

# تلومر و نقش آن در بیماری‌های ژنتیک و سرطان

• دکتر صادق ولیان بروجنی

استاد ژنتیک دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

بخش ژنتیک

[svallian@biol.ui.ac.ir](mailto:svallian@biol.ui.ac.ir)

• پریسا خردمند

کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی  
دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، بخش  
ژنتیک

## چکیده

صورت یک ساختمان حفاظتی انتهایی کروموزوم‌ها تعریف کردند که از واژه یونانی *telos* به معنای پایان و *meros* به معنای بخش گرفته شده است. در سال ۱۹۷۰ اولوونیکو<sup>۱</sup>، ارتباط بین پیری سلولی و مشکلات انتهایی همانند سازی را به صورت یک تئوری مبنی بر این که کوتاه شدن تلومر به عنوان یک مکانیسم تنظیمی پیری که به دنبال تقسیمات متعدد سلولی ایجاد می‌شود، پیشنهاد داد. در سال ۱۹۸۸ این نظریه توسط گریدر و همکارانش<sup>۲</sup> تایید شد و در سال ۱۹۹۰ نقش تلومراز در ایجاد سرطان مطرح شد. در دو دهه اخیر طیف جدیدی از اختلالات کروموزومی ساختاری که در بر گیرنده تلومرها هستند شناسایی شده‌اند. همچنین ارتباط تلومرها با سرطان و بیماری‌های ژنتیک نشان داده شده است که در این مقاله به بررسی این یافته‌ها پرداخته می‌شود.

## تلومرها و توالی تلومری بینایی<sup>۴</sup>

تلومرها مجموعه‌های نوکلئوپروتئینی ویژه‌ای هستند که در انتهای فیزیکی کروموزوم‌های خطی یوکاریوت‌ها قرار دارند و متشکل از صدها تا هزارها توالی تکراری پشت سر هم *TTAGGG* هستند. شلترین<sup>۵</sup> کمپلکس مولتی پروتئینی متشکل از پروتئین‌های *TRF2*، *TRF1*، *TPP1*، *RAP1*، *TIN2*، *POT1* است که به توالی‌های *TTAGGG* در ساختار *T-loop* متصل شده و باعث حفظ ساختار تلومر و نگهداری طول آن می‌شود. (۱) توالی تلومری بینایی شامل تکرارهای پشت سر هم و متوالی از

تلومرها مجموعه‌های نوکلئوپروتئینی ویژه‌ای هستند که از صدها تا هزارها توالی تکراری پشت سر هم *TTAGGG* تشکیل شده‌اند و در هر دو انتهای کروموزوم‌های خطی یوکاریوت‌ها قرار گرفته‌اند و از انتهای کروموزوم‌ها در برابر نوترکیبی و تجزیه حفاظت می‌کنند. مجموعه چند پروتئینی به نام *sheltrin* به توالی‌های *TTAGGG* متصل شده و باعث حفظ و نگهداری ساختار و طول تلومر می‌شود. تلومراز که آنزیمی ضروری برای حفظ طول تلومر در طی تقسیم سلولی است، در سلول‌های بدنی (سوماتیک) سرکوب شده است در حالی که در بسیاری از بافت‌های سرطانی در انسان فعال است. ساختار و طول تلومر نقش به‌سزایی در فرآیندهای مختلف سلولی دارد. استفاده از تکنیک‌های سیتوژنتیک مولکولی منجر به شناسایی بسیاری از اختلالات کروموزومی مرتبط با تلومرها شده است. پیشرفت‌های اخیر در ژنتیک پزشکی منجر به شناسایی و تشخیص طیف وسیعی از بیماری‌های مرتبط با تلومر شده است. در این نوشتار ضمن مروری بر ساختمان و عملکرد تلومر، به تعدادی از بیماری‌های شناخته شده مرتبط با تلومرها اشاره می‌شود.

**کلمات کلیدی:** تلومر، مجموعه چند پروتئینی شلترین، تلومراز، اختلالات کروموزومی

## مقدمه

در اوایل سال ۱۹۳۰ مولر و همکارانش<sup>۱</sup> تلومر را به

1- Muller et al

2- Olovnikov

3- Greider

4- Intersitial Telomeric Sequence (ITS)

5- Sheltrin



کرد و مورد بررسی قرار داد که در ادامه به برخی از این روش‌ها اشاره می‌شود.

### روش هیبریداسیون DNA فلورسنت در محل (FISH)<sup>۱</sup>

حدود ۳۰ سال پیش با ابداع روش FISH مطالعه ساختار کروموزوم و عملکرد آن وارد عرصه جدیدی شد. FISH روشی است که اساس آن هیبرید کردن یک پروب DNA با توالی مکمل آن روی کروموزوم‌هایی است که قبلاً روی اسلاید تثبیت شده‌اند. این پروب‌های DNA یا به طور مستقیم به وسیله اتصال نوکلئوتیدهای فلورسنت نشاندار شده‌اند یا به طور غیر مستقیم به وسیله اتصال مولکول‌های گزارشگر که توسط آنتی بادی‌های فلورسنت شناسایی می‌شوند، نشاندار می‌شوند. پروب‌ها و توالی‌های مکمل آن‌ها در نهایت به وسیله تجزیه و تحلیل‌های میکروسکوپی قابل مشاهده می‌باشند. (۹) مزایای عمده این روش به عنوان یک روش ترکیبی مولکولی و سیتوژنتیکی، شامل: (۱) سریع بودن، (۲) بازده بالای هیبریداسیون و تشخیص، (۳) امکان بررسی تعداد زیادی از سلول‌ها و... است (۱۰).

### روش هیبریداسیون پپتید نوکلئیک اسید در محل<sup>۲</sup> (PNA-FISH)

پپتید نوکلئیک اسید، آنالوگ‌های مصنوعی DNA هستند که در آن‌ها اسکلت اصلی دئوکسی ریبوز فسفات با اسکلت غیر باردار و انعطاف پذیر پلی آمید جایگزین شده است، (۹) در نتیجه در برابر تجزیه توسط DNases, RNases, proteinases مقاومت بالایی دارند، (۱۱) شکل (2A). به علت این ساختار منحصر به فرد زمانی که الیگومرهای PNA به DNA یا RNA مکمل خود هیبرید می‌شوند هیچ دافعه الکتروستاتیکی ایجاد نمی‌شود و دو رشته‌ای‌های PNA-DNA و PNA-RNA پایدارتر از همودوپلکس

تکرار تلومری است که معمولاً در پستانداران وجود دارد. این تکرارها در سایت‌های داخل کروموزومی نزدیک سانترومرها و یا بین سانترومرها و تلومرها قرار گرفته‌اند. (۲،۳) به نظر می‌رسد که ITS ها در نتیجه اتصال‌های تلومر به تلومر<sup>۱</sup> (۴) یا دخول DNA تلومری به درون سایت‌های ناپایدار در طی ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای، ایجاد شده‌اند. (۵) سه دسته از توالی‌های تلومری بینابینی در ژنوم انسان تعریف شده‌اند تحت عنوان: (۱) توالی‌های تلومری بینابینی کوتاه سبب تلومری (۲) توالی‌های تلومری بینابینی طویل سبب تلومری (۳) توالی‌های تلومری بینابینی الحاقی. (۲،۳)

### آنزیم تلومراز

برای مقابله با مشکل کوتاه شدن انتهای کروموزوم‌ها در طی همانند سازی خصوصاً در سلول‌هایی که توان تکثیری بالا دارند، آنزیم تلومراز که یک ترانس کریپتاز معکوس است، بیان می‌شود. این آنزیم با اضافه کردن توالی نوکلئیک اسیدی TTAGGG به انتهای<sup>۳</sup> DNA سبب طویل شدن تلومر شده و در مرحله بعد رشته پیرو، همانند سازی می‌شود. بخش کاتالیتیکی تلومراز از دو بخش تشکیل شده است: (۱) بخش آنزیمی که یک ترانس کریپتاز معکوس (TERT)<sup>۲</sup> است، (۲) بخش RNA تلومراز (TR)<sup>۲</sup> یا همان (TERC)<sup>۴</sup>. آنزیم تلومراز توالی تکراری تلومر را با استفاده از TERC به عنوان الگو، به انتهای<sup>۳</sup> DNA در رشته رهبر اضافه می‌کند. پروتئین‌های دیگر مثل: NHP2، NOP10، dyskerin و GAR به TERC متصل شده و سبب پایداری مجموعه تلومراز می‌شوند. اختلال در هر کدام از اجزای مجموعه تلومراز منجر به بروز بیماری می‌شود. (۶-۸)

### شناسایی توالی‌های تلومری در سطح کروموزوم

با استفاده از روش‌های سیتوژنتیکی و مولکولی مختلفی می‌توان توالی‌های تلومری را در سطح کروموزوم شناسایی

- 1- Telomere-telomere fusions
- 2- Telomerase reverse transcriptase
- 3- Telomerase RNA
- 4- Telomerase RNA component
- 5- fluorescence in situ hybridization
- 6- peptide nucleic acid - fluorescence in situ hybridization ( PNA-FISH)



و هترو دوپلکس‌های طبیعی‌اند، (۹) به دلیل خنثی بودن، این مولکول‌ها به درون کروموزوم نفوذ می‌کنند، شکل (2B). این روش کارایی بالاتری برای تشخیص توالی‌های تلومری دارند و برای اولین بار برای اندازه‌گیری طول تلومر در کروموزوم‌های مرحله متافاز به کار برده شد، (۱۲). هیبرید PNA-DNA در مقایسه با هیبرید DNA-DNA به طور قابل ملاحظه‌ای به وسیله بازهای ناهم‌جور<sup>۱</sup> تحت تاثیر قرار می‌گیرد. پروب‌های PNA می‌توانند بین دو توالی DNA که تنها در یک جفت باز با هم تفاوت دارند تمایز قائل شوند که این توانایی آن‌ها کاربردشان را در علم سیتوژنتیک افزایش داده است.

**روش اتصال الیگونوکلئوتید سنتزی در محل (PRINS)<sup>۲</sup>**  
اساس روش PRINS اتصال در محل الیگونوکلئوتید سنتزی 7(CCCTAA) به توالی‌های نوکلئیک اسیدی مکمل آن و سپس گسترش پرایمر در حضور نوکلئوتیدهای نشان دار شده فلوروکروم است. (۱۳) این روش در مقایسه با روش معمولی FISH، روش سریع تری برای نشاندار کردن توالی‌های تلومری ارائه می‌دهد و کارایی و راندمان بهتری برای تشخیص توالی‌های تلومری و ITS ها دارد. (۱۴)

### **CO-FISH<sup>۳</sup>**

برای تشخیص برخی از اختلالات خاص که شامل توالی‌های تلومری می‌شوند لازم است تکنیک CO-FISH به کار برده شود. به طور ویژه روش مزبور برای تمایز قائل شدن بین انواع مختلف الحاق‌های تلومری و تشخیص تبدلات تلومری بین کروماتیدهای خواهری به کار می‌رود. در این روش سلول‌ها در حضور ۵- برومو دئوکسی یوریدین رشد می‌کنند و بعد از یک دور همانند سازی، کروموزوم‌ها آماده سازی شده، در معرض نور UV و اگزونوکلئاز III قرار می‌گیرند. در معرض UV قرار گرفتن کروموزوم‌ها منجر به تعداد زیادی شکست‌های رشته‌ای به خصوص در نواحی دارای ۵- برومو دئوکسی یوریدین می‌شود. مولکول مزبور

سوبسترای انتخابی برای هضم آنزیمی توسط اگزونوکلئاز III است که در نتیجه منجر به حذف رشته تازه ساخته شده می‌شود. این در حالی است که رشته والدی دست نخورده باقی می‌ماند. زمانی که از یک DNA تک رشته‌ای یا پروب PNA استفاده شود در حالت نرمال فقط یک کروماتید علامت مربوط به هیبریداسیون را نشان می‌دهد. در صورتی که اگر تبدلات تلومری بین کروماتیدهای خواهری رخ دهد، هر دو کروماتید خواهری علامت مربوط به هیبریداسیون را نشان خواهند داد، (۹)، شکل (۱).

### **عملکرد تلومر**

از عملکردهای اصلی تلومر می‌توان به حفاظت از انتهای کروموزوم، ممانعت از اتصال کروموزوم‌ها و تشخیص انتهای طبیعی کروموزومی از شکست‌های دو رشته‌ای DNA اشاره کرد. (۱۳) به طوری که کوتاه شدن تلومر تا حد آستانه‌ای خاص و یا تغییر در عملکرد پروتئین‌های متصل شده به آن منجر به اتصال انتها به انتهای کروموزوم‌ها، توقف چرخه سلولی و آپوپتوز می‌شود در واقع طول تلومر مانند یک ساعت میتوزی عمل می‌کند. علاوه بر این تلومرها، جداسازی صحیح کروموزوم‌ها در طی میتوز را تضمین می‌کنند به طوریکه ناکارآمدی تلومرها منجر به تتراپلوئیدی شدن و عدم جدا شدن صحیح کروموزوم‌ها و در نتیجه سبب افزایش ترانسفورماسیون سلول‌ها می‌شود. (۱۷-۱۵)

فاکتورهای مختلفی منجر به اختلالات تلومری می‌شوند.

برخی از این فاکتورها عبارتند از:

- ۱- تغییر در ساختار تلومری DNA (کوتاه شدن بیش از حد تلومر و یا آسیب بازی در توالی تلومر)
- ۲- تغییر در کمپلکس شلترین (۱۵)
- ۳- فقدان پروتئین‌های متصل شونده به تلومر
- ۴- تغییر در ساختار یا عملکرد تلومراز (۱۸)
- ۵- تغییر در هلیکازها (۲۰، ۱۹)
- ۶- تغییر در پروتئین‌هایی که وابسته به پاسخ سلولی به آسیب DNA هستند (۲۱)

1- Mismatch Base Pair

2- primed in situ (PRINS)

3- Chromosome Orientation fluorescence in situ hybridization



## اختلالات کروموزومی و تلومرها

اختلالات کروموزومی متعددی منجر به تغییر در عملکرد تلومرها می‌شوند. در زیر به تعدادی از این اختلالات اشاره می‌شود.

۱- اختلالات کروموزومی که مستقیماً انتهای کروموزومی و در نتیجه توالی‌های تلومری انتهایی را درگیر می‌کنند (عناصر کروموزومی ناقص)<sup>۱</sup>: این اختلالات در نتیجه ایجاد شکست‌های کروموزومی در یک یا هر دو انتهای کروموزوم در یک یا تعداد بیشتری از کروموزوم‌ها رخ می‌دهند و منجر به ایجاد یک یا دو قطعه فاقد سانترومر شده و در مجموع عناصر کروموزومی ناقص نامیده می‌شوند. این گروه از اختلالات شامل کروموزوم‌های ناقص، قطعات انتهایی<sup>۲</sup> و دوسانترومیری‌های ناقص می‌شوند، شکل (۲).

۲- اختلالات کروموزومی که در نتیجه ناکارآمدی تلومرها، مستقیماً توالی‌های تلومری انتهایی را درگیر می‌کنند شامل موارد زیر می‌باشند:

الف) فقدان تلومر کروماتیدی و کروموزومی، این نوع اختلال معمولاً در نتیجه کوتاه شدن بیش از حد تلومرها در یک یا هر دو کروماتید یک کروموزوم ایجاد می‌شود و گاهی این اختلال در نتیجه جا به جایی تکرارهای تلومری انتهایی از یک کروموزوم به کروموزوم دیگر به وجود می‌آید. (۱۳)، شکل (3A).

ب) مضاعف شدگی تلومر کروماتیدی یا کروموزومی، این پدیده ممکن است در اثر اتصال یک تلومر شکسته شده به یک تلومر ناکارآمد یا در اثر تکثیر یا نوترکیبی رخ دهد. (۱۳)، شکل (3B).

ج) تجمع تلومر<sup>۳</sup>، دو تلومر از دو کروموزوم متفاوت، بسیار نزدیک به هم قرار بگیرند که این حالت در سلول‌هایی که در مرحله متافاز قرار دارند توسط ۲ جفت سیگنال تلومری بسیار نزدیک به هم قابل تشخیص است (۲۳، ۲۲) و مارکر سیتوژنتیکی مهم در سلول‌های توموری انسانی است. این اتفاق معمولاً در اثر کوتاه شدگی تلومر ایجاد می‌شود و نشان

دهنده این است که یک طول تلومری حداقل برای عملکرد مناسب تلومر نیاز است، شکل (3C).

د) الحاق تلومری<sup>۴</sup>، الحاق تلومری یا اتصال کروموزومی انتها به انتها از اختلالات شایع و مکرری است که در نتیجه ناکارآمدی تلومرها ایجاد می‌شود. (۲۳، ۲۲) کروموزوم‌ها می‌توانند به وسیله بازوی P یا Q خود به هم متصل شوند و کروموزوم‌های دی سنتریک با شکل و سایز متفاوت ایجاد کنند. الحاق تلومری حاکی از ناکارآمدی تلومرها است اما نه این که تکرارهای تلومری در انتهای کروموزوم به طور کامل از بین بروند، شکل (3D, E, F).

ه) تبادلات تلومری بین کروماتیدهای خواهری، نوترکیبی در تلومرها هستند که حاکی از تبادل تلومر بین کروماتیدهای خواهری است. این تبادلات در سطح مولکولی ممکن است متعادل یا نامتعادل باشند و به عنوان یک مارکر در سلول‌های توموری انسانی است، شکل (۱۳) (3G).

و) جا به جایی بین توالی‌های تلومری انتهایی، جا به جایی دو طرفه یا جا به جایی یک طرفه توالی‌های تلومری انتهایی زمانی اتفاق می‌افتد که توالی‌هایی که از یک کروموزوم مشتق شده اند به ناحیه داخلی از یک کروموزوم دیگر وارد شوند. بسته به این که تعداد توالی‌های تلومری جا به جا شده چقدر باشد، کروموزوم دهنده فاقد سیگنال‌های تلومری می‌شود یا سیگنال‌های ضعیفی را در یک انتها نشان می‌دهد و کروموزوم گیرنده سیگنال‌های تلومری داخلی را نشان می‌دهد. همچنین گاهی توالی‌های تلومری انتهایی از چندین کروموزوم می‌توانند وارد یک کروموزوم شوند و در نتیجه چندین سیگنال تلومری داخلی بعد از انجام FISH یا PRINS در آن کروموزوم مشاهده می‌شود، شکل (۱۳) (3H).

ز) تکثیر توالی تلومری انتهایی، بعضی مواقع توالی‌های تلومری انتهایی تکثیر می‌شوند، به طوریکه سیگنال‌های هیبریداسیون پس از انجام FISH یا PRINS از نظر سایز یا شدت افزایش می‌یابند که این حالت می‌تواند در یک یا هر دو بازوی کروموزوم رخ دهد. در اثر مکانیسم‌های متفاوتی

- 1- Incomplete chromosome element
- 2- Terminal fragment
- 3- Telomere association
- 4- Telomere fusion

## بیماری‌های ناشی از اختلالات تلومری

تلومرها با بسیاری از بیماری‌های ارثی یا اکتسابی انسان در ارتباط هستند. تلومرها و تلومراز از ژنوم در برابر خطرات ناشی از مشکل انتهای همانند سازی محافظت می‌کنند. همانطور که اشاره شد پروتئین‌های کمپلکس Shelterin به توالی‌های تلومری متصل شده و به عنوان سیگنال‌های مولکولی عمل کرده تا ماشین ترمیم DNA، اشتباهات تلومرها را به جای شکست‌های دو رشته‌ای DNA شناسایی نکند. زمانی که تلومرها بسیار کوتاه می‌شوند، سیگنال ممانعت از تکثیر سلولی، پیری و آپوپتوز را ارسال می‌کنند. اگر مکانیسم‌های حفاظتی مثل سرکوب کننده تومور TP53، غیر فعال باشند، تکثیر ادامه می‌یابد و تلومرها بسیار کوتاه و غیر فعال می‌شوند، همچنین اتصال انتها به انتهای کروموزوم‌ها باعث ناپایداری آن‌ها می‌شود، (۲۷)، شکل (۵). از طرف دیگر اگر ژن تلومراز در سلول‌های سوماتیک فعال باقی بماند منجر به تکثیر نامحدود سلول‌ها و بروز سرطان می‌شود در نتیجه طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز می‌تواند نقش مهمی در بروز بیماری‌ها داشته باشند. در ادامه به برخی از بیماری‌های مرتبط با تلومرها اشاره می‌کنیم.

## سندرم‌های نارسایی مغز استخوان<sup>۹</sup>

سندرم‌های مرتبط با نارسایی مغز استخوان یک گروه از اختلالات هستند که می‌توانند به صورت ارثی یا اکتسابی ایجاد شوند. این بیماری‌ها ناشی از ناهنجاری‌هایی در سلول‌های بنیادی هماتوپوئیک هستند که می‌توانند یک رده سلولی یا همه رده‌های سلولی را درگیر کنند. از انواع وراثتی این سندرم‌ها می‌توان به Dyskeratosis congenita اشاره کرد. این بیماری با سه مشخصه همراه است: هیپرپیگمانتاسیون پوست<sup>۱۰</sup>، دیستروفی ناخن<sup>۱۱</sup> و لوکوپلاکیا دهانی<sup>۱۲</sup> و می‌تواند به فرم‌های وابسته به X مغلوب، اتوزومی غالب و اتوزومی مغلوب به ارث برسد.

مثل تبدلات نابرابر بین کروماتیدهای خواهری<sup>۱</sup> و چرخه شکستگی - اتصال - پل<sup>۲</sup> ایجاد می‌شود، (۱۳) شکل (3I).  
۳- اختلالات کروموزومی که ITS را شامل می‌شوند: مشخص شده که ITS ها دستخوش باز آرایه‌های متعدد شامل تکثیر، حذف و جا به جایی قرار می‌گیرند و مطالعات متعدد نشان داده است که ممکن است به عنوان نقاط داغ<sup>۳</sup> برای شکست، نو ترکیبی، باز آرایه عمل کنند (۲۴) و همچنین می‌توانند در ترمیم DNA و تنظیم بیان ژن دخالت داشته باشند. (۲۵)

## چرخه شکست - اتصال - پل (BFB)

فقدان تلومر می‌تواند تحت عنوان چرخه BFB سبب ناپایداری کروموزومی شود و انواع باز آرایه‌های کروموزومی شامل: حذف‌های انتهایی، مضاعف شدگی‌های معکوس<sup>۴</sup>، تکثیر DNA، جا به جایی‌های یک طرفه، کروموزوم‌های دی سنتریک و ... را ایجاد می‌کند. وقتی که یک کروموزوم تلومر خود را در نتیجه شکست از دست می‌دهد بعد از همانند سازی به کروماتید شکسته شده دیگر و یا کروماتید خواهری اش متصل می‌شود تا یک کروموزوم دی سنتریک ایجاد شود. کروماتیدهای ملحق شده سپس در طی آنافاز یک پل را ایجاد می‌کنند و سپس از آن جایی که سانترومرهای کروموزوم دی سنتریک به سمت قطب‌های مخالف کشیده می‌شوند، می‌شکند و به دلیل این که شکست معمولاً در محلی غیر از جایگاه اتصال رخ می‌دهد. یکی از سلول‌های دختری، کروموزوم دارای قسمت انتهایی مضاعف شده به صورت تکرار معکوس، را دریافت می‌کند و سلول دیگر کروموزوم با حذف انتهایی را می‌گیرد. از آن جایی که این کروموزوم‌ها فاقد تلومر هستند، در طی همانند سازی بعدی در سیکل سلولی، مجدداً الحاق کروماتیدهای خواهری صورت گرفته و چرخه BFB ادامه می‌یابد، (۱۳، ۲۶)، شکل (۴).

- 1- unequal sister chromatid exchange
- 2- Breakage- Fusion- Bridge(BFB)
- 3- Hot spot
- 4- Inverted duplications
- 5- Bone Marrow Failure syndromes
- 6- skin hyperpigmentation
- 7- nail dystrophy
- 8- Oral leukoplakia



(۲۹،۲۸) هشت ژن جهش یافته در این بیماری شناسایی شده‌اند. (۳۷-۳۰) که جهش در چهار ژن *DKC1, TINF2, TERT* و *TR* شایع ترین جهش‌های شناسایی شده در افراد مبتلا به این بیماری هستند. (۳۸) بیماران مبتلا به فرم وابسته به *X* این بیماری دارای جهش در ژن *DKC1* در باند *Xq28* هستند که ژن کد کننده *dyskenin* است (یکی از پروتئین‌های کمپلکس تلومراز که در مسیر حفظ تلومر دخیل است). (۲۸)

از انواع شدیدتر *Dyskeratosis congenita* می‌توان به سندرم *Hoyeraal-Hreidarsson* و سندرم *Revesz* اشاره کرد. سندرم *Hoyeraal-Hreidarsson* با هیپوپلازی مخچه<sup>۱</sup>، میکروسفالی<sup>۲</sup>، تاخیر در رشد<sup>۳</sup>، نقص ایمنی<sup>۴</sup>، عقب ماندگی رشد داخل رحمی<sup>۵</sup> و نارسایی مغز استخوان قابل تشخیص است، (۳۹) در حالی که مشخصات سندرم *Revesz*، ریتنوپاتی اگزوداتیو دو جانبه<sup>۶</sup>، عقب ماندگی رشد داخل رحمی، نارسایی مغز استخوان و ... است. (۲۸) مطالعات نشان داده اند که این سندرم‌ها با کوتاه شدن بیش از حد تلومرها در ارتباط هستند. (۴۰)

### آنمی آپلاستیک اکتسابی<sup>۷</sup>

اکثر موارد آنمی آپلاستیک اکتسابی در نتیجه تخریب سلول‌های خونساز توسط سیستم ایمنی ایجاد می‌شوند اما در درصدی از افراد مبتلا به این بیماری کوتاه شدن طول تلومر مشاهده شد. (۴۱) با ادامه مطالعات مشخص شد که این بیماران دارای جهش‌های هتروزیگوت در ژن‌های کد کننده اجزای تلومراز یعنی *TERT* یا *TERC* هستند. (۴۲،۷)

### فیروز ریوی<sup>۸</sup>

در مقایسه با *Dyskeratosis congenita* و آنمی آپلاستیک که شیوع بسیار پایینی دارند، فیروز ریوی و

اختلالات مربوط به آن بسیار رایج است و دارای مرگ و میر سالانه حدود ۲۰۰۰۰-۱۵ می‌باشد. (۴۳) وجود جهش قابل تشخیص تلومراز در افراد مبتلا به این بیماری (۱۵-۸٪ از موارد خانوادگی و ۳-۱٪ از موارد انفرادی)، فیروز ریوی را شایع ترین سندرم تظاهر کننده مرتبط با کوتاه شدن تلومر کرده است. (۴۴،۴۵) در موارد خانوادگی، این بیماری توارث اتوزومی غالب را نشان می‌دهد که نفوذ آن وابسته به سن است. سن شروع این بیماری معمولاً ۵۰ سال به بالا است و شیوع آن در افراد بالای ۷۵ سال ۱۰۰ برابر افراد زیر ۳۵ است که نشان دهنده ارتباط نزدیک بروز این بیماری با پیری است. (۴۳)

به طور کلی تحقیقات نشان داده اند که در خانواده‌های با توارث اتوزومی غالب با گذشت نسل‌ها، بیماری شدیدتر شده و سن بروز آن نیز کاهش می‌یابد که این در نتیجه افزایش سائیدگی تلومرها در طی نسل‌ها است و این موضوع نقش برجسته طول تلومرها و نه تنها جهش‌های تلومراز را در تعیین شروع و شدت بیماری، مشخص می‌کند، (۴۶)، شکل (۶).

### بیماری‌های اسکلتی عضلانی

تلومر و تلومراز با بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های اسکلتی عضلانی مختلف در ارتباط هستند. بیماری‌های اسکلتی عضلانی از شایع ترین اختلالات انسانی هستند که تمام گروه‌های سنی را در بر می‌گیرند و اغلب باعث ناتوانی، اختلال و معلولیت شده و به شدت زندگی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. رایج ترین علائم این بیماری‌ها عبارتند از: درد یا ناراحتی در استخوان‌ها، مفاصل، عضلات یا بافت‌های مرتبط. در ادامه به نقش تلومرها و تلومراز در بروز شایع ترین بیماری‌های اسکلتی عضلانی مانند: آرتروز و پوکی استخوان می‌پردازیم.

- 1- cerebellar hypoplasia,
- 2- microcephaly
- 3-developmental delay
- 4- immunodeficiency
- 5- intrauterine growth retardation
- 6- bilateral exudative retinopathy
- 7-Acquired aplastic anemia
- 8-Pulmonary Fibrosis



## آرتروز

آرتروز شایع ترین بیماری عضلانی اسکلتی مزمن است که یکی از علل عمده ناتوانی مفصل در افراد مسن به شمار می‌رود. وقوع این بیماری بین سنین ۳۰ تا ۶۵ سالگی از ۲ تا ۱۰ برابر افزایش پیدا می‌کند و این روند تا پایان عمر ادامه دارد. مانند سایر بیماری‌های وابسته به سن، آرتروز با طول تلومر در لکوسیت‌های خونی و همچنین سلول‌های غضروفی در ارتباط است به طوری که در سلول‌های غضروفی افراد مبتلا به این بیماری طول تلومر ۲۰ تا ۲۵٪ کوتاه تر از افراد سالم است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد کوتاه شدن تلومر در سلول‌های غضروفی ممکن است ناشی از آسیب DNA به واسطه فرم‌های فعال اکسیژن باشد. مشخص شده است که در سلول‌های غضروفی انسان، رادیکال‌های آزاد سبب القای ناپایداری تلومری و در نتیجه ناکارآمدی آن می‌شوند (۴۷).

## پوکی استخوان

پوکی استخوان یک بیماری اسکلتی است که با اختلال در ساختار میکروسکوپی و تراکم استخوان، ایجاد می‌شود و خطر شکستگی استخوان را افزایش می‌دهد. حفظ تراکم استخوان به تعادل بین ساخت و انحلال بافت استخوانی، وابسته است. کاهش تراکم مواد معدنی مشخصه اصلی پوکی استخوان است. مطالعات نشان داده است که طول تلومرها در بیماران دارای پوکی استخوان به طور چشمگیری کوتاه تر است و این کاهش طول در لکوسیت‌ها با کاهش تراکم مواد معدنی در استخوان در ارتباط است. بنابراین طول تلومر به عنوان یک مارکر هشدار دهنده برای پوکی استخوان پیشنهاد شده است (۴۷).

## تلومر و ارتباط آن با بروز سرطان

کوتاه شدن تلومر منجر به ناپایداری کروموزومی شده که در فقدان فرآیندهای طبیعی پیری سلولی می‌تواند سبب سرطان زایی شود. (۴۸) مشاهدات بالینی در بیماران مبتلا

به سندرم‌های تلومری، نقش تلومرها در بروز سرطان را پررنگ تر کرده‌اند. مانند دیگر اختلالات ترمیم DNA، ناهنجاری‌های تلومری مستعد ابتلا به سرطان هستند. اگر چه نرخ مرگ و میر وابسته به سرطان در بیماران دارای سندرم‌های تلومری مشخص نیست اما تخمین زده می‌شود که ۱۰٪ افراد مبتلا به *Dyskeratosis congenita* به سرطان نیز مبتلا می‌شوند. (۴۹) همچنین مطالعات انجام شده بر روی سرطان‌های مثانه (۵۰)، مری (۵۱، ۵۲)، سر و گردن (۵۳)، تخمدان (۵۴) و کلیه (۵۳) نشان داد که کوتاهی تلومر به طور چشمگیری با این سرطان‌ها در ارتباط است. از طرف دیگر حفظ تلومر به منظور تداوم رشد تومورها و بیان تلومراز در ۹۰٪ از سلول‌های سرطانی، بیانگر نقش کلیدی تلومر در پیشرفت سرطان است به طوریکه بسیاری از محققین تلومراز را به عنوان مارکری پیش‌آگهی دهنده برای سرطان مطرح کرده‌اند (۵۶، ۵۵). در ادامه به منظور روشن تر کردن عملکرد تلومر در بروز سرطان‌ها به توضیحی در مورد ارتباط تلومر و سرطان خون مزمن لنفوسیتی می‌پردازیم.

## سرطان خون مزمن لنفوسیتی<sup>۱</sup>

سرطان خون مزمن لنفوسیتی شایع ترین سرطان خون در میان بزرگسالان است. (۵۷) با بررسی بیماران در مراحل متفاوت از سرطان خون مزمن لنفوسیتی، طول تلومر به عنوان یک فاکتور پیش‌آگهی دهنده، گزارش شده است. ارتباط بین کوتاه شدن بیش از حد تلومر، ناکارآمدی تلومر و الحاق با پیشرفت بیماری، اثبات شده است. میزان تلومرهای کوتاه و همچنین الحاق در بیماری پیشرفته افزایش پیدا می‌کند، اما این اختلالات تلومری در زیر مجموعه‌ای از بیمارانی که در مراحل اولیه هستند نیز دیده شده است که نشان دهنده این موضوع است که این اختلالات قبل از پیشرفت بیماری نیز ایجاد می‌شوند. مشخص شده است که هر چه سلولها به فرم تهاجمی‌تر باشند طول تلومر کوتاه تر است (حدود 4Kb). (۵۸) همچنین در مطالعه‌ای که اخیراً در مورد سرطان خون

1-chronic lymphocytic leukemia



مزمّن لنفوسیتی انجام شده، جهش‌های سوماتیکی در ژن POT1 که کد کننده یکی از اجزای مجموعه شلترین است، در سلول‌های سرطانی شناسایی شد و مشاهده شد که سلول‌های سرطانی دارای جهش در ژن POT1 ناهنجاری‌های تلومری و کروموزومی فراوانی دارند که گویای نقش این جهش در کسب ویژگی‌های بدخیمی است. (۵۹)

### پتانسیل استفاده از مارکرهای مرتبط با تلومر در تشخیص سرطان‌ها

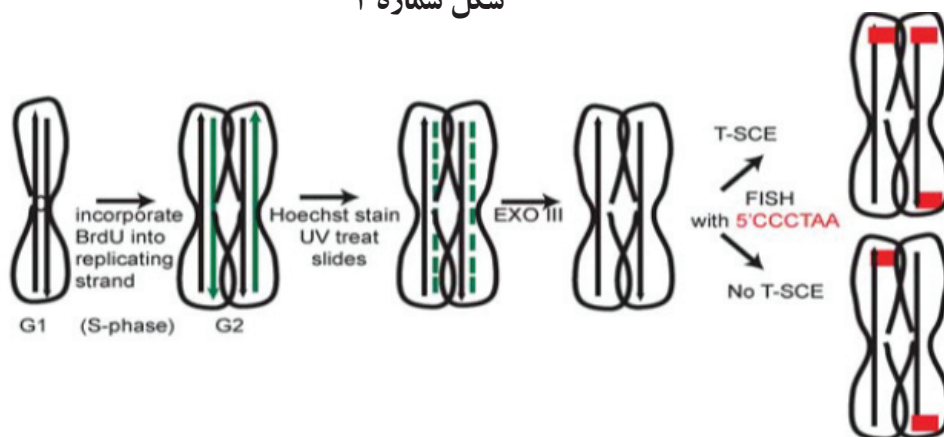
مدت‌ها است که تلومرها و تلومراز در مطالعات و تحقیقات در زمینه سرطان، بسیار مورد توجه واقع شده‌اند. از آن جایی که تاثیر متقابل بین تلومرها و تلومراز نقشی ضروری در پیشرفت سرطان ایفا می‌کند، محققان بر آن شدند تا اندازه‌گیری طول تلومرها را در تشخیص انواع سرطان‌ها مورد ارزیابی قرار دهند. مطالعات ابتدایی در این زمینه گویای کوتاه تر بودن طول تلومر در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های نرمال بافت‌های مجاور بود (۶۰، ۶۱). این در حالی است که استفاده از تکنیک‌های دقیق تر به منظور اندازه‌گیری طول تلومرها در بررسی‌های بعدی، پیچیده بودن فنوتیپ تلومرها را مشخص کرد به طوری که تغییرات تلومری در سلول‌های پیش سرطانی<sup>۱</sup> و حتی نرمال نیز مشاهده شد (۶۲) و علاوه بر این مطالعات نشان دادند که طول تلومرهای سلول‌های سرطانی به طور قابل ملاحظه‌ای در انواع سرطان‌ها و حتی در یک نوع سرطان بسیار متفاوت است. بنابراین به نظر می‌رسد که استفاده از اندازه‌گیری طول تلومر به تنهایی مارکر تشخیصی مناسبی برای سرطان نباشد. با این حال اندازه‌گیری طول تلومرها در بافت سرطانی یا مایعات بدن می‌تواند به عنوان یک مارکر مولکولی برای ارزیابی خطر ابتلا و یا پیش بینی پاسخ به درمان به کار رود (۶۳).

### کاربردهای کلینیکی اندازه‌گیری طول تلومرها

همان‌گونه که پیش از این اشاره شد، مطالعات بسیاری ارتباط بین کوتاه شدن طول تلومر و بروز بیماری‌های مختلف را نشان می‌دهد. بررسی‌ها حاکی از آن است که استرس‌های محیطی می‌تواند منجر به افزایش آسیب‌های اکسیداتیو و در نتیجه کوتاهی زودرس تلومرها شود. سیگار کشیدن، چاقی و بیماری‌های التهابی همگی می‌توانند به افزایش سرعت کوتاه شدن تلومرها کمک کنند (۶۴، ۶۵). اندازه‌گیری طول تلومر به خصوص اندازه‌گیری کوتاه‌ترین تلومرها، یک شاخص مولکولی برای تعیین سلامت عمومی است. تحقیقات نشان داده است که طول تلومرها (که معمولاً در گلبول‌های سفید اندازه‌گیری می‌شود)، می‌تواند به عنوان مارکر زیستی پیش‌آگهی دهنده و تشخیصی موثر و مفید برای تعدادی از بیماری‌های وابسته به سن به کار رود (۶۶). از جمله بیماری‌های وابسته به سن می‌توان به دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی اشاره کرد که کاهش طول تلومر در بسیاری از افراد مبتلا به این بیماری‌ها مشاهده شده است (۷۰-۶۷). نکته جالب توجه در رابطه با این دو بیماری این است که افرادی که به طور همزمان به دیابت و بیماری‌های قلبی عروقی مبتلا هستند در مقایسه با افراد مبتلا به یکی از این دو بیماری، کوتاه‌ترین تلومرها را دارند (۷۱). علاوه بر این ارزش تشخیصی اندازه‌گیری طول تلومر در برخی از نارسایی‌های مغز استخوان مانند بیماری *Dyskeratosis congenita* نیز به اثبات رسیده است. اطلاعات به دست آمده از بررسی‌ها نشان می‌دهد که اندازه‌گیری طول تلومر با کمک روش‌های دقیق، ابزار مهمی در تشخیص بیماری *Dyskeratosis congenita* است. این در حالی است که با در نظر گرفتن سن بیمار، شدت بیماری رانیز می‌توان تشخیص داد (۷۲، ۷۳).

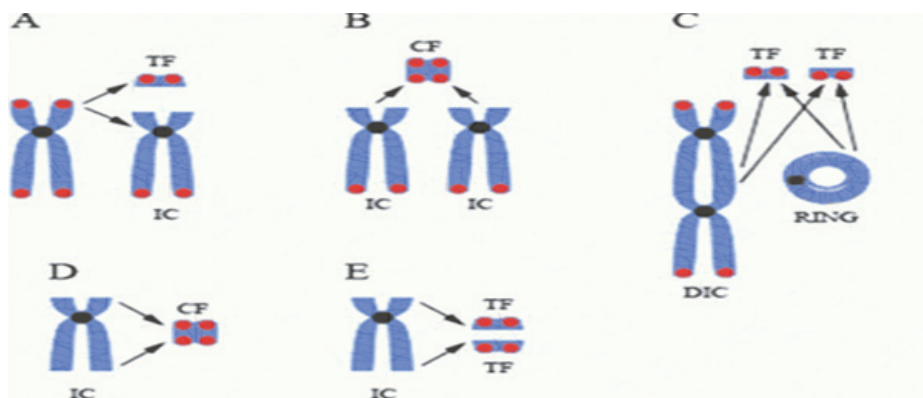
#### 1- Premalignant

شکل شماره ۱



شکل شماره ۱: مراحل روش CO-FISH: در این روش سلول ها در حضور ۵- برومو دئوکسی یوریدین رشد می کنند. بعد از یک دور همانند سازی، یکی از رشته ها (سبز) دارای ۵- برومو دئوکسی یوریدین است. متافاز در معرض Hoechst و نور UV رخ می دهد که منجر به ایجاد شکاف هایی در رشته حاوی ۵- برومو دئوکسی یوریدین می شود. رشته دارای شکاف سپس توسط یک اگزونوکلیاز تجزیه شده و با یک پروب تلومر هیبرید می شود.

شکل شماره ۲

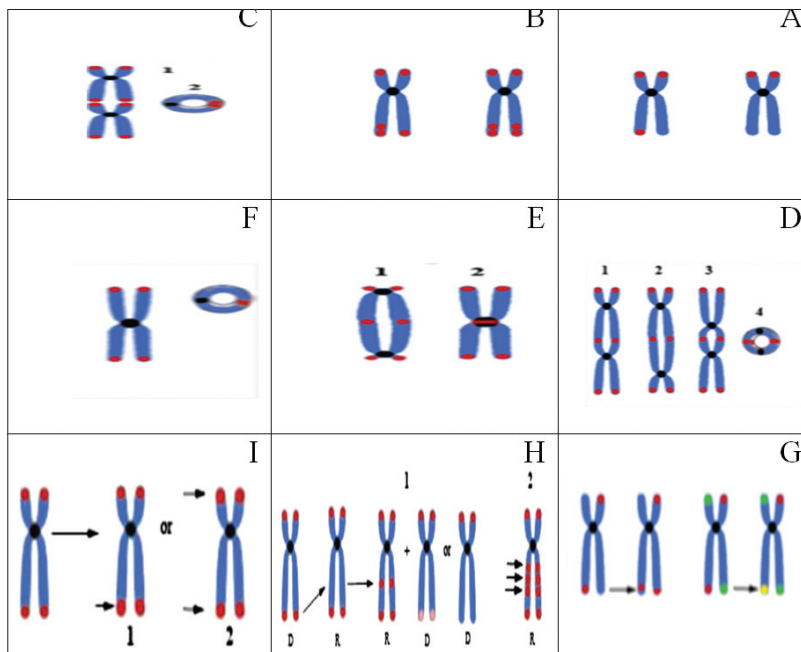


شکل شماره ۲: نمایش شماتیک از ناهنجاری های کروموزومی که انتهای کروموزوم و در نتیجه توالی تلومری انتهایی را درگیر می کنند. (A) کروموزوم ناقص<sup>۱</sup> به همراه قطعه انتهایی. (B) یک جفت کروموزوم ناقص به همراه یک قطعه مرکب<sup>۲</sup>. (C) یک جفت قطعه انتهایی به همراه یک دی سنتریک<sup>۳</sup> یا یک کروموزوم حلقوی. (D) کروموزوم ناقص فاقد هر دو انتها به همراه یک قطعه مرکب. (E) کروموزوم ناقص فاقد هر دو انتها به همراه دو قطعه انتهایی.

- 1- Incomplete chromosome
- 2- compound fragment
- 3- dicentric



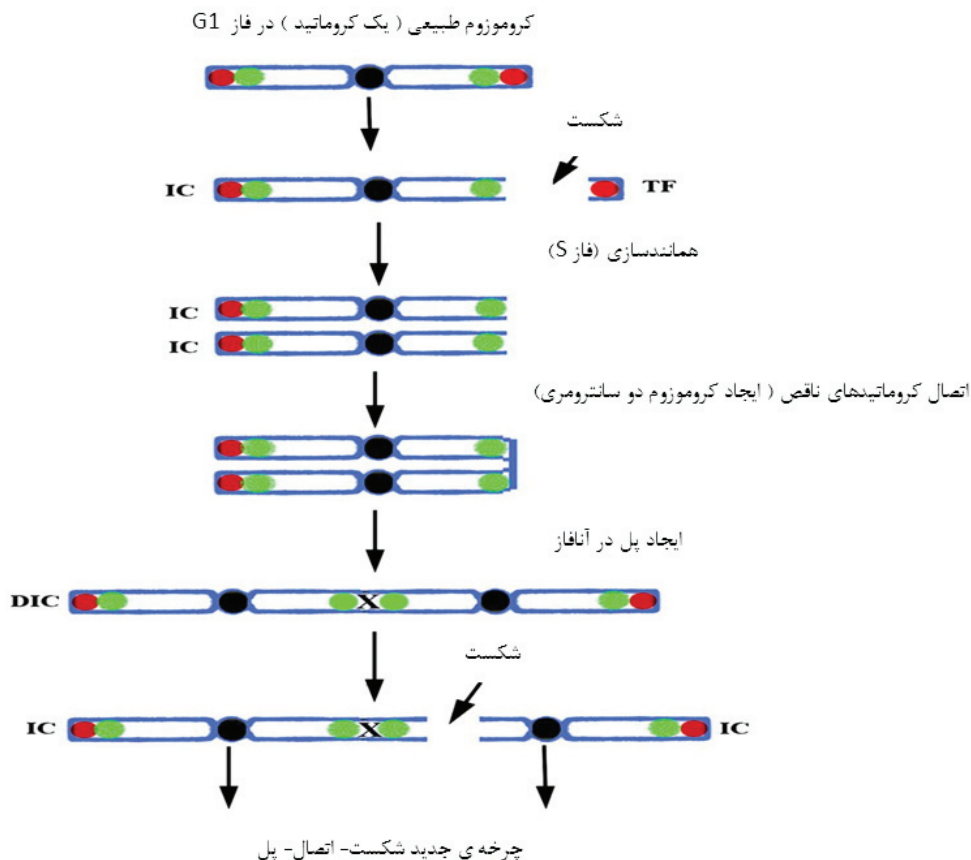
شکل شماره ۳



**شکل شماره ۳:** انواع اختلالات کروموزومی که در نتیجه ناکارآمدی تلومر ها مستقیماً توالی های تلومری انتهایی را درگیر می کنند. (A) فقدان تلومر در یک کروماتید یا در یک کروموزوم. (B) مضاعف شدن تلومر در یک کروماتید یا یک کروموزوم. (C) مورد ۱ نشان دهنده تجمع تلومری بین دو کروموزوم است در حالیکه مورد ۲ کروموزومی حلقوی را نشان می دهد که در این حالت تلومرهای یک کروموزوم ناکارآمد شده و تجمع پیدا می کنند اما به هم متصل نمی شوند. (D) اتصال های کروموزومی انتها به انتها یا تلومر به تلومر: موارد ۱، ۲ و ۳ به ترتیب نشان دهنده اتصال کروموزوم ها از طرق بازوهای q و p، از طریق بازوی q و از طریق بازوی p است. این در حالی است که مورد ۴ نشان دهنده یک کروموزوم حلقوی دو سانترومری است که در نتیجه اتصال دو انتهای یک کروموزوم دو سانترومری مانند مورد ۳، ایجاد شده است. (E) اتصال تلومر به تلومر دو کروموزوم آکروسنتریک از طریق بازوهای q (مورد ۱) یا بازوهای p (مورد ۲). (F) اتصال دو کروموزوم آکروسنتریک از طریق سانترومرهاشان، این نوع از ناهنجاری ممکن است در نتیجه کوتاه شدن تلومری یا شکست کروموزومی درون توالی های ماهواره ای ایجاد شود و منجر به شکل گیری یک کروموزوم دو سانترومری شود. اگر چه کروموزوم حاصل معمولاً یک سانترومری به نظر می آید. مورد بعدی مربوط به اتصال تلومر به تلومر یک کروموزوم است که منجر به ایجاد کروموزومی حلقوی با یک سیگنال تلومری می شود. (G) تبادلات تلومری بین کروماتید های خواهری که با استفاده از یک پروب تلومری یا دو پروب تلومری قابل تشخیص است. (H) جا به جایی توالی های تلومری انتهایی که می تواند منجر به ایجاد کروموزوم گیرنده<sup>۱</sup> با یک سیگنال تلومری بینابینی (مورد ۱) یا چندین سیگنال (مورد ۲) باشد کروموزوم دهنده<sup>۲</sup> نیز می تواند سیگنال تلومری ضعیفی داشته باشد یا فاقد سیگنال تلومری باشد. (I) تکثیر توالی تلومری انتهایی در یک (مورد ۱) یا دو انتهای کروموزوم (مورد ۲).

1- Recipient (R) chromosom  
2- donor (D) chromosome

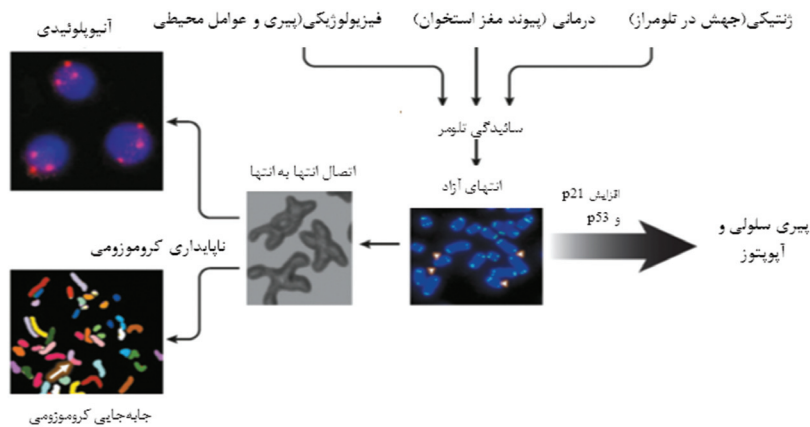
## شکل شماره ۴



**شکل شماره ۴:** تصویری شماتیک از چرخه شکست- اتصال- پل: این چرخه زمانی آغاز می شود که یک کروموزوم با توجه به شکست کروموزومی یکی از تلومرهایش را از دست می دهد. بعد از آن که شکست کروماتیدی رخ داد، انتهای کروموزومی غیر حفاظت شده در معرض قرار گرفته و بعد از همانند سازی با کروماتید شکسته دیگر یا کروماتید خواهری خودش اتصال برقرار کرده و یک کروموزوم دو سانترومری ایجاد می شود. با توجه به وجود دو سانترومر، کروماتیدهای اتصال یافته در طی آنافاز پلی را ایجاد می کنند که وقتی دو سانترومر به سمت قطب های مخالف کشیده می شوند، می شکنند. از آن جایی که شکست معمولاً در محلی غیر از جایگاه اتصال دو کروماتید رخ می دهد، یک سلول دختری کروموزومی با مضاعف شدگی در انتهایش دریافت می کند و سلول دختری دیگر کروموزومی با حذف در ناحیه انتهایی می گیرد که هر دو می توانند شروع کننده چرخه شکست- اتصال- پل، دیگری باشند مگر این که تلومری جدید به دست آورند.

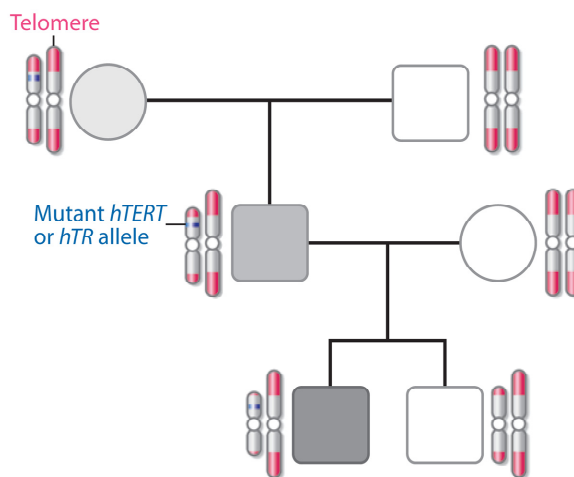


## شکل شماره ۵



**شکل شماره ۵:** پیامدهای فرسایش تلومر در سلول. تلومرها با هر تقسیم سلولی به طور اجتناب ناپذیری کوتاه می‌شوند و ساییدگی تلومر پیامد فیزیولوژیکی اجتناب ناپذیر پیری است. کوتاه شدن تلومر همچنین ممکن است در نتیجه درمان باشد. برای مثال کوتاه شدن تلومر بعد از پیوند مغز استخوان که در آن سلول‌های بنیادی خون ساز بسیار تکثیر شونده و سلول‌های پیش‌ساز، خون‌سازی را بازسازی می‌کنند، رخ می‌دهد. عوامل محیطی نیز ممکن است از دست دادن تلومر را تسریع بخشند. علاوه بر این ساییدگی تلومر ممکن است ژنتیکی باشد و ناتوانی ارثی برای طولی شدن تلومرها در نتیجه جهش در اجزای کمپلکس تلومرها وجود داشته باشد. وقتی تلومرها به طور شدیدی کوتاه می‌شوند، کروموزوم‌ها را به شکل نامناسبی محافظت می‌کنند یا حتی ممکن است انتهای بدون تلومر ایجاد شود که در این حالت منجر به پیری سلول یا آپوپتوز می‌شود. اگر در سلول پیری رخ ندهد و سلول به تکثیر خود ادامه دهد (برای مثال در نتیجه غیر فعال شدن p53)، تلومرهای فاقد پوشش ممکن است باعث اتصال انتهای کروموزوم‌ها، راه اندازی چرخه شکست-اتصال-پل، آنیوپلوئیدی و جا به جایی کروموزومی، شوند.

## شکل شماره ۶



**شکل شماره ۶:** طول تلومر یک صفت ارثی منحصر به فرد است. در سندرم‌های اتوزومی غالب کوتاه شدن تلومر، علاوه بر یک الل جهش یافته TERT یا TR، کوتاه شدن تلومرها نیز در طی نسل‌ها به ارث می‌رسد. کوتاه شدن مداوم تلومرها منجر به **anticipation** فنوتیپ‌ها شده که در شکل با رنگ خاکستری پررنگ‌تر نشان داده شده است.

## References

- 1- Xin, H., D. Liu, and Z. Songyang, The telosome/shelterin complex and its functions. *Genome biology*, 2008. 9(9): p. 232.
- 2- Lin, K.W. and J. Yan, Endings in the middle: current knowledge of interstitial telomeric sequences. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 2008. 658(1): p. 95-110.
- 3- Ruiz-Herrera, A., et al., Telomeric repeats far from the ends: mechanisms of origin and role in evolution. *Cytogenetic and genome research*, 2008. 122(3-4): p. 219-228.
- 4- Meyne, J., et al., Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG)<sub>n</sub> telomeric sequence in vertebrate chromosomes. *Chromosoma*, 1990. 99(1): p. 3-10.
- 5- Azzalin, C.M., S.G. Nergadze, and E. Giulotto, Human intrachromosomal telomeric-like repeats: sequence organization and mechanisms of origin. *Chromosoma*, 2001. 110(2): p. 75-82.
- 6- Zvereva, M.I., D.M. Shcherbakova, and O.A. Dontsova, Telomerase: Structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Moscow)*, 2010. 75(13): p. 1563-1583.
- 7- Calado, R.T. and N.S. Young, Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood*, 2008. 111(9): p. 4446-4455.
- 8- Podlevsky JD, Chen JLL. It all comes together at the ends: telomerase structure, function, and biogenesis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2012. 730(1):3-11..
- 9- Volpi, E.V. and J.M. Bridger, FISH glossary: an overview of the fluorescence in situ hybridization technique. *Biotechniques*, 2008. 45(4): p. 385-6.
- 10- Madon, P., et al., Fluorescence in-situ Hybridization (FISH)-A Rapid and Useful Technique for Diagnosis and Management in Leukemia. *International Journal of Human Genetics*, 2003. 3: p. 115-119.
- 11- Pellestor, F. and P. Paulasova, The peptide nucleic acids (PNAs): introduction to a new class of probes for chromosomal investigation. *Chromosoma*, 2004. 112(8): p. 375-380.
- 12- Lansdorp, P.M., et al., Heterogeneity in telomere length of human chromosomes. *Human Molecular Genetics*, 1996. 5(5): p. 685-691.
- 13- Bolzani, A.D., Chromosomal aberrations involving telomeres and interstitial telomeric sequences. *Mutagenesis*, 2011. 27(1): p. 1-15.
- 14- Yan, J., et al., The labeling efficiency of human telomeres is increased by double-strand PRINS. *Chromosoma*, 2004. 113(4): p. 204-209.
- 15- Donate, L.E. and M.A. Blasco, Telomeres in cancer and ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2011. 366(1561): p. 76-84.
- 16- Davoli T, de Lange T. Telomere-driven tetraploidization occurs in human cells undergoing crisis and promotes transformation of mouse cells. *Cancer cell*, 2012. 21(6):765-76.
- 17- Galati, A., Micheli, E., & Cacchione, S. Chromatin structure in telomere dynamics. *Frontiers in oncology*, 3. 2013
- 18- Stohr, B.A., L. Xu, and E.H. Blackburn, The terminal telomeric DNA sequence determines the mechanism of dysfunctional telomere fusion. *Molecular cell*, 2010. 39(2): p. 307-314.
- 19- Chavez, A., A.M. Tsou, and F.B. Johnson, Telomeres do the (un) twist: helicase actions at chromosome termini. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2009. 1792(4): p. 329-340.
- 20- Paeschke, K., K.R. McDonald, and V.A. Zakian, Telomeres: structures in need of unwinding. *FEBS letters*, 2010. 584(17): p. 3760-3772.
- 21- Raynaud, C.M., et al., Telomere length, telomeric proteins and genomic instability during the multistep carcinogenic process. *Critical reviews in oncology/hematology*, 2008. 66(2): p. 99-117.
- 22- Bailey, S.M., et al., Dysfunctional mammalian telomeres join with DNA double-strand breaks. *DNA repair*, 2004. 3(4): p. 349-357.
- 23- Al-Wahiby, S. and P. Slijepcevic, Chromosomal aberrations involving telomeres in BRCA1 deficient human and mouse cell lines. *Cytogenetic and genome research*, 2005. 109(4): p. 491-496.
- 24- Kilburn, A.E., et al., Insertion of a telomere repeat sequence into a mammalian gene causes chromosome instability. *Molecular and cellular biology*, 2001. 21(1): p. 126-135.
- 25- Rivero, M.I., et al., Differences in repair profiles of interstitial telomeric sites between normal and DNA double-strand break repair deficient Chinese hamster cells. *Experimental cell research*, 2004. 295(1): p. 161-172.
- 26- Murmane JP. Telomere dysfunction and chromosome instability. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of*



Mutagenesis, 2012.730(1):28-36.

27- Calado, R.T. and N.S. Young, Telomere diseases. *New England Journal of Medicine*, 2009. 361(24): p. 2353-2365.

28- Savage SA, Alter BP. Dyskeratosis congenita. *Hematology/oncology clinics of North America*, 2009. 23(2):215-31.

29- De La Fuente J, Dokal I. Dyskeratosis congenita: advances in the understanding of the telomerase defect and the role of stem cell transplantation. *Pediatric transplantation*, 2007. 11(6):584-94.

30- Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, Klauck SM, Wiemann S, Mason PJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nature genetics*, 1998. 19(1):32-8.

31- Vulliamy T, Marrone A, Goldman F, Dearlove A, Bessler M, Mason PJ, et al. The RNA component of telomerase is mutated in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Nature*, 2001. 413(6854):432-5.

32- Armanios M, Chen J-L, Chang Y-PC, Brodsky RA, Hawkins A, Griffin CA, et al. Haploinsufficiency of telomerase reverse transcriptase leads to anticipation in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. 102(44):15960-4.

33- Vulliamy T, Beswick R, Kirwan M, Marrone A, Digweed M, Walne A, et al. Mutations in the telomerase component NHP2 cause the premature ageing syndrome dyskeratosis congenita. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008. 105(23):8073-8.

34- Walne AJ, Vulliamy T, Marrone A, Beswick R, Kirwan M, Masunari Y, et al. Genetic heterogeneity in autosomal recessive dyskeratosis congenita with one subtype due to mutations in the telomerase-associated protein NOP10. *Human molecular genetics*, 2007. 16(13):1619-29.

35- Savage SA, Giri N, Baerlocher GM, Orr N, Lansdorp PM, Alter BP. TIN2, a Component of the Shelterin Telomere Protection Complex, Is Mutated in Dyskeratosis Congenita. *The American Journal of Human Genetics*, 2008. 82(2):501-9.

36- Zhong F, Savage SA, Shkreli M, Giri N, Jessop L, Myers T, et al. Disruption of telomerase trafficking by TCAB1 mutation causes dyskeratosis congenita. *Genes & development*, 2011. 25(1):11-6.

37- Keller RB, Gagne KE, Usmani GN, Asdourian GK, Williams DA, Hofmann I, et al. CTC1 Mutations in a patient with dyskeratosis congenita. *Pediatric blood & cancer*, 2012. 59(2):311-4.

38- Armanios M, Blackburn EH. The telomere syndromes. *Nature Reviews Genetics*, 2012. 13(10): 693-704

39- Knight SW, Heiss NS, Vulliamy TJ, Aalfs CM, McMahon C, Richmond P, et al. Unexplained aplastic anaemia, immunodeficiency, and cerebellar hypoplasia (Hoyeraalâ€ Hreidarsson syndrome) due to mutations in the dyskeratosis congenita gene, DKC1. *British journal of haematology*, 1999. 107(2):335-9.

40- Alter BP, Rosenberg PS, Giri N, Baerlocher GM, Lansdorp PM, Savage SA. Telomere length is associated with disease severity and declines with age in dyskeratosis congenita. *Haematologica*, 2012. 97(3):353-9.

41- Brummendorf TH, Maciejewski JP, Mak J, Young NS, Lansdorp PM. Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood*, 2001. 97(4):895-900.

42- Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, Chanock SJ, Nunez O, Sloand E, et al. Mutations of the human telomerase RNA gene (TERC) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood*, 2003. 102(3):916-8

43- Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, Bradford WZ, Oster G. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2006. 174(7):810-6.

44- Cronkrite JT, Xing C, Raghu G, Chin KM, Torres F, Rosenblatt RL, et al. Telomere shortening in familial and sporadic pulmonary fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2008. 178(7):729

45- Armanios M. Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2012. 730(1):52-8.

46- Armanios M. Syndromes of telomere shortening. *Annual review of genomics and human genetics*, 2009. 10:45.

47- Li, D., Yuan, Q., & Wang, W.. The role of telomeres in musculoskeletal diseases. *Journal of International Medical Research*, 2012. 40(4), 1242-1250.

48- Kong CM, Lee XW, Wang X. Telomere Shortening in Human Diseases. *FEBS Journal*, 2013. 280(14):3180-93

49- Alter BP, Giri N, Savage SA, Rosenberg PS. Cancer in dyskeratosis congenita. *Blood*, 2009. 113(26):6549-57.

50- McGrath M, Wong JYY, Michaud D, Hunter DJ, De Vivo I. Telomere length, cigarette smoking, and bladder cancer risk in men and women. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2007. 16(4):815-9.

51- Risques RA, Vaughan TL, Li X, Odze RD, Blount PL, Ayub K, et al. Leukocyte telomere length predicts cancer risk in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*. 2007;16(12):2649-55.

- 52- Xing J, Ajani JA, Chen M, Izzo J, Lin J, Chen Z, et al. Constitutive short telomere length of chromosome 17p and 12q but not 11q and 2p is associated with an increased risk for esophageal cancer. *Cancer Prevention Research*. 2009;2(5):459-65.
- 53- Wentzensen IM, Mirabello L, Pfeiffer RM, Savage SA. The association of telomere length and cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2011. 20(6):1238-50.
- 54- Martinez-Delgado B, Yanowsky K, Inglada-Perez L, de la Hoya M, Caldes T, Vega A, et al. Shorter telomere length is associated with increased ovarian cancer risk in both familial and sporadic cases. *Journal of medical genetics*, 2012.49(5):341-4
- 55- Ruden, M., & Puri, N. Novel anticancer therapeutics targeting telomerase. *Cancer Treatment Reviews*. 2012
- 56- Jacobs, J. J.). Loss of telomere protection: consequences and opportunities. *Frontiers in oncology*, 3, 2013.
- 57- Pekarsky Y, Zanesi N, Croce CM, editors. *Molecular basis of CLL*. Seminars in cancer biology. Elsevier, 2010. 20(6):370-6.
- 58- Brugat, T., et al., Telomere dysfunction-induced foci arise with the onset of telomeric deletions and complex chromosomal aberrations in resistant chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood*, 2010. 116(2): p. 239-249.
- 59- Ramsay AJ, Quesada Vc, Foronda M, Conde L, Martínez-Trillos A, Villamor N, et al. POT1 mutations cause telomere dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Nature genetics*, 2013. 45(5):526-30
- 60- Odagiri, E., Kanda, N., Jibiki, K., Demura, R., Aikawa, E., & Demura, H. Reduction of telomeric length and c-erbB-2 gene amplification in human breast cancer, fibroadenoma, and gynecomastia. Relationship to histologic grade and clinical parameters. *Cancer*, 1994. 73(12), 2978-2984.
- 61- Griffith, J. K., Bryant, J. E., Fordyce, C. A., Gilliland, F. D., Joste, N. E., & Moyzis, R. K. Reduced telomere DNA content is correlated with genomic instability and metastasis in invasive human breast carcinoma. *Breast cancer research and treatment*, 1999. 54(1), 59-64.
- 62- Meeker, A. K., Hicks, J. L., Gabrielson, E., Strauss, W. M., De Marzo, A. M., & Argani, P. Telomere Shortening Occurs in Subsets of Normal Breast Epithelium as well as in Situ and Invasive Carcinoma. *The American journal of pathology*, 2004. 164(3), 925-935.
- 63- Heaphy, C. M., & Meeker, A. K. The potential utility of telomere-related markers for cancer diagnosis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2011. 15(6), 1227-1238.
- 64- Epel, E. S., Blackburn, E. H., Lin, J., Dhabhar, F. S., Adler, N. E., Morrow, J. D., & Cawthon, R. M. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. 101(49), 17312-17315.
- 65- Valdes, A. M., Andrew, T., Gardner, J. P., Kimura, M., Oelsner, E., Cherkas, L. F., ... & Spector, T. D. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *The Lancet*, 2005. 366(9486), 662-664.
- 66- Fossel, M. Use of Telomere Length as a Biomarker for Aging and Age-Related Disease. *Current Translational Geriatrics and Gerontology Reports*, 2012. 1(2), 121-127.
- 67- Sampson, M. J., Winterbone, M. S., Hughes, J. C., Dozio, N., & Hughes, D. A. (). Monocyte telomere shortening and oxidative DNA damage in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2006. 29(2), 283-289.
- 68- Salpea, K. D., Talmud, P. J., Cooper, J. A., Maubaret, C. G., Stephens, J. W., Abelak, K., & Humphries, S. E. Association of telomere length with type 2 diabetes, oxidative stress and UCP2 gene variation. *Atherosclerosis*, 2010. 209(1), 42-50.
- 69- Samani, N. J., Boulby, R., Butler, R., Thompson, J. R., & Goodall, A. H. Telomere shortening in atherosclerosis. *The Lancet*, 2001.358(9280), 472-473.
- 70- Fitzpatrick, A. L., Kronmal, R. A., Gardner, J. P., Psaty, B. M., Jenny, N. S., Tracy, R. P., ... & Aviv, A. Leukocyte telomere length and cardiovascular disease in the cardiovascular health study. *American Journal of epidemiology*, 2007. 165(1), 14-21.
- 71- Salpea, K. D., & Humphries, S. E. Telomere length in atherosclerosis and diabetes. *Atherosclerosis*, 2010. 209(1), 35.
- 72- Alter, B. P., Rosenberg, P. S., Giri, N., Baerlocher, G. M., Lansdorp, P. M., & Savage, S. A. Telomere length is associated with disease severity and declines with age in dyskeratosis congenita. *Haematologica*, 2012. 97(3), 353-359.
- 73- Dokal, I., Vulliamy, T., Mason, P., & Bessler, M. (). Clinical utility gene card for: Dyskeratosis congenita. *European Journal of Human Genetics*, 2011. 19(11).

