مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۶۷/هفته اول اسفند ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۱/۵

تلومراز و درمان تومورهای مغزی

دکتر مجید خیراللهی[۱]، رویا خواجه گودری[۲]، رضا قویمی[۲]

مقاله مروری

چکیده

تلومر یک ساختمان ویژه می‌باشد که سبب محافظت انتهای کروموزوم از تحلیل رفتن می‌شود. تلومر در هر بار تقسیم سلولی کوتاه‌تر می‌شود. با این حال، تلومراز آنزیمی است که در سلول‌های سرطانی و رده‌ی زاینده فعال است که تلومر را بازسازی می‌کند. اما در ظاهر ارتباطی بین طول تلومر و فعالیت تلومراز وجود ندارد. فعالیت آنزیم تلومراز با بدخیمی تومور در ارتباط است. به طور کلی، فعالیت تلومراز و درجه‌ی هیستولوژیکی ارتباط نزدیکی با هم دارند و نتیجه‌ی مطالعات مشخص نموده است که فعالیت تلومراز، یک نشانگر مهم بدخیمی در تومورهای مغزی است. به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، می‌توان گفت احتمال می‌رود که فعالیت تلومراز می‌تواند به عنوان نشانگر بیولوژیکی در پاسخ به درمان در نظر گرفته شود.

واژگان کلیدی: تلومراز، درمان، تومور، مغز

ارجاع: خیراللهی مجید، خواجه گودری رویا، قویمی رضا. **تلومراز و درمان تومورهای مغزی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۶۷): ۲۱۹۳-۲۲۰۸

مقدمه

تلومر یک ساختار ویژه است که انتهای کروموزوم را در برابر نوترکیبی و ادغام شدن آن‌ها به همدیگر، محافظت می‌کند. آنزیم نسخه‌برداری معکوس انسانی، زیر واحد کاتالیتیک تلومراز می‌باشد. زیر واحد کاتالیتیک تلومراز انسانی یا hTERT (Human telomerase reverse transcriptase) از الگویی از جزء دیگر آنزیم hTR (Human telomerase RNA) استفاده می‌کند تا DNA تلومری را که از یک توالی به طور کامل حفاظت شده‌ی هگزامر است، به انتهای کروموزوم اضافه کند. با افزایش تعداد چرخه‌ی سلولی و تقسیم میتوز، طول تلومر کاهش می‌یابد، چون DNA پلیمراز نمی‌تواند انتهای کروموزوم را همانندسازی کند.

آنزیم وابسته به RNA با خاصیت پلیمرازی (تلومراز)، این وظیفه را بر عهده دارد. با کاهش طول تلومر، سلول‌ها به آستانه‌ی بحران برای مرگ برنامه‌ریزی شده می‌رسند (۱). اکثر سلول‌های سوماتیک، آنزیم تلومراز را بیان نمی‌کنند؛ اما تلومراز در سلول‌های رده‌ی زایا، سلول‌های بنیادی جنینی و لنفوسیت‌های T و همچنین در ۸۰ درصد از سرطان‌ها فعال می‌باشد (۳-۲). بیان تلومراز در سلول‌های سوماتیک و در سرطان‌ها از طریق پایداری تلومر و حفاظت کروموزوم‌ها، باعث نامیرایی و طول عمر نامحدود در آن‌ها می‌شود (۵-۴).

تنظیم بیان تلومراز بسیار پیچیده است و توسط

۱- استادیار، مرکز تحقیقات بیماری‌های ارثی کودکان و گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مجید خیراللهی
Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir

پروتئین‌های زیادی کـه بـا تلـومر در ارتبـاط هسـتند، انجام می‌گیرد. در بعضی موارد از سـرطان‌هـا فعالیـت تلـومراز اطلاعـات بـا ارزشـی در مـورد پیشـرفت و پیش‌آگهی تومور به ما مـی‌دهـد. بـه عنـوان مثـال، در سرطان معده و در نوروبلاستوما فعالیت زیاد تلـومراز با پـیش‌آگهـی ضـعیف در ارتبـاط مـی‌باشـد (۴-۳). یافته‌های جدیدی در مورد نقـش کلیـدی تلـومراز در حفظ انتهای تلـومری کرومـزوم شـناخته شـده اسـت (۶-۵). زیر واحد کاتالیتیـک آنـزیم، بـا فعـال کـردن مسـیرهای سـیگنالینگ WNT، در رشـد و تکثیـر از طریـــق عوامـــل رونویســـی β-catenin/LEF (β-catenin/lymphoid enhancer factor) دخالـت دارد و باعـث افـزایش تقسـیم و مقاومـت بـه مـرگ برنامه‌ریزی سلول‌ها می‌شود.

جهش در اجزای اصلی تلـومراز ماننـد hTERT و hTERC (Human telomerase RNA gene) بـا بیماری‌هایی نظیر آنمی آپلاستیک و دیس کراتـوزیس پوستی مادرزادی در ارتباط مـی‌باشـد. هـر دوی ایـن بیماری‌هـا بـا نقـص در سـلول‌هـای پـیش‌سـاز مغـز استخوان همراه هستند (۷-۶).

پروتئین‌های همراه تلومر

یک سری از مطالعات نقـش پـروتئین‌هـایی را کـه بـه صورت اختصاصی به DNA تلومری متصل می‌شـوند، در پاتوفیزیولوژی سرطان‌ها مشخص نمودند. به عنـوان مثـــــال، TRF۱/TRF۲/Rap۱/TIN۲/TPP۱/POT۱ به عنـوان تعـدیل کننـده‌ی فعالیـت تلـومراز محسـوب مـــی‌شـــوند. همچنـــین، پـــروتئین‌هـــای TRF۱ (Telomeric repeat-binding factor۱) و TRF۲ (Telomeric repeat-binding factor۲) با حـدود ۴۰ درصد شباهت با درجه‌ی تمایل بالا به تلـومر متصـل می‌شوند؛ اما هیچ گونه برهم‌کنشی با هم ندارنـد. هـر دو پروتئین به DNA دو رشته‌ای متصل می‌شوند، امـا POT۱ (Protection of telomeres protein۱) بـه DNA تک رشته‌ای متصل می‌شود. سه پروتئین دیگـر TPP۱ (Tripeptidyl peptidase۱)، TIN۲ (TRF1-interacting nuclear factor۲) و RAP۱ (Ras-proximate۱ یـا Ras-related protein۱) بـا همدیگر سبب محافظت انتهای کرومـوزوم مـی‌شـوند (۱۰-۸). پـروتئین TRF۱ بـه عنـوان تنظـیم کننـده‌ی عملکرد تلومر محسوب می‌شود. در شرایط جهش در موتیف پروتئینی متصـل بـه DNA تلـومری، بیـان آن افزایش می‌یابد که باعث افزایش طول تلومر می‌شـود. پروتئین TRF۲ بـه عنـوان عامـل محافظـت کننـده‌ی تلومر محسوب می‌شود.

جهش در TRF۱ و حذف TRF۲ از انتهای تلـومر و در نتیجه از بین رفتن آن با هر تقسیم سلول، باعـث فعال شدن P۵۳ و مرگ برنامـه‌ریـزی شـده مـی‌شـود (۱۱-۸). بـــین تلـــومراز و پـــروتئین‌هـــای C-Myc (C-myelocytomatosis)، TRF۲ و TRF۱ رابطـــــه وجـــــود دارد. بیـــــان TIN۲، TRF۲ و TRF۱ در سلول‌های سرطانی افزایش می‌یابـد. جهـش در TRF باعث برداشته شدن مهـار تلـومراز و فعـال شـدن آن مـــی‌شـــود. بنـــابراین TRF بـــه عنـــوان یـــک عامـــل هموستاتیک کننده در سلول‌های سالم، از تکثیر بـیش از حد با مهار فعالیت تلومراز می‌باشد.

مطالعات نشان داده است که TRF در سـلول‌هـای توموری آستروسیتوما بیان می‌شود (۱۲)، اما در بافـت سالم بیان نشده است و در تومـور بـا درجـه‌ی پـایین نسبت به تومور بدخیم، بیشتر بیان شـده اسـت (۱۳).

این یافته‌ها نشان می‌دهد که عدم بیان TRF در سلول‌های آستروسیت باعث افزایش تکثیر و نامیرایی در آن‌ها شده است (۸).

تأثیر عامل رونویسی E۲F روی بیان تلومراز

چندین مسیر مربوط به سرکوبگرهای توموری به عنوان واسطه‌های مهم در عملکرد تلومراز عمل می‌نمایند که یکی از آن‌ها مسیر مربوط به رتینوبلاستوما (Rb یا Retinoblastoma) و عامل رونویسی E۲F است (۱۴). در اغلب سرطان‌ها، جهش در ژن‌ها سبب تحت تأثیر قرار گرفتن نقاط کنترل (Check point) در چرخه‌ی سلولی می‌گردد و در پاسخ به آسیب DNA یا فعال شدن یک انکوژن سبب محدود شدن تکثیر سلولی می‌شود. پروتئین رتینوبلاستوما هم یکی از تنظیم کننده‌های نقاط کنترلی در چرخه‌ی سلولی است (۱۵). غیر فعال شدن Rb در سلول‌های سرطانی، منجر به فعالیت تنظیم نشده‌ی عامل رونویسی E۲F می‌شود. این عامل رونویسی در اعمالی نظیر کنترل بیان ژن در طی تمایز، رشد و تکثیر سلولی و آپوپتوز نقش ایفا می‌کند. E۲F در شرایط *in vitro* و *in vivo* دارای خصوصیات انکوژنی است و بیان بالای آن در موش‌های ترانس ژن، سبب القای تومور در آن‌ها می‌شود (۱۶).

نکته‌ی دیگر این که E۲F می‌تواند در شرایط *in vitro* و *in vivo* سبب القای آپوپتوز شود و این امر پیشنهاد می‌کند که E۲F می‌تواند به عنوان سرکوبگر تومور عمل نماید (۱۷). مطالعه بر روی سلول‌های انسانی، رابطه‌ی بین فعالیت تلومراز و چرخه‌ی سلولی را مشخص کرده است. تحقیقات نشان داده‌اند که E۲F نقش کلیدی در تنظیم بیان تلومراز در سلول‌ها و به خصوص در قسمت پروگسیمال پروموتر hTERT دارد. قسمت پروگسیمال پروموتر hTERT حداقل دارای ۳ ناحیه جهت اتصال E۲F می‌باشد (۱۹-۱۸).

در طی مطالعات صورت گرفته توسط Alonso و همکاران، مشخص شده است که مسیر Rb-E۲F در فعالیت و تنظیم بیان تلومراز در سلول‌های سرطانی و سلول‌های طبیعی نقش دارند. نتایج این مطالعات نشان داده‌اند که ارتباط مشخصی بین مقادیر E۲F و میزان mRNA مربوط به hTERT در نمونه‌های بافتی گرفته شده از تومورهای بدخیم مغز وجود دارد، به خصوص این که مقادیر پروتئین، mRNA مربوط به hTERT و فعالیت تلومراز در سلول‌هایی که بیان E2F در آن‌ها بالا بوده است، افزایش نشان داده است (۱۴).

E۲F به طور مستقیم به ناحیه‌ی پروموتر hTERT اتصال می‌یابد و سبب تنظیم فعالیت تلومراز در طول پیشرفت چرخه‌ی سلولی می‌شود. در این مدل، E۲F آزاد (غیر متصل به Rb) سبب فعال کردن تلومراز می‌شود (۲۰). ارتباط پیچیده‌ی بین Rb و فعالیت تلومراز نه تنها سبب کنترل فعالیت تلومراز می‌شود، بلکه در کنترل ساختار کروموزوم و پایداری ژنومی در طی چرخه‌ی سلولی دارای اهمیت است (۲۱).

این ارتباط بین E۲F و بیان mRNA مربوط به hTERT در بیماران دچار گلیوبلاستوما از نظر کلینیکی حایز اهمیت است. مشخص شده است که مقادیر کم E۲F یا بیان کم mRNA مربوط به hTERT در بیماران دچار گلیوبلاستوما، باعث طولانی‌تر شدن میانگین بقای این بیماران می‌شود. مطالعات قبلی نشان داده بودند که فعالیت تلومراز در

سلول‌های توموری با پیشرفت گلیوماهای بدخیم همراه هستند (۲۲). افزایش بیان hTERT با کاهش بقای این دسته از بیماران همراه است. همچنین عدم وجود فعالیت تلومراز یا وجود یک مکانیسم جایگزین دیگر جهت افزایش طول تلومرها، با افزایش بقای بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما همراه است (۲۳).

تلومراز به عنوان نشانگر بدخیمی

فعالیت تلومراز در ۹۰-۸۰ درصد از سرطان‌ها گزارش شده است (۲۴). بیان تلومراز در طیف وسیعی از بافت‌های سالم (سلول‌های خونی، سلول‌های اپیتلیال و اندوتلیال و غیره) در طول چرخه‌ی سلولی اتفاق می‌افتد. در سلول‌هایی که به صورت فعالانه تکثیر می‌شوند، بیان و فعالیت تلومراز حفظ می‌شود. در حالی که در بافت‌های سوماتیک تمایز یافته، بیان تلومراز سرکوب می‌گردد. در بسیاری از سلول‌های سرطانی، فعالیت تلومراز بالا می‌باشد و این امر نشان می‌دهد که برخی نقایص در تنظیم بیان تلومراز به وجود آمده است (۲۵).

در برخی از مواقع با داشتن گستره‌ی وسیعی از تومورهای خوش‌خیم و بدخیم، تشخیص افتراقی و مورفولوژیک این دو نوع تومور از همدیگر مشکل می‌باشد. از این رو در چنین مواردی، فعالیت تلومراز می‌تواند یک شاخص مؤثر در پی بردن به نوع بدخیمی به حساب آید (۲۶). طی چندین مطالعه، ترکیبات مربوط به تلومراز به عنوان نشانگرهای توموری مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. DNA یا RNA مشتق شده از تومور، در خون بیماران مبتلا به سرطان قابل ردیابی و شناسایی است. با مطالعه بر روی این موضوع، محققین توانسته‌اند mRNA مربوط به hTERT را در خون محیطی افراد سرطانی شناسایی کنند (۲۸-۲۷).

از آن جا که تلومراز بیان بالایی را در سلول‌های سرطانی دارد، شناسایی mRNA مربوط به hTERT یک نشانگر قدرتمند و اختصاصی در شناسایی سلول‌های توموری در خون خواهد بود. با این وجود، در برخی از شرایط پاتولوژیک دیگر همچون التهاب القا شده در اثر برخی از بیماری‌های اتوایمن، تلومراز بیان بالایی دارد و بنابراین برای جلوگیری از اشتباه، باید این دو حالت از هم تفکیک شوند (۲۹).

بیان نسبی رونوشت‌های hTERT در گلیومای آستروسیتی

زیر واحد کاتالیتیک تلومراز انسانی (hTERT) به عنوان هسته‌ی مرکزی یا جزء اصلی آنزیم تلومراز در نظر گرفته می‌شود (۳۰). مشخص گردیده است که بیان hTERT با فعالیت تلومراز در ارتباط می‌باشد (۳۲-۳۱). اگر چه ممکن است در غیاب فعالیت تلومراز و یا در موارد خاص مثل شرایط عدم وجود سرطان (برای مثال ضایعات ندولار حاصل از سیروز کبدی) هم hTERT بیان شود (۳۳). گفته می‌شود که تنظیم بیان hTERT در رابطه با فعالیت تلومراز در سطح رونویسی، بعد از رونویسی و یا در طول فرایند حذف و وصل متغیر (Alternative splicing) صورت می‌پذیرد (۳۴).

حداقل ۷ نوع متفاوت از mRNA، برای hTERT شناسایی شده است که از میان آن‌ها مطالعات زیادی روی Adel (فاقد ۳۶ نوکلئوتید در ابتدای اگزون ۶)، Bdel (فاقد ۱۸۲ نوکلئوتید مربوط به اگزون ۷ و ۸) و

AdelBdel (فاقد هر دو جایگاه) صورت گرفته است. فقط رونوشت‌های با طول کامل دارای عملکرد هستند و قابلیت فعال کردن تلومراز را دارند، در حالی که Adel به عنوان تنظیم کننده‌ی منفی درونی برای تلومراز عمل می‌کند (۳۵، ۳۰). تومورهای مغزی یکی از اولین سیستم‌هایی هستند که فعالیت تلومراز در آن‌ها به عنوان نشانگری برای تشخیص بدخیمی به کار می‌رود (۲۲).

به عنوان یک قانون کلی، پذیرفته شده است که شاخصه‌ی مهم گلیوماهای درجه‌ی بالا (High grade) وجود فعالیت بالای تلومراز در آن‌ها است (۳۶). به هر حال، توافق خاصی روی مقادیر مشخص کننده یا پیش‌بینی کننده‌ی این مطلب وجود ندارد. این در حالی است که فعالیت تلومراز در مطالعات گوناگون محدوده‌ای بین ۱۰۰-۲۳ درصد را داشته است (۳۸-۳۷). در سلول‌های آستروسیت طبیعی، بیان hTERT جهت مرحله‌ی نامیرایی قبل از مرحله‌ی بدخیمی ضروری است، در حالی که جلوگیری از عملکرد hTERT منجر به توقف تکثیر رده‌های سلولی گلیوبلاستوما می‌شود (۳۹، ۳۳).

جلوگیری از فعالیت و عملکرد تلومراز با هدف قرار دادن hTERT

چندین روش جهت هدف قرار دادن (Targeting) آنزیم تلومراز وجود دارد که روش‌های آنتی سنس و ریبوزایم‌های سرچکشی (Hammerhead) و مهار کننده‌های ترانس کریپتاز چند مثال از این روش می‌باشند. برخی از این روش‌ها در مراحل کارآزمایی بالینی و برخی در مراحل پایانی پره کلینیکال می‌باشند. فعالیت تلومراز یک عامل مهم در پیشرفت بیماری و همچنین میزان شانس بقای بیماران دارای تومور مغزی می‌باشد (۴۰).

سلول‌های گلیومای حساس به دوزهای پایین سیس پلاتین (Cisplatin) به خاطر فقدان تلومر، سریع از بین می‌روند. این پدیده می‌تواند نشانگر موفقیت داروی سیس پلاتین به عنوان یک عامل ضد سرطانی، به خصوص برای گلیوما باشد (۴۱).

واکسیناسیون توسط باکولوویروس‌های سودوتایپ بیان کننده‌ی hTERT در حیوانات دارای تومور مغزی با موفقیت توانسته است سبب القای خاصیت ایمنی‌زایی ضد توموری بر علیه hTERT شود. به نظر می‌رسد که مقادیر رونوشت‌های hTERT می‌تواند پیش‌بینی کننده‌ی بقای بیماران مبتلا به تومور باشد (هر چقدر که بیان hTERT پایین باشد، شانس بقای فرد بیشتر می‌شود).

نقش کلیدی تلومراز در پاتوژنز گلیوما می‌تواند به عنوان هدفی بالقوه جهت درمان گلیوما مطرح باشد (۴۲). بیان hTERT در سلول‌های گلیوما می‌تواند از طریق هیپرمتیلاسیون یا هیپومتیلاسیون تنظیم گردد. بسیاری از داروهای ضد تلومراز سعی در کاهش دادن متیلاسیون تلومراز دارند، به عنوان مثال تیمار با ترکیب ۵-آزاسیستیدین (5azadc) در رده‌ی سلول گلیومایی توانسته است که بیان و فعالیت تلومراز را کاهش دهد (۴۳).

با توجه به شواهد موجود، می‌توان نتیجه گرفت که متیلاسیون پروموتر در سلول‌های گلیومایی می‌تواند مانع از بیان تلومراز در آن‌ها گردد. بنابراین با مهار ژن متیل ترانسفراز (DNMT۱ یا DNA-methyltransferase۱) توسط siRNA (Small interfering RNA)، هم بیان DNMT۱ و هم

بیان تلومراز را می‌توان کاهش داد. همچنین استفاده‌ی همزمان siRNA با داروی شیمی درمانی (تاکسول، TMZ) بر علیه DNMT می‌تواند به میزان ۷-۴ برابر در سلول‌های گلیومایی سبب بالا رفتن بازده گردد (۴۴). این امر نشان می‌دهد که مهار تلومراز بدین وسیله می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین، از طریق کاربرد دوزهای پایین داروها، در کاهش عوارض جانبی و بهبود طول عمر بیماران ثمربخش باشد. معمول ترین رویکرد در مهار تلومراز جلوگیری از عملکرد زیر واحد کاتالیتیک آن (hTERT) است (۴۵). روش‌های مهار تلومراز در ادامه شرح داده می‌شوند.

الف: مهار توسط کاربرد siRNA

siRNA یک مولکول RNA با فعالیت اندونوکلئازی است. توالی‌های siRNA دو رشته‌ای بسیار پایدارند، اما به منظور افزایش هر چه بیشتر پایداری توالی‌های تک رشته‌ای کوتاه که به عنوان اولیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس عمل می‌کنند، اغلب چندین تغییر شیمیایی بر روی آن‌ها انجام می‌گیرد. نسل دوم مهار کننده‌های آنتی سنس شامل Phosphorothioate modification و ۲′-o-methyl-RNA capping جهت افزایش پایداری در مقابل نوکلئازها و بهبود قابلیت اتصال به توالی‌های هدف طراحی شده‌اند. چندین گروه تحقیقاتی از توالی‌های siRNA بر علیه hTERT استفاده کرده‌اند که نتیجه‌ی آن، کاهش مؤثر در فعالیت تلومراز در شرایط *in vitro* بوده است (۴۶-۴۷).

ب: مهار از طریق کاربرد ریبوزایم‌ها

ریبوزایم‌های سرچکشی، RNAهای آنتی سنس هستند که دارای فعالیت اختصاصی اندوریبونوکلئازی می‌باشند و قادر به کاتالیز اتصالات فسفودی استر اختصاصی هستند که نتیجه‌ی این فعالیت‌ها در نهایت برش توالی‌های RNA هدف می‌باشد. در حقیقت، ریبوزایم‌ها پتانسیل بالایی از نظر فارماکوکینتیک دارند که شامل پایداری بالا (تغییرات شیمیایی)، تطابق پذیری بیولوژیک (جذب توسط پروتئین‌های کونژوگه و یا لیپیدها) و اختصاصیت بالا (توالی اختصاصی) هستند.

تحقیقات گسترده‌ای بر روی تجزیه‌ی mRNA مربوط به hTERT از طریق ریبوزایم در رده‌های سلولی متنوع توموری همچون کارسینوماهای اندومتریال، پستان و رحم با موفقیت انجام پذیرفته است (۴۹-۴۸). نتیجه‌ی تمامی این مطالعات از بین رفتن فعالیت تلومراز، ممانعت از تکثیر سلولی و در نهایت، فرایند آپوپتوز بوده است. با این حال، کوتاه شدن تلومراز همیشه اتفاق نیفتاده است و بنابراین، مطالعات بیشتری در این زمینه لازم می‌باشد.

علاوه بر این، مشکل دیگر در این رابطه، وجود چندین نسخه از mRNA مربوط به hTERT است که از طریق حذف و وصل متغیر در mRNA ایجاد می‌شوند. مشخص شده است که حداقل ۶ ایزوفرم مختلف از رونوشت‌های hTERT در اثر حذف و وصل متغیر به وجود می‌آیند (۵۰).

ج: مهار از طریق کاربرد quartet Gها و لیگاندهای G-quadruplex

قسمت ۳′overhang از مولکول DNA در انتهای کروموزوم‌های انسانی که غنی از نوکلئوتید گوانین است، دم‌های G (G tail) نامیده می‌شوند و به عنوان یک جزء مهم و ضروری به منظور طویل‌سازی تلومرها عمل می‌نمایند. تلومراز به این قسمت تک رشته‌ای آویزان نیاز دارد تا بتواند توالی‌های تکراری

تلومری را به ناحیه‌ی ′۳ انتهایی تلومرها اضافه نماید. در حضور کاتیون‌ها، دم‌های گوانینی قادرند ساختارهای DNA نامتعارفی تشکیل دهند که یکی از آن‌ها، ساختمان‌های چهارگانه‌ی G (G quadruplex) است که شامل ۴ نوکلئوتید گوانین (G quartet) است. لیگاندهای چهارگانه‌ی G، مولکول‌های سنتتیک کوچکی هستند که از طریق پایدار کردن این ساختارهای چهارگانه مانع از فعالیت تلومراز می‌گردند (۵۱). شواهدی وجود دارد مبنی بر این که لیگاندهای چهارگانه‌ی G نه تنها به عنوان مهار کننده‌های hTERT عمل می‌کنند، بلکه می‌توانند سبب از بین رفتن کلاهک انتهای تلومر شوند که عامل مهمی در شروع هر چه سریع‌تر آپوپتوز می‌باشد.

تلوم استاتین (Telomestatin) به عنوان اولین مهار کننده‌ی بالقوه‌ی تلومراز مطرح بود که ترکیبی مشتق از قارچ استرپتومایسس آنولاتوس (Streptomyces annulatus) است (۵۲). مثال دیگر از لیگاندهای چهارگانه‌ی G، ترکیب آکریدین BRACO۱۹ است که قابلیت ضد سرطانی آن در حیوانات آزمایشگاهی به اثبات رسیده است (۵۳). لیگاندهای جدید هم وجود دارند که مشتقات ایساین دیگوتن (Isaindigotone) می‌باشند و از ریشه‌ی گیاهی به نام ایساتیس ایندیگوتیکا (Isatisindigotica) به دست می‌آیند. گفته می‌شود که قابلیت گزینش انتخابی بالایی برای لیگاندهای چهارگانه‌ی G دارند که این امر یک مزیت مهم در کاهش عوارض جانبی است (۵۴).

د: مهار از طریق مهار کننده‌های نوکلئوزیدی

آنالوگ‌های نوکلئوزیدی مثل آزیدو داکسی تیمیدین (AZT یا ′۳–Azido–′۳–deoxythymidine) مولکول‌های کوچکی هستند که اثرات مهاری رونوشت‌برداری معکوس (Reverse transcriptase) دارند و به صورت موفقیت‌آمیزی بر ضد فعالیت تلومراز آزمایش شده‌اند. این آنالوگ‌ها مانع از شرکت dNTPها (Deoxyribonucleotide triphosphates) در ساختار DNA تازه سنتز شده در طول فعالیت نسخه‌برداری معکوس می‌شوند. در مطالعات اولیه، ترکیب AZT توانسته بود که قسمتی از فعالیت تلومرازی را متوقف نماید، اما سلول‌ها باز هم به مقدار کمی تکثیر می‌شدند. با این وجود، کاهشی گذرا و موقتی در طول تلومر قابل مشاهده بود (۵۵).

سایر آنالوگ‌های نوکلئوزیدی مثل مشتقات ۷ دآزو داکسی گوانوزین تری فسفات (AZGTP یا ۷–Deaza–′۲– deoxy guanosine–′۵–triphosphate) پتانسیل مهاری بالایی دارند. این عوامل ممکن است اثرات غیر مستقیمی روی آپوپتوز داشته باشند که شامل شرکت آنالوگ‌های نوکلئوزیدی در DNA میتوکندریایی است که می‌تواند باعث نقصان DNA میتوکندری و در نتیجه، تخریب میتوکندری شود. به این خاطر استفاده از مهار کننده‌های نوکلئوزیدی جهت کاربرد به عنوان مولکول‌های ضد سرطانی، نیازمند مطالعات بیشتر می‌باشد (۵۶).

ح: ایمونوتراپی

استفاده از روش‌های مبتنی بر واکسیناسیون بر علیه تومورها از آن جا ناشی می‌شود که به طور تقریبی تمامی تومورها آنتی ژن‌های ویژه‌ی توموری را بیان می‌کنند. در حقیقت، آنتی ژن‌های وابسته به تومور (Tumor-associated antigens یا TAA) در بسیاری از بدخیمی‌ها حضور دارند. به خاطر این که پاسخ‌های سلولی سیستم ایمنی در مقایسه با ایمنی

هومورال تأثیر عمیق‌تری روی سلول‌های توموری دارد، بنابراین کاربرد آنتی بادی‌ها جهت هدف قرار دادن آنتی ژن‌های ویژه‌ی توموری در درمان سرطان کمتر کارآمد می‌باشد. ایجاد لنفوسیت‌های T که به صورت اختصاصی به سلول‌های توموری حمله‌ور می‌شوند، به عنوان یک رویکرد نویدبخش ایمونوتراپی بر علیه انواع بدخیمی‌ها محسوب می‌شود (۵۷-۵۸).

مشخص شده است که hTERT به عنوان یک آنتی ژن محدود به کلاس ۱ از مولکول MHC (Major histocompatibility complex) عمل می‌کند و توسط لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک +CD۸ (Cluster of designation۸) شناسایی می‌شود (۵۹). پپتیدهای کوچک مرتبط با تلومراز مشتق شده از hTERT مثل پپتید ۱۵۴۰ و پپتید تلومرازی H۲b (Human Histone) به عنوان آنتی ژن‌های ویژه کاربرد دارند. از سلول‌های T سایتوتوکسیک فعال شده، در فرایندی به نام انتقال سلول به صورت انتخابی (ACT یا Adoptive cell transfer) استفاده می‌گردد. فرایند انتقال سلول به صورت انتخابی بر پایه‌ی ایمونیزاسیون موش نود (Nude) با آنتی ژن می‌باشد و مشخص شده است که رشد تومور با کاربرد این روش کاهش می‌یابد (۶۰-۶۱).

hTERT یک کاندید مهم در انجام ایمونوتراپی به این روش می‌باشد. به عنوان مثال Vonderheide و همکاران توانسته‌اند یک پپتید مشتق شده از hTERT متصل به HLA-A۲ را شناسایی کنند که قابلیت تولید لنفوسیت‌های T سایتوتوکسیک (CTL یا Cytotoxic T lymphocytes) را دارد و سبب نابودی سلول‌های توموری hTERT مثبت در شرایط in vitro در طیف وسیعی از تومورهای انسانی می‌شود. با توجه به این اطلاعات، ایمونوتراپی بر ضد تلومراز (زیر واحد hTERT آن) می‌تواند یک درمان مفید بر ضد تومورها و دارای کمترین عوارض جانبی باشد (۶۰).

خ: سایر مهار کننده‌های hTERT

مشخص شده است که مولکول‌های دیگری از جمله اغلب آنتی بیوتیک‌ها، قابلیت مهار hTERT را دارند که این امر هم می‌تواند روی فعالیت تلومراز اثرگذار باشد. در مطالعه‌ای Jiang و همکاران نشان دادند که ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی D۳ قابلیت القای آپوپتوز را در سلول‌های سرطان رحم داشته است. اگر چه آپوپتوز به علت سرکوب رونویسی مربوط به پاسخ ویتامین D (در ناحیه‌ی تنظیمی ژن hTERT) نبوده است، اما کاهش کمی در پایداری mRNA مربوط به hTERT مشاهده گردیده است. با این وجود، کاهش طول تلومر مشاهده نگردید. بنابراین مشخص نیست که کاهش بیان تلومراز سبب آپوپتوز شده است و یا این که تلومراز توسط مسیرهای غیر وابسته به تلومر القا شده است (۶۲).

داروی کاندید دیگر در این رابطه به نام MEN۱۰۷/۶ (از مشتقات Distamycin) می‌باشد که قابلیت مهار تلومراز را دارد. در شرایط in vitro ترکیب MEN۱۰۷/۶ می‌تواند سبب از بین بردن فعالیت تلومراز و مهار تکثیر سلول شود (۶۳).

نقش تلومراز در سلول‌های بنیادی سالم و سرطانی

تلومراز در سلول‌های بنیادی جنینی فعال است و باعث حفظ طول تلومر و طول عمر نامحدود می‌شود (۶۴). فعالیت تلومراز در اکثر سلول‌های بنیادی صرف نظر از توانایی تکثیر آن‌ها، محدود است؛ نتیجه این

که در سلول‌های بنیادی به جز سلول بنیادی جنینی، طول تلومر با افزایش سن تکثیر سلولی، کندتر از سلول‌های پیکری کاهش می‌یابد. سطح پایین فعالیت تلومراز در سلول‌های بنیادی بزرگسالان مانند سلول بنیادی خون‌ساز، پوست، کلیه، سلول‌های کریپت روده، سلول اپی تلیال غدد شیری پستان، سلول عصبی پانکراس و سلول بنیادی مزانشیمی دیده شده است. سرطان و پیری دو فرایند بیولوژیکی می‌باشند که تلومراز در هر دوی آن‌ها نقش پیچیده‌ای دارد و به عنوان اختلالات مربوط به سلول‌های بنیادی (Stem cell) شناخته می‌شوند.

الف) تلومراز در سلول‌های بنیادی خون‌ساز

طول تلومر با افزایش سن در سلول‌های بنیادی خون‌ساز مرتبط است (۹). فعالیت پایین تلومراز حاکی از طول کوتاه تلومر در این سلول‌ها می‌باشد و باعث ناتوانی در اضافه کردن توالی تلومر به انتهای کروموزوم این سلول‌ها است (۶۵). بیان تلومراز در سلول‌های بنیادی، متفاوت می‌باشد. تغییرات تلومر با سندرم میلیو دیسپلاستیک و همچنین لوسمی میلوییدی مزمن در ارتباط است (۶۶).

با کاهش طول تلومر در این سلول‌ها، مرگ سلولی فرا می‌رسد و باعث عدم تولید سلول‌های جدید خونی می‌شود و لوسمی تشدید می‌گردد. این اطلاعات نشان می‌دهد که توانایی تکثیر سلول‌های بنیادی خون‌ساز توسط کاهش طول تلومر محدود می‌گردد (۶۶). بنابراین طول تلومر شاخصی است که به صورت غیر مستقیم بر توانایی تکثیر و طول عمر سلول بنیادی دلالت دارد (۶۷). فعالیت و بیان تلومراز در پاسخ به سیتوکاین‌های القا کننده‌ی تکثیر سلولی و فعال شدن چرخه‌ی سلولی در پیش‌سازهای سلول خون‌ساز مغز استخوان افزایش می‌یابد؛ اما در نوع بالغ این سلول‌ها، بیان کاهش می‌یابد (۶۸).

فعالیت گذرای تلومراز در طی دوره‌ی تکثیر سلولی سریع در پیش سازهای مغز استخوان، می‌تواند از کاهش طول تلومر جلوگیری کند. در اکثر سلول‌های بالغ، بیان تلومراز بدون ارتباط با تکثیر، غیر فعال می‌شود (۶۹). این یافته‌ها نشان می‌دهد که یکی از نقش‌های مهم تلومراز در سلول‌های خون‌ساز مغز استخوان، جلوگیری از کوتاه شدن نابهنگام طول تلومر در طی دوره‌ی تکثیر سریع و فعال شدن چرخه‌ی سلولی است که مانع از دست رفتن عملکرد تلومر می‌شود. زمانی که افزایش چرخه‌ی سلولی و تکثیر نیاز است، (مانند شرایط عفونی و افزایش خون)، این نقش تلومراز بسیار حیاتی می‌باشد (۷۰).

ب) نقش تلومراز در سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی طول تلومر بلندی را حتی در یکصد پاساژ نشان می‌دهند؛ در حالی که افزایش بیان فعالیت تلومراز در آن‌ها مشاهده نشده است (۷۱). بنابراین شاید مکانیسم دیگری در افزایش طول تلومر دخیل باشد. تغییرات اپی ژنتیک مانند متیله شدن ضعیف، باعث حفظ طول تلومر در سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌شود (۷۲). از طرف دیگر، اگر فعالیت تلومراز را در سلول‌های مزانشیمی موش از بین ببریم، قابلیت تمایز آن‌ها حتی در پاساژ اول از بین می‌رود (۷۳) و اگر فعالیت تلومراز را در آن‌ها القا کنیم، باعث طول عمر نامحدود در آن‌ها می‌شود و توانایی تمایز آن‌ها را افزایش می‌دهد (۶۴). نتیجه این که حتی فعالیت محدود تلومراز در سلول‌های مزانشیمی برای حفظ قابلیت تکثیر و تمایز آن‌ها ضروری می‌باشد.

ج) نقش تلومراز در سلول‌های بنیادی جنینی

در سلول‌های بنیادی جنینی مقدار بیان تلومراز بالا می‌باشد. پس از تمایز، فعالیت تلومراز کاهش می‌یابد؛ به طوری که در سلول‌های بنیادی بالغین در بافت‌هایی که توانایی تکثیر دارند، بیان نمی‌شود (۷۴). کاهش بیان تلومراز در سلول‌های بنیادی جنینی تمایز یافته با تغییرات اپی ژنتیک مانند متیلاسیون و دمتیلاسون در ژن hTERT مرتبط می‌باشد (۷۵). از آن جایی که افزایش فعالیت تلومراز با افزایش توانایی تکثیر و تمایز در سلول‌های بنیادی جنینی با افزایش بیان hTERT دیده شده است، نتیجه می‌گیریم که بیان بالای ژن hTERT یا فعالیت بالای تلومراز، نشانگر سلول بنیادی تمایز نیافته است (۷۶).

د) نقش تلومراز در سرطان سلول‌های بنیادی

بدخیمی سلول‌های بنیادی خون‌ساز به عنوان سرطان سلول بنیادی شناخته شده است (۷۷). به عنوان مثال، در پیشرفت بیماری لوسمی لنفوسیتی و لوسمی میلوییدی، کوتاه شدن طول تلومر به عنوان یک عامل خطر در ناپایداری کروموزوم و تولید سلول بدخیم مطرح می‌باشد (۶۹). در دفاع از این فرضیه، بیماران مبتلا به دیس کراتوزیس مادرزادی نیز به علت نقص در تلومر دارای نارسایی سلول‌های بنیادی خون‌ساز می‌باشند (۶۹).

علاوه بر بدخیمی سلول بنیادی خون‌ساز، در سرطان پستان و تومورهای مغزی نیز کوتاه شدن تلومر نقش اساسی دارد. به خاطر دشواری در جداسازی سلول‌های بنیادی از تومورهای توپر، فعالیت تلومراز در این سلول‌ها مبهم می‌باشد. سرطان سلول‌های بنیادی ممکن است به خاطرکسب جهش در مکانیسم‌های افزایش طول تلومر به خصوص فعال‌سازی تلومراز باشد. مطالعات در زمینه‌ی تلومر و تلومراز در سلول‌های بنیادی منجر به درمان اساسی بر پایه‌ی علت زمینه‌ای در بیماری‌های مرتبط با سن و سرطان می‌شود (۷۸).

فعالیت تلومراز در تومورهای مغزی

در گلیوما که یک نوع از تومورهای مغزی می‌باشد، فعالیت تلومراز ثابت شده است. به خصوص بیان آنزیم رونوشت‌برداری معکوس هم در نوع بدخیم و هم در تومور خوش‌خیم بیان می‌شود. افزایش بیان این آنزیم با درجه‌ی بدخیمی رابطه‌ی مستقیم دارد (۷۹-۸۰).

در آستروسیتوما افزایش بیان تلومراز با درجه‌ی ۴ استروسیتوما (گلیوبلاستوما) رابطه دارد. این افزایش بیان، همچنین با افزایش تکثیر سلول و کاهش بقای بیماران و پیش‌آگهی ضعیف مطرح می‌باشد. فعالیت تلومراز و کاهش طول تلومر به عنوان یک بیونشانگر بدخیمی تومور مغزی مطرح می‌باشد؛ به طوری که در درجه‌ی پایین آستروسیتوما، کاهش طول تلومر و در نتیجه‌ی آن افزایش فعالیت تلومراز دیده نشده است (۸۱) که می‌تواند نشانه‌ی پیش‌آگهی خوب باشد (۸۱). البته در مطالعه‌ی دیگری نیز مطرح شده است که اگر چه فعالیت تلومراز به عنوان یک نشانگر بدخیمی به طور مشخص در درجه‌های بالا در تومورهای مغزی آستروسیتوما و منتژیوما شناخته شده است، اما شروع فعالیت آن در درجه‌های پایین تومورهای مغزی آستروسیتوما و منتژیوما است(۸۲).

همچنین در الیگودندروگلیوما، افزایش طول تلومر نسبت به بافت طبیعی و فعالیت تلومراز بالایی، نشان از تومور با درجه‌ی پایین متاستاز و کاهش فعایت

تلومراز دراین تومور دارد (۸۳، ۸۱). در منتژیوما که تومور خوش‌خیم پرده‌های منتژ می‌باشد، درجه‌ی متفاوتی از کاهش طول تلومر مشاهده می‌شود و فعالیت تلومراز در این نوع تومور متفاوت است (۸۴، ۳۶). در نوع آناپلاستیک و آتیپیکال بیشتر فعالیت تلومراز دیده می‌شود و به عنوان یک نشانگر تهاجمی مطرح می‌باشد (۸۵). در تومورهای نورواکتودرمال که درجه‌ی بالای بدخیمی را نشان می‌دهند (۸۱) نیز بیان تلومراز بررسی شده است که بیان آن بدون ارتباط با طول تلومر افزایش می‌یابد؛ در نتیجه می‌توان فعالیت تلومراز را به عنوان نشانگر بدخیمی در این نوع تومور مطرح نمود (۸۱).

در تومورهای غده‌ی هیپوفیز که اغلب خوش خیم می‌باشند، فعالیت تلومراز مشاهده نشده است؛ اما در بعضی موارد دیده شده است که این تومور می‌تواند عود کند و به آدنوکارسینومال تبدیل شود. در این صورت، طول تلومر کوتاه می‌شود و تلومراز فعال می‌گردد. پس فعالیت تلومراز به عنوان یک رفتار بدخیمی مطرح می‌باشد که می‌توان با آن درجه‌ی پیشرفت تومور را پیش‌گویی نمود (۸۶).

تومورهایی که در سرطان سلول‌های شوان مغزی در جمجمه یا نخاع رشد می‌کنند، از نوع خوش‌خیم و کپسول‌دار می‌باشند. این تومور به ندرت رفتار تهاجمی از خود نشان می‌دهد. در این شرایط، طول تلومر بلندی دارند که آن‌ها را از فعالیت تلومراز بی‌نیاز می‌کند (۸۸-۸۷). همان‌گونه که گفته شد، در برخی از مواقع با داشتن گستره‌ی وسیعی از تومورهای خوش‌خیم و بدخیم، تشخیص افتراقی و مورفولوژیک این دو نوع تومور از همدیگر مشکل است. بنابراین در این گونه از موارد، فعالیت تلومراز می‌تواند یک شاخص مؤثر در پی بردن به نوع بدخیمی به حساب آید. این معیار به خصوص در مورد تومورهای مغزی صادق است؛ زیرا در برخی از وضعیت‌های خاص در بین تومورهای مغزی، افتراق تومور خوش‌خیم از بدخیم مشکل می‌باشد. بنابراین، فعالیت تلومراز یک معیار مهم برای پی بردن به نوع بدخیمی در سلول‌های گلیومای مغزی است (۸۲، ۲۶).

به عنوان نتیجه‌ی نهایی می‌توان گفت که تلومراز یک آنزیم مهم در ورود سلول‌های سرطانی، به خصوص در تومورهای مغزی به حالت بدخیمی است و به همین دلیل، می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی پیش‌آگهی دهنده از پاسخ به درمان محسوب شود. با این حال، با پیشرفت روش‌های مولکولی و تکنولوژی‌های مهار از جمله با استفاده از ریبوزایم‌ها و siRNA، می‌توان فعالیت آن را سرکوب نمود.

References

1. Allshire RC, Dempster M, Hastie ND. Human telomeres contain at least three types of G-rich repeat distributed non-randomly. Nucleic Acids Res 1989; 17(12): 4611-27.
2. Buchkovich KJ, Greider CW. Telomerase regulation during entry into the cell cycle in normal human T cells. Mol Biol Cell 1996; 7(9): 1443-54.
3. Wang JC, Warner JK, Erdmann N, Lansdorp PM, Harrington L, Dick JE. Dissociation of telomerase activity and telomere length maintenance in primitive human hematopoietic cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2005; 102(40): 14398-403.
4. Hahn WC. Role of telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol 2003; 21(10): 2034-43.
5. Sedivy JM. Can ends justify the means?:

telomeres and the mechanisms of replicative senescence and immortalization in mammalian cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1998; 95(16): 9078-81.
6. Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework. Cell 2006; 127(4): 679-95.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell 2011; 144(5): 646-74.
8. Hsu CP, Ko JL, Shai SE, Lee LW. Modulation of telomere shelterin by TRF1 [corrected] and TRF2 interacts with telomerase to maintain the telomere length in non-small cell lung cancer. Lung Cancer 2007; 58(3): 310-6.
9. van SB, de LT. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. Nature 1997; 385(6618): 740-3.
10. Kheirollahi M. Telomere, regulation and tumorigenesis. In: Mehdipour P. Telomere terittory and cancer. New Yok, NY: Springer; 2013. p. 55-99.
11. van SB, Smogorzewska A, de LT. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. Cell 1998; 92(3): 401-13.
12. Ancelin K, Brunori M, Bauwens S, Koering CE, Brun C, Ricoul M, et al. Targeting assay to study the cis functions of human telomeric proteins: evidence for inhibition of telomerase by TRF1 and for activation of telomere degradation by TRF2. Mol Cell Biol 2002; 22(10): 3474-87.
13. La TD, de DO, Conti A, Angileri FF, Cardali S, Aguennouz M, et al. Expression of telomeric repeat binding factor-1 in astroglial brain tumors. Neurosurgery 2005; 56(4): 802-10.
14. Alonso MM, Fueyo J, Shay JW, Aldape KD, Jiang H, Lee OH, et al. Expression of transcription factor E2F1 and telomerase in glioblastomas: mechanistic linkage and prognostic significance. J Natl Cancer Inst 2005; 97(21): 1589-600.
15. Classon M, Harlow E. The retinoblastoma tumour suppressor in development and cancer. Nat Rev Cancer 2002; 2(12): 910-7.
16. Pierce AM, Schneider-Broussard R, Gimenez-Conti IB, Russell JL, Conti CJ, Johnson DG. E2F1 has both oncogenic and tumor-suppressive properties in a transgenic model. Mol Cell Biol 1999; 19(9): 6408-14.
17. DeGregori J, Leone G, Miron A, Jakoi L, Nevins JR. Distinct roles for E2F proteins in cell growth control and apoptosis. Proc Natl Acad Sci U S A 1997; 94(14): 7245-50.
18. Masutomi K, Yu EY, Khurts S, Ben-Porath I, Currier JL, Metz GB, et al. Telomerase maintains telomere structure in normal human cells. Cell 2003; 114(2): 241-53.
19. Won J, Chang S, Oh S, Kim TK. Small-molecule-based identification of dynamic assembly of E2F-pocket protein-histone deacetylase complex for telomerase regulation in human cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2004; 101(31): 11328-33.
20. Xiang H, Wang J, Mao Y, Liu M, Reddy VN, Li DW. Human telomerase accelerates growth of lens epithelial cells through regulation of the genes mediating RB/E2F pathway. Oncogene 2002; 21(23): 3784-91.
21. Zhao J, Bilsland A, Hoare SF, Keith WN. Involvement of NF-Y and Sp1 binding sequences in basal transcription of the human telomerase RNA gene. FEBS Lett 2003; 536(1-3): 111-9.
22. Langford LA, Piatyszek MA, Xu R, Schold SC, Jr., Shay JW. Telomerase activity in human brain tumours. Lancet 1995; 346(8985): 1267-8.
23. Hakin-Smith V, Jellinek DA, Levy D, Carroll T, Teo M, Timperley WR, et al. Alternative lengthening of telomeres and survival in patients with glioblastoma multiforme. Lancet 2003; 361(9360): 836-8.
24. Philippi C, Loretz B, Schaefer UF, Lehr CM. Telomerase as an emerging target to fight cancer--opportunities and challenges for nanomedicine. J Control Release 2010; 146(2): 228-40.
25. Shay JW, Wright WE. Telomerase therapeutics for cancer: challenges and new directions. Nat Rev Drug Discov 2006; 5(7): 577-84.
26. Hiyama E, Hiyama K. Telomerase as tumor marker. Cancer Lett 2003; 194(2): 221-33.
27. Dasi F, Lledo S, Garcia-Granero E, Ripoll R, Marugan M, Tormo M, et al. Real-time quantification in plasma of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) mRNA: a simple blood test to monitor disease in cancer patients. Lab Invest 2001; 81(5): 767-9.
28. Kanyama Y, Hibi K, Nakayama H, Kodera Y, Ito K, Akiyama S, et al. Detection of p16 promoter hypermethylation in serum of gastric cancer patients. Cancer Sci 2003; 94(5): 418-20.
29. Hiyama K, Ishioka S, Shay JW, Taooka Y, Maeda A, Isobe T, et al. Telomerase activity as a novel marker of lung cancer and immune-associated lung diseases. Int J Mol Med 1998; 1(3): 545-9.
30. Yi X, White DM, Aisner DL, Baur JA, Wright WE, Shay JW. An alternate splicing variant of the human telomerase catalytic subunit inhibits telomerase activity. Neoplasia 2000; 2(5): 433-40.
31. Bieche I, Nogues C, Paradis V, Olivi M, Bedossa P, Lidereau R, et al. Quantitation of hTERT gene expression in sporadic breast tumors with a real-time reverse transcription-

polymerase chain reaction assay. Clin Cancer Res 2000; 6(2): 452-9.
32. Lord RV, Salonga D, Danenberg KD, Peters JH, DeMeester TR, Park JM, et al. Telomerase reverse transcriptase expression is increased early in the Barrett's metaplasia, dysplasia, adenocarcinoma sequence. J Gastrointest Surg 2000; 4(2): 135-42.
33. Kotoula V, Hytiroglou P, Pyrpasopoulou A, Saxena R, Thung SN, Papadimitriou CS. Expression of human telomerase reverse transcriptase in regenerative and precancerous lesions of cirrhotic livers. Liver 2002; 22(1): 57-69.
34. Greenberg RA, O'Hagan RC, Deng H, Xiao Q, Hann SR, Adams RR, et al. Telomerase reverse transcriptase gene is a direct target of c-Myc but is not functionally equivalent in cellular transformation. Oncogene 1999; 18(5): 1219-26.
35. Yi X, Shay JW, Wright WE. Quantitation of telomerase components and hTERT mRNA splicing patterns in immortal human cells. Nucleic Acids Res 2001; 29(23): 4818-25.
36. Harada K, Kurisu K, Tahara H, Tahara E, Ide T, Tahara E. Telomerase activity in primary and secondary glioblastomas multiforme as a novel molecular tumor marker. J Neurosurg 2000; 93(4): 618-25.
37. Kleinschmidt-Demasters BK, Evans LC, Bobak JB, Lopez-Uribe D, Hopper D, Shroyer AL, et al. Quantitative telomerase expression in glioblastomas shows regional variation and down-regulation with therapy but no correlation with patient outcome. Hum Pathol 2000; 31(8): 905-13.
38. Sugita Y, Nakashima A, Kato S, Sakata K, Morimatsu M, Shigemori M. Telomerase activity in gliomas with the use of non-radioisotopic and semi-quantitative procedure for terminal repeat amplification protocol. Oncol Rep 2000; 7(5): 1087-92.
39. Krams M, Hero B, Berthold F, Parwaresch R, Harms D, Rudolph P. Full-length telomerase reverse transcriptase messenger RNA is an independent prognostic factor in neuroblastoma. Am J Pathol 2003; 162(3): 1019-26.
40. Shay JW, Keith WN. Targeting telomerase for cancer therapeutics. Br J Cancer 2008; 98(4): 677-83.
41. Shervington A, Pawar V, Menon S, Thakkar D, Patel R. The sensitization of glioma cells to cisplatin and tamoxifen by the use of catechin. Mol Biol Rep 2009; 36(5): 1181-6.
42. Ito H, Aoki H, Kuhnel F, Kondo Y, Kubicka S, Wirth T, et al. Autophagic cell death of malignant glioma cells induced by a conditionally replicating adenovirus. J Natl Cancer Inst 2006; 98(9): 625-36.
43. Patel R, Shervington L, Lea R, Shervington A. Epigenetic silencing of telomerase and a non-alkylating agent as a novel therapeutic approach for glioma. Brain Res 2008; 1188: 173-81.
44. Shervington A, Patel R. Silencing DNA methyltransferase (DNMT) enhances glioma chemosensitivity. Oligonucleotides 2008; 18(4): 365-74.
45. Tabori U, Wong V, Ma J, Shago M, Alon N, Rutka J, et al. Telomere maintenance and dysfunction predict recurrence in paediatric ependymoma. Br J Cancer 2008; 99(7): 1129-35.
46. Zhang Z, Yang X, Zhang Y, Zeng B, Wang S, Zhu T, et al. Delivery of telomerase reverse transcriptase small interfering RNA in complex with positively charged single-walled carbon nanotubes suppresses tumor growth. Clin Cancer Res 2006; 12(16): 4933-9.
47. Xia Y, Lin RX, Zheng SJ, Yang Y, Bo XC, Zhu DY, et al. Effective siRNA targets screening for human telomerase reverse transcriptase. World J Gastroenterol 2005; 11(16): 2497-501.
48. Ludwig A, Saretzki G, Holm PS, Tiemann F, Lorenz M, Emrich T, et al. Ribozyme cleavage of telomerase mRNA sensitizes breast epithelial cells to inhibitors of topoisomerase. Cancer Res 2001; 61(7): 3053-61.
49. Yokoyama Y, Takahashi Y, Shinohara A, Wan X, Takahashi S, Niwa K, et al. The 5'-end of hTERT mRNA is a good target for hammerhead ribozyme to suppress telomerase activity. Biochem Biophys Res Commun 2000; 273(1): 316-21.
50. Kyo S, Inoue M. Complex regulatory mechanisms of telomerase activity in normal and cancer cells: how can we apply them for cancer therapy? Oncogene 2002; 21(4): 688-97.
51. De CA, Cristofari G, Reichenbach P, De LE, Monchaud D, Teulade-Fichou MP, et al. Reevaluation of telomerase inhibition by quadruplex ligands and their mechanisms of action. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(44): 17347-52.
52. Tan JH, Gu LQ, Wu JY. Design of selective G-quadruplex ligands as potential anticancer agents. Mini Rev Med Chem 2008; 8(11): 1163-78.
53. Burger AM, Dai F, Schultes CM, Reszka AP, Moore MJ, Double JA, et al. The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function. Cancer Res 2005; 65(4): 1489-96.
54. Tan JH, Ou TM, Hou JQ, Lu YJ, Huang SL, Luo HB, et al. Isaindigotone derivatives: a new class of highly selective ligands for telomeric G-quadruplex DNA. J Med Chem 2009; 52(9):

2825-35.
55. Hahn WC, Stewart SA, Brooks MW, York SG, Eaton E, Kurachi A, et al. Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. Nat Med 1999; 5(10): 1164-70.
56. Fletcher TM, Cathers BE, Ravikumar KS, Mamiya BM, Kerwin SM. Inhibition of human telomerase by 7-deaza-2'-deoxyguanosine nucleoside triphosphate analogs: potent inhibition by 6-thio-7-deaza-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate. Bioorg Chem 2001; 29(1): 36-55.
57. Rosenberg SA. Cancer vaccines based on the identification of genes encoding cancer regression antigens. Immunol Today 1997; 18(4): 175-82.
58. Boon T, van der Bruggen P. Human tumor antigens recognized by T lymphocytes. J Exp Med 1996; 183(3): 725-9.
59. Rosenberg SA. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. Nature 2001; 411(6835): 380-4.
60. Vonderheide RH, Hahn WC, Schultze JL, Nadler LM. The telomerase catalytic subunit is a widely expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. Immunity 1999; 10(6): 673-9.
61. Schmidt J, Ryschich E, Sievers E, Schmidt-Wolf IG, Buchler MW, Marten A. Telomerase-specific T-cells kill pancreatic tumor cells in vitro and in vivo. Cancer 2006; 106(4): 759-64.
62. Jiang F, Bao J, Li P, Nicosia SV, Bai W. Induction of ovarian cancer cell apoptosis by 1,25-dihydroxyvitamin D3 through the down-regulation of telomerase. J Biol Chem 2004; 279(51): 53213-21.
63. Zaffaroni N, Lualdi S, Villa R, Bellarosa D, Cermele C, Felicetti P, et al. Inhibition of telomerase activity by a distamycin derivative: effects on cell proliferation and induction of apoptosis in human cancer cells. Eur J Cancer 2002; 38(13): 1792-801.
64. Moriscot C, de FF, Richard MJ, Marchand M, Savatier P, Bosco D, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro. Stem Cells 2005; 23(4): 594-603.
65. Morrison SJ, Prowse KR, Ho P, Weissman IL. Telomerase activity in hematopoietic cells is associated with self-renewal potential. Immunity 1996; 5(3): 207-16.
66. Ohyashiki JH, Sashida G, Tauchi T, Ohyashiki K. Telomeres and telomerase in hematologic neoplasia. Oncogene 2002; 21(4): 680-7.
67. Simonsen JL, Rosada C, Serakinci N, Justesen J, Stenderup K, Rattan SI, et al. Telomerase expression extends the proliferative life-span and maintains the osteogenic potential of human bone marrow stromal cells. Nat Biotechnol 2002; 20(6): 592-6.
68. Sugihara M, Ohshima K, Nakamura H, Suzumiya J, Nakayama Y, Kanda M, et al. Decreased expression of telomerase-associated RNAs in the proliferation of stem cells in comparison with continuous expression in malignant tumors. Int J Oncol 1999; 15(6): 1075-80.
69. 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.
70. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, et al. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice. Nature 1994; 367(6464): 645-8.
71. Liu L, DiGirolamo CM, Navarro PA, Blasco MA, Keefe DL. Telomerase deficiency impairs differentiation of mesenchymal stem cells. Exp Cell Res 2004; 294(1): 1-8.
72. Meerdo LN, Reed WA, White KL. Telomere-to-centromere ratio of bovine clones, embryos, gametes, fetal cells, and adult cells. Cloning Stem Cells 2005; 7(1): 62-73.
73. Meirelles LS, Nardi NB. Murine marrow-derived mesenchymal stem cell: isolation, in vitro expansion, and characterization. Br J Haematol 2003; 123(4): 702-11.
74. Sarin KY, Cheung P, Gilison D, Lee E, Tennen RI, Wang E, et al. Conditional telomerase induction causes proliferation of hair follicle stem cells. Nature 2005; 436(7053): 1048-52.
75. Wright LS, Prowse KR, Wallace K, Linskens MH, Svendsen CN. Human progenitor cells isolated from the developing cortex undergo decreased neurogenesis and eventual senescence following expansion in vitro. Exp Cell Res 2006; 312(11): 2107-20.
76. Vaziri H, Schachter F, Uchida I, Wei L, Zhu X, Effros R, et al. Loss of telomeric DNA during aging of normal and trisomy 21 human lymphocytes. Am J Hum Genet 1993; 52(4): 661-7.
77. Wynn RF, Cross MA, Hatton C, Will AM, Lashford LS, Dexter TM, et al. Accelerated telomere shortening in young recipients of allogeneic bone-marrow transplants. Lancet 1998; 351(9097): 178-81.
78. Hao LY, Armanios M, Strong MA, Karim B, Feldser DM, Huso D, et al. Short telomeres, even in the presence of telomerase, limit tissue renewal capacity. Cell 2005; 123(6): 1121-31.

79. Shervington A, Patel R. Differential hTERT mRNA processing between young and older glioma patients. FEBS Lett 2008; 582(12): 1707-10.
80. Poremba C, Heine B, Diallo R, Heinecke A, Wai D, Schaefer KL, et al. Telomerase as a prognostic marker in breast cancer: high-throughput tissue microarray analysis of hTERT and hTR. J Pathol 2002; 198(2): 181-9.
81. La TD, Conti A, Aguennouz MH, De Pasquale MG, Romeo S, Angileri FF, et al. Telomere length modulation in human astroglial brain tumors. PLoS One 2013; 8(5): e64296.
82. Kheirollahi M, Mehrazin M, Kamalian N, Mohammadi-asl J, Mehdipour P. Telomerase activity in human brain tumors: astrocytoma and meningioma. Cell Mol Neurobiol 2013; 33(4): 569-74.
83. 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.
84. Kheirollahi M, Mehrazin M, Kamalian N, Mehdipour P. Alterations of telomere length in human brain tumors. Med Oncol 2011; 28(3): 864-70.
85. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. Lancet 2003; 361(9355): 393-5.
86. Londono-Vallejo JA, Der-Sarkissian H, Cazes L, Bacchetti S, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres is characterized by high rates of telomeric exchange. Cancer Res 2004; 64(7): 2324-7.
87. Chen HJ, Cho CL, Liang CL, Chen L, Chang HW, Lu K, et al. Differential telomerase expression and telomere length in primary intracranial tumors. Chang Gung Med J 2001; 24(6): 352-60.
88. Chen HJ, Cho CL, Liang CL, Lu K, Lin JW. Implication of telomere length as a proliferation-associated marker in schwannomas. J Surg Oncol 2002; 81(2): 93-100.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 20.11.2013
Vol. 31, No. 267, 1st Week, March 2014
Accepted: 25.01.2014

Telomerase and Therapy of Brain Tumors

Majid Kheirollahi PhD[1], Roya Khajeh-Goodari[2], Reza Ghavimi[2]

Review Article

Abstract

Telomere is a special structure protects the ends of human chromosomes to degrade. Telomere becomes shorter after each cycle of cell division. However, telomerase is an enzyme activated in cancer cells and germ lines rebuild telomere. However, apparently there is no correlation between telomere length and telomerase activity. The enzymatic activity of telomerase correlates with tumor malignancy. In general, telomerase activity and histological grade are too closely correlated and the results of studies indicate that telomerase activity may be an important malignancy marker in brain tumors. As a conclusion, we can say that activity of telomerase should be considered as a prognostic biological marker of response to treatment.

Keywords: Telomerase, Therapy, Brain tumors

Citation: Kheirollahi M, Khajeh Goodari R, Ghavimi R. **Telomerase and Therapy of Brain Tumors.** J Isfahan Med Sch 2014; 31(267): 2193-208

1- Assistant Professor, Pediatrics Inherited Diseases Research Center AND Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- MSc Student, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Majid Kheirollahi PhD, Email: mkheirollahi@med.mui.ac.ir