et al.* Telomere length in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1997;56 (4):266-71.
- 17- Counter CM, Gupta J, Harley CB, Leber B, Bacchetti S. Telomerase activity in normal leukocytes and in hematologic malignancies. *Blood* 1995;85(9):2315-20.
- 18- Ohyashiki K, Ohyashiki JH. Telomere dynamics and cytogenetic changes in human hematologic neoplasias: a working hypothesis. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 94 (1):67-72.
- 19- Drummond M, Lennard A, Brummendorf T, Holyoake T. Telomere shortening correlates with prognostic score at diagnosis and proceeds rapidly during progression of chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2004;45 (9):1775-81.

Analysis of telomere length changes in chronic and blastic phases of chronic myelogenous leukemia

Bagheri N.^{1,2}(MS), Mortazavi Y.^{1,3}(PhD), Ghafari S.H.⁴(PhD), Alimoghadam K.⁴(MD),
Pourfatoullah A.A.¹(PhD), Shayan N.⁴(MS), Gavam Zadeh A.⁴(MD)

¹School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

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

³Zanjan Medical School, Zanjan, Iran

⁴Hematology–Oncology and BMT Research Center, Shariati Hospital, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

In the mammalian cells, there is a relationship between telomere length and both cancer and senescence. Progressive telomere shortening has a role in genomic instability and has been reported in a wide range of human cancers as well as in transformation and progression to hematologic malignancies. Chronic myelogenous leukemia (CML) has different stages in the process of its progression. In this study, we examined the telomere length changes in peripheral blood leukocytes of CML patients in chronic (CP) and blastic phases (BP).

Materials and Methods

In this descriptive study, we examined the telomere length in 21 CML patients (14 in chronic and 7 in blastic phases) having referred to Hematology–Oncology and BMT Research Center of Shariati Hospital since March 2004 using Southern blot analysis; the results were then compared with age-adjusted normal controls. Data were analyzed through logistic regression and Anova.

Results

At the time of diagnosis, 71.43% of chronic phase patients had a shortened TRF compared to normal age-adjusted individuals. The mean telomere length values in chronic and blastic phases were 6.98 ± 1.26 kb and 4.81 ± 1.06 kb, respectively; it showed significant telomere length reduction in age-adjusted normal controls. Moreover, the mean telomere length values in BP-CML showed significant statistical differences as compared to CP-CML. Mean values of telomere length reduction in CP-CML and BP-CML as compared with normal age-adjusted control group were 3.31 ± 1.38 kb and 5.27 ± 0.9 kb, respectively.

Conclusions

The significant statistical differences in mean telomere length of CP-CML and BP-CML as compared with age-adjusted normal controls and the apparent differences of TRF in chronic and blastic phases can be useful in prediction of phase of disease progression.

Key words: Chronic myelogenous leukemia, Telomere, Southern blot
SJIBTO 2008; 5(1): 9-15

Received: 1 Aug 2007

Accepted: 13 Apr 2008

Correspondence: Mortazavi Y., PhD of Hematology. School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University.
P.O.Box: 14155-111, Tehran, Iran. Tel: (+9821)88011001; Fax : (+9821)88013030
E-mail: ymort@yahoo.com