الايـة

بسم الله الرحمن الرحيم

قال تعالى :

اللّهُ نُورُ السّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ ۚ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَاةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ ۖ الْمِصْبَاحُ فِي زُجَاجَةٍ ۖ الزُّجَاجَةُ كَأَنّهَا كَوْكَبٌ دُرّيٌّ يُوقَدُ مِن شَجَرَةٍ مُبَارَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيّةٍ وَلَا غَرْبِيّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ ۚ نُورٌ عَلَىٰ نُورٍ ۗ يَهْدِي اللّهُ لِنُورِهِ مَن يَشَاءُ ۚ وَيَضْرِبُ اللّهُ الْأَمْثَالَ لِلنّاسِ ۗ وَاللّهُ بِكُلّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٣٥﴾

صدق الله العظيم

سورة النور الآية 35

Dedication

TO MY PARENTS

TO MY FAMILY

TO MY FRIENDS

TO MY TEATCHERS

I DEDICATE THIS WORK

Tasneem

Acknowledgment

My grateful thank for Allah who guided me to the straightway in my life

Then many thanks and appreciation is extended to my supervisor D. Ibrahim Khider for endless efforts to make this work come into reality.

Moreover the help and support provided by the staff members of hematology department atnealain University and staff members of central laboratory is grateful acknowledged.

Thanks also to Thowiba alhaj .

Finally thanks to all and best regards.

Abstract

Inter individual differences in susceptibility to hematologic malignancies may be mediated in part through polymorphic variability in the bioactivation and detoxification of carcinogens. The glutathione S–transferases (GSTs) have been implicated as susceptibility genes in this context for a number of Cancers.

This is a Prospective case control study conducted in central research laboratory to study the association between GSTM1 null gene polymorphism and patients of chronic lymphocytic leukemia in Khartoum State in the period from February 2016 to January 2017.

forty samples were collected from newly diagnosed patients of chronic lymphocytic leukemia attending to radiation and isotype center Khartoum _Sudan, and 30 samples were collected from normal individuals as control group, all samples were collected in (2.5) EDTA anticoagulant. then DNA was extracted by using salting out method.And polymorphism analysis for GSTM1 was determined using Allele specific polymerase chain reaction (PCR). The results were analyzed by statistical package for social sciences (SPSS) computer program.

The results showed that (15%) of the cases have GSTM1 null genotype and (85%) of them have normal GSTM1genotype, (56.6%) of the control have GSTM1 null and (43.4%) have normal GSTM1 genotype. The association between GSTM1 null genotype and CLL is statically insignificant.

The mean of hematological parameters (TWBCs count, Hb, MCV, MCH, MCHC, PCV, TRBCs count,blast percentage, lymphocyte percentage, neutrophil percentage, eosinophil percentage, monocyte percentage, platelet percentage) in GSTM1 null cases was insignificant associated with CLL. Thestudy conducted that there are no association between GSTM1 null genotype and CLL.

مستخلص البحث

وجود اختلاف داخلي بين الافراد للقابليه للاصابه للاورام الدمويه قد يكون نتيجه للاختلاف في النشاط الاحيائي و تثبيط المسرطنات, وجد ان انزيمات الجلاتثيون لديها هذه القابليه في عدد من السرطانات.
هذه دراسة مقارنة حالة ضابطة تحليلية اجريت في ولاية الخرطوم في الفترة ما بين فبراير الي يناير2017 وذلك لفحص العلاقة بين الانزيم المحول للجلاتثيون ميو1 في مرضى سرطان الدم الابيض الليمفاوي المزمن عند المرضى المشخصين حديثا بالسودان. اختير عدد اربعون مريضا شخصوا بسرطان الدم الابيض الليمفاوي والذين حضروا للمعهد, القومي للسرطان بولاية الخرطوم وثلاثون متطوعين اصحاء تم اختيارهم كعينة ضابطة.جمعت 3 مل من الدم الوريدي من كل متبرع في حاوية مضاد تجلط يحتوي علي ايثايلين ثنائي الامين رباعي حامض الاستيك. استخرج الحمض النووي منزوع الاوكسجين للتحليل الجزئي عن طريق الترسيب بواسطة الملح. تغيير الشكلياء الجين للانزيم المحول للجلاتثيون حدد باستخدام اليل البلمرة المتسلسلة. حللت النتائج باستخدام الحزم الاحصائية للعلوم الاجتماعية المحوسب.
كانت نسبة تغير الشكلياء لدي غياب الانزيم المحول للجلاتثيون ميو1 (8.6%)عند المرضى المصابين بسرطان الدم الليمفاوي المزمن بينما كانت في العينات الضابطة (24.3%)وكانت ليست لها دلالة احصائية وصفية.
كما لم تكن هنالك دلاله احصائيه لوجود علاقه بين المعامل الدموي (حساب كريات الدم البيضاء,الهموقلوبين,الحجم الكريوي الوسطي,هيموقلوبين الكريه الوسطى,مختصر التركيز الوسطي لهيموقلوبين الكريه,مختصر حجم الكريات المكدوسه, حساب كريات الدم الحمراء, نسبة الخلايا البدائيه, نسبة الخلايا الليمفاويه, نسبة خلايا العدله, نسبة الخلايا اليوزينيه, نسبة الخلايا الوحيده, نسبة الصفائح الدمويه) عند المرضى المصابين بسرطان الدم الليمفاوي المزمن وغياب الانزيم المحول للجلاتثيون ميو1.
كما اظهرت النتائج عدم وجود علاقة بين غياب الانزيم بين الجنسين , وايضا اوضحت الدراسة ان غياب الانزيم المحول للجلاتثيون ميو1 لا يمثل عامل خطورة لتطور سرطان الدم الابيض الليمفاوي المزمن عند المرضى المشخصين حديثا.

CONTENTS

Subject		Page
الآية		I
Dedication		II
Acknowledgement		III
Abstract		IV
مستخلص البحث		V
Contents		VI
List of tables		IX
List of figures		X
Abbreviation		XI
Chapter one Introduction and Literature review		
1.1	Introduction	1
1.2	Literature review	1
1.2.1	Classification of leukemia	1
1.2.1.1	Chronic lymphocytic leukemia	2
1.2.1.1.1	Introduction	2
1.2.1.1.2	Epidemiology	3
1.2.1.1.3	Etiology and pathology	4
1.2.1.1.4	Clinical Features	4
1.2.1.1.5	The Laboratory Features of Chronic Lymphocytic Leukemia	4
1.2.1.1.6	Complications	5
1.2.1.1.7	Factors Associated with a Poor Prognosis	5

1.2.1.1.8	Staging	8
1.2.1.1.9	Treatment	9
1.2.1.1.10	Supportive care	10
1.2.2	Glutathione S Transferase Mu	10
1.3	Previous Studies	12
Chapter Two Rationale and Objectives		
2.1	Rationale	13
2.2	Objectives	14
2.2.1	General Objective	14
2.2.2	Specific Objectives	14
Chapter Three Materials and Methods		
3.1	Study design	15
3.2	study population	15
3.3	Inclusions criteria	15
3.4	Exclusion criteria	15
3.5	Ethical consideration	15
3.6	Data Collection	15
3.7	Data presentation	15
3.8	Blood collection	15
3.9	Methodology	15
3.9.1	Hematological parameters	16
3.9.2	DNA Extraction by salting out method	16
3.9.3	Determination of DNA quality and purity	17
3.9.4	DNA storage	17

3.9.5	Molecular Analysis	17
3.9.5.1	Detection of GSTMI null genotype	17
3.9.5.2	Detection of PCR product	18
3.10	Interpretation of result	18
3.11	Data Analysis	18
Chapter Four The Results		
4.1	Demographic data	19
4.2	Comparisons of hematological findings in GSTM1 null group and normal GSTM1group	21
4.3	Correlation of CLL and GSTM1 null polymorphism	25
4.4	Correlation between gender and GSTM1 polymorphism	25
Chapter Five Discussion, Conclusion and Recommendations		
5.1	Discussion	26
5.2	Conclusions	28
5.3	Recommendations	29
References and Appendixes		
References		30
Appendixe1: Questionnaire		32
Appendix 2 : Reagent		33
Appendix 3: Images		34

List of Tables

Table No	Title	Page
1.1	Classification of leukemia	1
1.2	The Rai and modified Rai staging	8
1.3	Binet Staging System for CLL	9
3.1	The primers sequence	17
3.2	PCR mixture content	17
3.3	PCR protocol	18
4.1	GSTM1 genotype among case and control subjects	20
4.3	Comparisons of hematological findings in GSTM1 null group and normal GSTM1 group	24
4.4	Correlation between gender and GSTM1 polymorphism	25

List of Figures

Figure No	Title	Page
1.1	CLL in blood smear	7
4.1	Gender distribution among the samples	19
4.2	GSTM1 genotype among case and control subjects	21

Abbreviation

ALL Acute Lymphoblastic Leukemia

CAD Coronary Artery Disease

CBC Complete Blood Count

CDCluster of Differentiation

CLLChronic Lymphoblastic Leukemia

DNADeoxyribo Nucleic Acid

EDTAEthylene Diamine Tetra Acetic

GSTGlutathione S Transferase

GSTAGlutathione S TransferaseAlpha

GSTKGlutathione S Transferase Kappa

GSTMGlutathione S Transferase Mu

GSTOGlutathione S Transferase Omega

GSTPGlutathione S Transferase Pi

GSTSGlutathione S Transferase Sigma

GSTTGlutathione S Transferase Theta

GSTZGlutathione S Transferase Zeta

Hb Hemoglobin

HCL Hairy Cell Leukemia

MCH Mean Cell Hemoglobin

MCHC Mean Cell Hemoglobin Concentration

MCV Mean Cell Volume

Mg Magnesium

NHLs Non Hodgkin lymphomas

OR Odds Ratio

PCV Packed Cell Volume

PCR Polymerase Chain Reaction

RCLBRed Cell Lysis Buffer

RICKRadiation and Isotype Center Khartoum

RNA Ribo Nucleic Acid

SDStandard Deviation

SDS Sodium Dodecyl Sulfate

SLL Small lymphocytic lymphoma

SPSSStatistical Package for Social Sciences

t Translocation

TETris EDTA

TRBCs Total Red Blood Cells

TWBCsTotal White Blood Cells

WBCWhite Blood Cells

WCLBWhite Cell Lysis Buffer

WHO World Health Organization

,