خون
دوره ۵ شماره ۱ بهار ۸۷ (۱۵-۹)

# 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 علی‌اکبر 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 لکوسیت های خون محیطی بیماران فاز مزمن(CP) و فاز بلاستیک(BP) CML پرداخته شده است.**

### مواد وروش‌ها

**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 = CI ۹۵/۰۹) 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 ۱/۲۶ kb ± ۶/۹۸ و ۱/۰۶ kb ±۴/۸۱ بود که نسبت به میانگین طول تلومر در افراد نرمال هم سن(kb ۱/۱۹ ± ۱۰/۲۷) 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 ۱/۳۸ kb ± ۳/۳۱ و ۰/۹ kb ± ۵/۲۷ بود.**

### نتیجه گیری

**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

۱ـ دانشجوی PhD هماتولوژی و بانک خون ـ دانشگاه تربیت مدرس و مرکز تحقیقات سازمان انتقال خون ایران
۲ـ مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی ـ دانشیار دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه علوم پزشکی زنجان
۳ـ PhD ایمونوژنتیک ـ استادیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
۴ـ فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی ـ دانشیار مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
۵ـ PhD ایمونولوژی ـ استاد دانشگاه تربیت مدرس
۶ـ کارشناس ارشد سلولی و مولکولی ـ مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی
۷- فوق تخصص هماتولوژی و انکولوژی ـ استاد مرکز تحقیقات خون، انکولوژی و پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی



Archive of SID
www.SID.ir

**مقدمه**

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[t(۹ :۲۲)(q۳۴ : q۱۱)۹] مشخص می‌شود. حاصل این بازآرایی، ایجاد فیوژن ژنی BCR-ABL می‌باشد(۱). محصول فیوژن فوق یک تیروزین کیناز خود به خود فعال می‌باشد که سبب گسترش رده میلوئیدی می‌گردد(۲). بیماری CML دارای سه فاز مزمن، تسریع شده و بلاستیک می‌باشد و معمولاً در فاز مزمن تظاهر می‌یابد(۳). معمولاً بیماران سال‌های متمادی 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 ۸+ ، Ph ، ۱۹+ ، 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، ۴).

آنزیم تلومراز، یک ریبونوکلئوپروتئین می‌باشد که تکرارهای تلومریک را توسط زیر واحدی از جنس RNA به عنوان الگو(hTR) همراه با فعالیت کاتالیتیک پروتئین نسخه‌بردار معکوس خود(hTERT)، سنتز نموده و بدین وسیله کاهش طول تلومر را جبران می‌نماید(۵، ۴). 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 آن‌جا 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 سنی(Cell ageing) می شود(۷، ۵، ۴، ۲). یکی از مکانیسم‌های ناپایداری ژنتیکی که نقش مهمی در سرطان‌ها ایفا می‌نماید، از دست رفتن طول تلومر در آن‌ها می‌باشد(۸).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که طول تلومر در سلول‌های خونی می‌تواند نشان‌دهنده تاریخچه تکثیر آن ها باشد. کوتاه شدگی طول تلومر در تومورهای توپر(Solid Tumor) و بدخیمی‌های 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 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 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(۹ ;۲۲)t (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 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 منطبق با بیماران فوق) گرفته شد. قبل از اخذ نمونه‌های خون محیطی، کلیه



Archive of SID
www.SID.ir

بیماران و افراد نرمال فرم رضایت نامه را امضا نمودند.

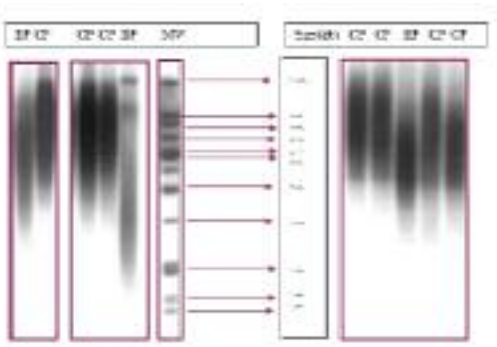
DNA ژنومیک از گلبول‌های سفید خون تام نمونه بیماران و افراد نرمال، با استفاده از روش پروتئیناز Salting out-K استخراج گردید.

گلبول‌های قرمز با بافر حاوی ۱۰ میلی‌مول NaCl و ۱۰ میلی‌مول Tris-HCl لیز و به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۱۵۰۰ سانتریفوژ (۳-۴ بار) گردید. سپس توده گلبول‌های سفید در بافر TES حاوی ۵۰ میلی‌مول NaCl ، ۱۰ میلی‌مول EDTA و ۱۰ میلی‌مول Tris-HCl لیز شده و با افزودن SDS ۱۰٪ 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 ۷۵٪(۲ بار)،DNA استخراج شده در بافر TE(۱۰ میلی‌مول Tris-HCL ، ۰/۵ میلی‌مول Na-EDTA ، pH =۷/۴) حل گردید و غلظت و درجه خلوص آن‌ها با دستگاه فتومتر اپندورف اندازه‌گیری 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 ۱۰-۵ دقیقه غوطه‌ور 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 ـ آلمان) از طریق انتقال در دمای اتاق و با استفاده از SSC × ۲۰(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 × ۲ آبکشی و در دمای ۱۲۰°C به مدت ۲۰ دقیقه جهت ثابت شدن، حرارت داده شد و سپس مجدداً با SSC × ۲ شستشو گردید.

هیبریداسیون لکه‌گذاری ساترن و مرحله تفکیک توسط کیت غیر رادیواکتیو کمی لومینسانس تعیین طول تلومر به نام Telo TAGGG Telomere (رُوش ـ 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 قوی‌ترین 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 حداکثر دانسیته و مقایسه با شاخص وزن مولکولی، میانگین طول تلومر مشخص گردید. کاهش مشخص در طول تلومر نمونه‌های فاز بلاستیک نسبت به فاز مزمن دیده می‌شود. 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 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 CP-CML و BP-CML استفاده شد. جهت مقایسه ۲ به ۲ گروه‌ها از آزمون List Significant Difference (LSD) استفاده شد.

## یافته ها

در این مطالعه طول تلومر یا قطعات محدود انتهایی (Terminal Restriction Fragment ، TRF) نمونه‌های 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



Archive of SID
www.SID.ir

شده در گروه نرمال ۸/۰۴ kb بود. اندازه TRF در ۱۴ بیمار CP-CML (با طیف سنی ۵۷–۱۹ سال و میانگین ۳۵/۴ سال) بین ۹/۲۱ kb–۴/۶۶(میانگین ۶/۹۸ kb) و ۷ TRF بیمار BP-CML(با طیف سنی ۵۸–۲۹ سال و میانگین ۴۲ سال) بین ۶/۷۵ kb–۳/۵۶(میانگین ۴/۸۱ 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 × ۰/۰۳۳ – T = ۱۱/۴۶۱ (A= age, years) (T= TRF, kb) نشان داد. بر این اساس کوتاه شدگی 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 شدگی تلومر به صورت مقادیر پایین‌تر از طول مورد انتظار برای سن بیمار، در صورتی که کمتر از m –۲ × SD باشد، تعریف گردید. بر این اساس ۷۱/۴۳٪ (۴۷/۷۷ :۹۵٪ 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 کوتاه‌شدگی طول تلومر در بیماران CP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر ۳/۳۱ kb(SD=۱/۳۸) بود. میانگین TRF در بیماران CP-CML(۶/۹۸ kb) و BP-CML(۴/۸۱ kb) دارای تفاوت آماری معنی‌داری با افراد کنترل نرمال(۱۰/۲۷ kb) هم سن بود(p< ۰/۰۰۰۱). میانگین کوتاه شدگی طول تلومر در بیماران BP-CML نسبت به مقدار مورد انتظار در همان سن برابر ۵/۲۷ kb (SD= ۰/۹) بود. هم چنین TRF در ۲ گروه CP-CML و BP-CML دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود(p< ۰/۰۰۰۱).

## 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 توالی‌های تکراری تلومر با روش لکه‌گذاری ساترن مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین طول تلومر افراد نرمال ۱۰/۲۷ kb بود. مقادیر نرمال با اطلاعات سایر گروه‌ها که طول تلومر را در لکوسیت‌های انسانی مطالعه کرده‌اند هم‌خوانی داشته است(۱۰، ۳). کوتاه‌شدگی طول تلومر مرتبط با سن(۳۳ bp به ازای هر سال) مشابه مقادیر گزارش شده دیگر مقالات(۴۵ bp–۳۱ به ازای هر سال) می‌باشد(۱۵–۱۰، ۶).

میانگین پیک TRF در بیماران CP-CML هنگام تشخیص ۶/۹۸ kb بود که بیش از $\frac{۲}{۳}$ بیماران(۷۱/۴۳٪) کاهش طول تلومر را نسبت به گروه کنترل نرمال هم سن، با TRF کوتاه‌تر از مقدار ۷/۸۹ kb(m–۲ SD) برای گروه کنترل هم سن، نشان دادند(p< ۰/۰۰۰۱). این یافته هماهنگ با یافته‌های اوهاشیکی بر روی ۲۳ بیمار فاز مزمن با طیف سنی ۷۷–۱۴ سال با میانگین TRF ، ۱/۶۸ kb ± ۶/۱۳ و بولت وود و همکارانش بر روی ۴۱ بیمار ۸۰–۲۰ سال با میانگین TRF ۶/۴ kb (۱۰/۶–۴) می‌باشد(۱۰، ۳). در مطالعه بولت وود، ۷۸٪ بیماران فاز مزمن دارای کاهش طول تلومر نسبت به افراد کنترل نرمال هم سن خود بوده‌اند و میانگین طول تلومر بیماران BP-CML ، ۴/۸۱ kb بود که کاهش چشمگیر نسبت به گروه کنترل نرمال هم سن و نسبت به طول تلومر در فاز مزمن را نشان داد(p< ۰/۰۰۰۱). 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 ۴/۱ kb(۵/۴–۳) و ۴/۵۳ kb(۵/۵–۳/۲) گزارش شده است(۱۰، ۳). 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 ترانسفورماسیون 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 ترانسفورماسیون 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

Archive of SID


www.SID.ir

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 متناسب 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 ترانسفورماسیون و راهنمایی جهت نحوه درمان باشد.

## 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 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 فن‌آوری وزارت بهداشت تامین گردیده است. بدین‌وسیله مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را اعلام می‌داریم.

Archive of SID



www.SID.ir

## References:


1- Goldman JM. Chronic myeloeid 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, Simíckova 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.


Archive of SID



www.SID.ir

# 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)***

[1]*School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*
[2]*Iranian Blood Transfusion Organization- Research Center, Tehran, Iran*
[3]*Zanjan Medical School, Zanjan, Iran*
[4]*Hematology–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 reffered 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 logestic 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*



Archive of SID
www.SID.ir