

خون

فصلنامه علمی پژوهشی
دوره ۵ شماره ۱ بهار (۹۱۵) ۸۷

بررسی تغییرات طول تلومر در فازهای مزمن و بلاستیک لوسومی مزمن میلوازن

نادیا باقری^۱، دکتر یوسف مرتضوی^۲، دکتر سید حمیدالله 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 شدن‌گی پیشرونده طول تلومر در ناپایداری ژنومی نقش دارد و کوتاه شدن آن در طیف وسیعی از سرطان‌های انسانی و هم‌چنین تغییر شکل و پیشرفت برخی بدخیمی‌های خونی گزارش شده است. لوسومی مزمن میلوازن (CML) در طول دوره بیماری دارای مراحل مختلفی می‌باشد. در این مطالعه جهت بررسی تغییرات طول تلومر، به بررسی لکوستهای 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

نحوه انجام شده از نوع توصیفی بود. ۱۴ بیمار CML در هنگام تشخیص، قطعات تکراری تلومری (TRF) کوتاه‌تر از حد نرمال (متناوب با سن) داشتند. میانگین طول تلومر در بیماران CP-CML و BP-CML به ترتیب برابر با $1/26 \text{ kb} \pm 1/26$ و $4/81 \pm 1/06 \text{ kb}$ بود که نسبت به میانگین طول تلومر در افراد نرمال هم سن (kb) $10/27 \pm 1/19$ دارای کاهش معنی‌دار بود. هم‌چنین میانگین طول تلومر در افراد BP-CML اختلاف آماری معنی‌داری را نسبت به CP-CML نشان داد. میانگین میزان کوتاه‌شدن‌گی طول تلومر در بیماران CP-CML و BP-CML نسبت به افراد نرمال هم سن به ترتیب $1/38 \text{ kb} \pm 1/31$ و $0/9 \text{ kb} \pm 0/5$ 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: لوسومی مزمن میلوازن، 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 ایمونوژنیک - 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

وسیله کاهش طول تلومر را جبران می‌نماید^(۴،۵). در صورت فقدان آنزیم تلومراز، این عمل صورت نمی‌پذیرد^(۶). در انسان سلول‌های ژرم لاین، واجد آنزیم تلومراز بوده و طول تلومر خود را حفظ می‌نمایند در حالی که سلول‌های سوماتیک فاقد آنزیم تلومراز می‌باشند^(۳). از آن جا که تلومرها فاقد ژن هستند، میزانی از کوتاه‌شدگی تلومر در سلول‌های سوماتیک قابل تحمل می‌باشد اما زمانی که این خوردگی‌ها سبب کوتاه‌شدگی تلومر در حد بحرانی گردد، منجر به ناپایداری ژنتیکی، فرسودگی و پیری سنتی (Cell ageing) می‌شود^(۷،۸). یکی از مکانیسم‌های ناپایداری ژنتیکی که نقش مهمی در سرطان‌ها ایفا می‌نماید، از دست رفتتن طول تلومر در آن‌ها می‌باشد^(۸).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که طول تلومر در سلول‌های خونی می‌تواند نشان‌دهنده تاریخچه تکثیر آن‌ها باشد. کوتاه شدنی طول تلومر در تومورهای توپر (Solid Tumor) و بدخیمی‌های هماتولوژیک مانند AML، MDS و هم چنین در پیشرفت مرحله بیماری گزارش شده است^(۹). از آن جا که کوتاه شدن طول تلومر به طور اولیه با سابقه تعداد تکثیر سلول مرتبط می‌باشد، 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 روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، تعداد ۱۴ بیمار CML فاز مزمن در هنگام تشخیص و ۷ بیمار فاز بلاستیک که همگی دارای ترانس لوکیشن^(۹) (t_{9;22}) کروموزوم Ph بوده و یا جهت فیژن PCR، BCR-ABL مثبت داشتند و به بخش خون بیمارستان شریعتی تهران از فروردین ماه ۱۳۸۳ مراجعه کرده بودند، مورد بررسی قرار گرفتند. ۵ میلی‌لیتر 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 متنطبق با بیماران فوق) گرفته شد. قبل از اخذ نمونه‌های خون محیطی، کلیه

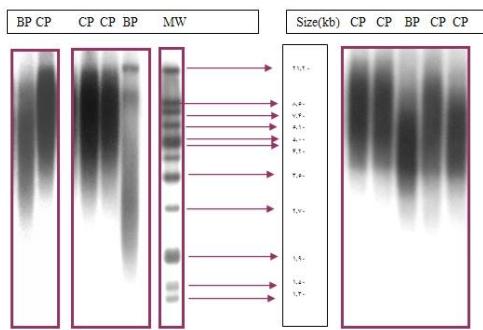
تعداد ۴۰
لوسمی مزمن میلوژن (CML)، یک اختلال کلونال میلوپرولیفراتیو است که با کروموزوم فیلادلفیا (Ph)، حاصل جا به جایی متقابل بین بازوی بلند کروموزوم‌های ۲۲ و ۹ (q₁₁: t_{9;22}: q₃₄) مشخص می‌شود. حاصل این بازآرایی، ایجاد فیژن ژنی BCR-ABL می‌باشد^(۱). محصول فیژن فوق یک تیروزین کیناز خود به خودفعال می‌باشد که سبب گسترش رده میلوئیدی می‌گردد^(۲). بیماری CML دارای سه فاز مزمن، تسریع شده و بلاستیک می‌باشد و معمولاً در فاز مزمن ظاهر می‌یابد^(۳). معمولاً بیماران سال‌های متعدد در این فاز باقی می‌مانند و سرانجام وارد فاز تسریع شده و بلاستیک می‌شوند که در این صورت، لوسمی حاد میلوئیدی و یا لنفوئیدی رخ می‌دهد^(۲). در این مرحله، بیماری منجر به مرگ بیمار در کمتر از ۶ ماه می‌گردد^(۳). اگر چه کروموزوم فیلادلفیا معمولاً تنها یافته سیتوژنتیک غیر طبیعی در بیماران فاز مزمن CML می‌باشد، اختلالات سیتوژنتیک اضافی غیر طبیعی مانند +۱۹، Ph⁺, +۸، iso17q معمولاً در فاز بلاستیک CML دیده می‌شود^(۱).

تلومرها ساختارهای خاص انتهای کروموزوم‌ها می‌باشند که از توالی‌های ساده تکرار شونده (TTAGGG_n) تشکیل شده‌اند و جهت حفظ عملکرد و ساختار ژنوم مهم می‌باشند^(۴). از جمله اعمال تلومر می‌توان به ممانعت از اتصال انتهای کروموزوم‌ها به یکدیگر و جلوگیری از تخریب و بازآرایی آن‌ها اشاره نمود^(۳). عملکرد تلومرها توسط قطعات DNA و پروتئین‌های اتصال یابنده به تلومر و در نهایت ایجاد یک ساختار نوکلئوپروتئینی در انتهای کروموزوم‌ها تضمین می‌گردد^(۵).

به دلیل عدم توانایی DNA پلیمراز در تکثیر قطعات انتهایی کروموزوم‌ها (end replication problem)، تقسیم سلولی منجر به کوتاه شدن توالی‌های تلومریک می‌گردد^(۵).

آنژیم تلومراز، یک ریبونوکلئوپروتئین می‌باشد که تکرارهای تلومریک را توسط زیر واحدی از جنس RNA به عنوان الگو (hTR) همراه با فعالیت کاتالیتیک پروتئین نسخه بردار معکوس خود (hTERT)، سترز نموده و بدین

کیت غیر رادیواکتیو کمی لومینسانس تعیین طول تلومر به نام Telo TAGGG Telomere (روش - آلمان) انجام گرفت. فیلترها در معرض Hyprfilm ECL (بیوتک) قرار گرفته و سپس با دوربین عکسبرداری شدند. میانگین طول تلومر، به صورت تعیین پیک دارای قوی ترین دانسیته توسط نرمافزار 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 حداقل دانسیته و مقایسه با شاخص وزن مولکولی، میانگین طول تلومر مشخص گردید. کاهش مشخص در طول تلومر نمونه‌های فاز بلاستیک نسبت به فاز مزمون دیده می‌شود. موقعیت تقریبی شاخص وزن مولکولی با واحد کیلو باز (kb) در سمت راست عکس نشان داده است. CP: نمونه DNA بیمار فاز مزمون، BP: نمونه DNA بیمار فاز بلاستیک.

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

یافته‌ها

در این مطالعه طول تلومر یا قطعات محدود انتهایی TRF (Terminal Restriction Fragment)، فرد کنترل نرمال در محدوده سنی بیماران(با محیطی ۹ سال) و میانگین ۳۶/۳ سال) بین kb ۱۱/۲۷-۱۱/۴۰ (میانگین ۸/۲۷ kb) بود. کمترین میزان دیده

بیماران و افراد نرمال فرم رضایت نامه را امضا نمودند. DNA ژنومیک از گلبول‌های سفید خون تام نمونه بیماران و افراد نرمال، با استفاده از روش پروتئیناز Salting out-K استخراج گردید. گلبول‌های قرمز با بافر حاوی ۱۰ میلی مول NaCl و ۱۰ میلی مول Tris-HCl لیز و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰ سانتریفوژ (۴-۳ بار) گردید. سپس توده گلبول‌های سفید در بافر TES حاوی ۵۰ میلی مول ۱۰ میلی مول EDTA و ۱۰ میلی مول Tris-HCl لیز شده و با افزودن ۱۰٪ SDS 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 ۳۴۰۰ rpm دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی به لوله جدید منتقل شد و DNA با ایزوپروپانول رسوب داده شد. پس از شستشوی DNA با اتانول ۷۵٪ (۲ بار)، استخراج شده در بافر TE (۱۰ میلی مول Tris-HCL، ۰/۵ میلی مول Na-EDTA، pH=۷/۴) حل گردید و غلاظت و درجه خلوص آن‌ها با دستگاه فتومنتر اپندورف اندازه‌گیری شد. هم چنین سالم بودن DNA و یکپارچگی آن بر روی ژل آکارز ۸٪ (سیگما) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱ میکروگرم از DNA با آنزیم *HinfI* و *RsaI* هضم شده و روی ژل ۸٪ الکتروفورز گردید. پس از الکتروفورز، ژل در ۰/۲۵ HCl مول به مدت ۱۰-۵ دقیقه غوطه‌ور شد و با محلول ۰/۵ مول NaOH و ۱/۵ مول NaCl (۲ بار، هر 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) خشی گردید.

DNA جدا شده بر اساس سایز به غشای دارای Bar مثبت(روش - آلمان) از طریق انتقال در دمای اتاق و با استفاده از ۲۰× SSC (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 ۲× SSC آبکشی و در دمای ۱۲۰°C به مدت ۲۰ دقیقه جهت ثابت شدن، حرارت داده شد و سپس مجدداً با ۲× SSC شستشو گردید.

هیبریداسیون لکه‌گذاری ساترن و مرحله تفکیک توسط

مقادیر نرمال با اطلاعات سایر گروه‌ها که طول تلومر را در لکوستیت‌های انسانی مطالعه کرده‌اند هم‌خوانی داشته است (۱۰، ۳). کوتاه‌شدنی طول تلومر مرتبط با سن (۳۳ bp) به ازای هر سال مشابه مقادیر گزارش شده دیگر مقالات (۴۵-۳۱ bp) به ازای هر سال) می‌باشد (۱۵، ۶). میانگین پیک TRF در بیماران CP-CML هنگام تشخیص ۶/۹۸ kb بود که بیش از $\frac{2}{3}$ بیماران (۷۱/۴۳٪) کاهش طول تلومر را نسبت به گروه کترل نرمال هم‌سن، با TRF کوتاه‌تر از مقدار (m-۲ SD) (۷/۸۹ kb) برای گروه کترل هم‌سن، نشان دادند ($p < 0.0001$). این یافته همانگ با یافته‌های اوهاشیکی بر روی ۲۳ بیمار فاز مزمن با طیف سنی ۱۴-۷۷ سال با میانگین TRF ، TRF $\pm 1/68$ kb $\pm 6/13$ و بولت وود و همکارانش بر روی ۴۱ بیمار ۲۰-۸۰ سال با میانگین TRF $6/4$ kb ($4-10/6$) می‌باشد (۳، ۱۰). در مطالعه بولت وود، ۷۸٪ بیماران فاز مزمن دارای کاهش طول تلومر نسبت به افراد کترل نرمال هم‌سن خود بوده‌اند و میانگین طول تلومر بیماران BP-CML ، $4/81$ kb بود که کاهش چشمگیر نسبت به گروه کترل نرمال هم‌سن و نسبت به طول تلومر در فاز مزمن را نشان داد ($p < 0.0001$). نتایج گروه بیماران فاز بلاستیک نیز مطابق با یافته‌های گروه بولت وود و اوهاشیکی است که میانگین TRF به ترتیب بر روی ۱۲ و ۲۱ بیمار فاز بلاستیک برابر با $4/1$ kb ($3-5/4$) و $4/53$ kb ($3/2-5/5$) میانگین شده است (۳، ۱۰). کاهش طول تلومر در بیماری‌های بدخیم غیر هماتولوژیک و هم چنین برخی بدخیمی‌های هماتولوژیک و همراه با پیشرفت بیماری نشان داده شده است (۱۳، ۱۱، ۴، ۳). کاهش طول تلومر در MDS اغلب همراه با ترانسفورماتیون لوکمیک می‌باشد (۱۶، ۱۵، ۳). به طور مشابه رابطه‌ای بین کاهش طول تلومر و پیشرفت CLL دیده شده است (۱۷، ۳). این مطالعه نیز مطرح می‌کند که کاهش مشخص در طول تلومر می‌تواند نمایی از پیشرفت بیماری CML و ترانسفورماتیون به لوکمی حاد باشد و نظریه وجود رابطه‌ای بین ترناور سلول‌های بنیادی (Stem Cells)، ناپایداری ژنتیکی و تکامل بدخیمی را حمایت می‌نماید که تایید آن نیازمند اندازه‌گیری سریال طول تلومر در طی روند

شده در گروه نرمال $8/04$ kb بود. اندازه TRF در ۱۴ بیمار CP-CML (با طیف سنی ۱۹-۵۷ سال و میانگین ۲۵/۴ سال) بین kb (۴/۶۶-۹/۲۱) (میانگین ۶/۹۸ kb) و TRF ۷ بیمار BP-CML (با طیف سنی ۲۹-۵۸ سال و میانگین ۴۲ سال) بین kb (۳/۵۶-۶/۷۵) (میانگین ۴/۸۱ kb) بود. جهت بررسی کوتاه شدنی طول تلومر نسبت به سن مربوطه، آنالیز رگرسیون روى مقادیر TRF گروه کترل نرمال انجام شد. آنالیز رگرسیون کوتاه شدنی طول TRF همراه با افزایش سن را با معادله خط به صورت $A = 11/461 T + 0/033$ (T= TRF, kb) (A= age, years) تایید کرد. این اساس کوتاه شدنی طول تلومر مرتبط با سن ۳۳ bp به ازای هر سال محاسبه گردید. طول تلومر متناسب با سن هر بیمار توسط فرمول معادله خط محاسبه شد و کوتاه شدنی تلومر به صورت مقادیر پایین‌تر از طول مورد انتظار برای سن بیمار، در صورتی که کمتر از $m - 2 \times SD$ باشد، تعریف گردید. بر این اساس ۷۱/۴۳٪ (۴۷/۷۷٪ CI: ۹۵٪) بیماران CP-CML (۱۱ نفر از ۱۴ بیمار) دارای کوتاه شدنی طول تلومر در هنگام تشخیص نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن بیماران CP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر kb ($3/31$) بود. میانگین TRF در بیماران $SD = 1/38$ (۴/۸۱ kb) و $6/98$ kb (BP-CML) دارای تفاوت آماری معنی‌داری با افراد کترل نرمال (۱۰/۲۷ kb) هم‌سن بود ($p < 0.0001$). میانگین کوتاه شدنی طول تلومر در بیماران BP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر kb ($5/27$) بود. هم چنین TRF در ۲ گروه BP-CML و CP-CML دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود ($p < 0.0001$).

بحث

در این مطالعه طول تلومر بیماران CP- و BP-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 توالی‌های تکراری تلومر با روش لکه‌گذاری ساترن مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین طول تلومر افراد نرمال $10/27$ kb بود.

نتیجه‌گیری

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، می‌تواند نشان‌دهنده شدت بیماری بوده و در نتیجه اطلاعات پرتوگوستیک مهمی در ارتباط با انتخاب بیماران در خطر بالای ترانسفرماسیون و اتخاذ شیوه مناسب درمان در اختیار ما قرار دهد.

تشکر و قدردانی

هزینه تحقیق حاضر توسط معاونت تحقیقات و فن‌آوری وزارت بهداشت تامین گردیده است. بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را اعلام می‌داریم.

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

با توجه به آن که کاهش واضح در طول تلومر به علت افزایش سن و تقسیمات سلولی در DNA رخ می‌دهد، میزان کاهش طول تلومر نسبت به همسالان نرمال می‌تواند کم و بیش مناسب با تعداد تقسیمات سلولی باشد و وجود TRF کوتاهتر هنگام تشخیص و یا کاهش چشمگیر آن طی روند بیماری، نشانه کاهش سلول‌های بنیادی نرمال و در نتیجه پیش‌آگهی بدتر و یا بقای کمتر در پاسخ به درمان باشد(۱۹، ۶). به طور کلی اندازه‌گیری TRF هنگام تشخیص می‌تواند واجد اهمیت بالینی در انتخاب بیماران در خطر بالای ترانسفرماسیون 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- Boultwood 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- Brümmendorf 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- Boultwood 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- Boultwood 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