بسم الله الرحمن الرحيم

شبكة المعلومـــــات الجامعية

التوثيق الالكتروني والميكروفيلم

شبكة المعلومات الجامعية

جامعة عين شمس

التوثيق الالكتروني والميكروفيلم

﴿ قـــسـم ﴾

نقسم بالله العظيم أن المادة التي تم توثيقها وتسجيلها
علي هذه الأفلام قد اعدت دون آية تغيرات

يجب أن

تحفظ هذه الأفلام بعيداً عن الغبار

في درجة حرارة من 15 – 20 مئوية ورطوبة نسبية من 20-40 %

To be kept away from dust in dry cool place of
15 – 25c and relative humidity 20-40 %

بعض الوثائق الأصلية تالفة

بالرسالة صفحات

لم ترد بالأصـــل

Telomerase Activity in Normal Leukocytes and Hematological Malignancies

AN ESSAY

Submitted for Partial Fulfillment of
the Master Degree in
CLINICAL & CHEMICAL PATHOLOGY

By:

Hanan Abd El-Majeed Mohamed
M.B., B.Ch.

Supervisors

Prof. Dr. **Taghreed Mohamed Gaafar**
Professor of Clinical and Chemical Pathology,
Faculty of Medicine,
Cairo University.

Dr. **Shereen Mahmoud Shawky**
Lecturer of Clinical and Chemical Pathology,
Faculty of Medicine,
Cairo University.

Faculty of Medicine
Cairo University
2001

B ٧٢٧١

Acknowledgement

I wish to thank cordially and express supreme gratitude to Prof. Dr. **Taghreed Mohamed Gaafar,** *Professor of Clinical and Chemical Pathology, Faculty of Medicine, Cairo University for her kind supervision, continuous effort and constant encouragement to me in this work.*

I would like to express my deep appreciation and profound gratitude to Dr. **Shereen Mahmoud Shawky,** *Lecturer of Clinical and Chemical Pathology, Faculty of Medicine, Cairo University for her kind assistance and continuous guidance throughout the conduction of this work.*

جامعة القاهرة / كلية الطب
القصر العيني

محضر

أجتماع لجنة الحكم على الرسالة المقدمة من
الطبيب / هناء عبد المجيد محمد عمر
توطئة للحصول على درجة الماجستير / الدكتوراة
في الباثولوجيا الاكلينيكية والكيميائية

تحت عنوان : باللغة الانجليزية : Telomerase activity in normal lymphocytes and hematological malignancies

: باللغة العربية : نشاط انزيم التيلوميريز في خلايا الدم الطبيعية وسرطانات الدم

بناء على موافقة السيد الأستاذ الدكتور رئيس الجامعة بتاريخ ٧ / ٨ / ٢٠٠١ تم تشكيل لجنة الفحص والمناقشة للرسالة المذكورة أعلاه على النحو التالي :-

١) أ.د. جعفر محمد جعفر أستاذ الباثولوجيا الاكلينيكية - طب القصر العيني (عن المشرفين)
٢) أ.د. أصيل عبد الستار هيرمز أستاذ الباثولوجيا الاكلينيكية - طب القصر العيني (ممتحن داخلي)
٣) أ.د. الهام عبد المطلب زيدان أستاذ الباثولوجيا الاكلينيكية - طب الأزهر (ممتحن خارجي)

بعد فحص الرسالة بواسطة كل عضو منفردا وكتابة تقارير منفردة لكل منهم إنعقدت اللجنة مجتمعة في يوم الأحد بتاريخ ٢٠ / ١٢ / ٢٠٠١ بقسم مركز تطوير التعليم الطبي مدرج علم الباثولوجيا بكلية الطب - جامعة القاهرة وذلك لمناقشة الطالب في علنية في موضوع الرسالة والنتائج التي توصل إليها وكذلك الأسس العلمية التي قام عليها البحث .

قرار اللجنة :
الموافقة على رسالة الماجستير المقدمة من الطبيب / هناء عبد المجيد محمد عمر والمنح لها بعد أداء المقاسة الجزئية في علم الباثولوجيا الاكلينيكية والكيميائية

توقيعات أعضاء اللجنة :-

المشرف الممتحن	الممتحن الداخلي	الممتحن الخارجي
.....	.....	.....

(عصام)

Abstract

The end of chromosome in higher eukaryote are termed telomere. Telomeric DNA consists of tandemly repeated DNA sequences which are gradually lost with age and with replication in vitro .
Telomerase is a specialized reverse transcriptase that catalyzes elongation of the telomeric tandem repeat, TTAGGG, by addition of this sequence to the ends of existing telomeres.
Telomerase is expressed in embryonic cells and in adult germline cells, but it is undetectable in normal somatic cells except for proliferative cells of renewable tissues.
It has been discovered that there is an association between telomerase activity and cell proliferation because terminal differentiation is followed by down regulation of telomerase activity.
Also, there are recent observations that cellular life-span can be extended by forced expression of telomerase, this might provide a route to delay some of the aged related changes ascribable to replicative senescence.
The normal hemopoietic system harbors telomerase competent cells with the capacity to upregulate telomerase activity to a notable levels. High telomerase activity is found in progenitor stem cells and activated lymphocytes in vitro as well as in vivo, indicating that cells with high growth requirement can upregulate telomerase activity.

Also, telomerase activity can be detected in most primary human specimens and tumor derived cell lines. The activation of telomerase in malignant cancers seems to be an important step in tumorigenesis, whereby the cell gain the ability of indefinite proliferation and become immortal.
In malignant hematopoietic disorders telomerase activity is a general finding but with a different levels. The highest telomerase expression has been shown in acute leukemias and non-Hodgkin's lymphomas also the level of activity is parallel to tumor progression, also the mean TRF length may disclose how far the disease has progressed and may be a marker for disease severity.
Thus, it is becoming generally accepted that telomerase could be a reliable new marker for detection of cancers. Moreover, a novel therapy for tumor expression has been developed using telomerase inhibitors, with the hope that the lack of telomerase expression in normal somatic cells would results in highly specific treatment with fewer side effects than conventional chemotherapy

Key Word:

Telomeres
Telomerase Enzyme and Normal Hematopoietic Cells
Telomerase and Malignancy
Telomerase Activity in Hematological Malignancies . . . . . .
Telomerase Assays

Contents

Page

★ **Introduction and Aim of the Work** 1

★ **Telomeres** . . . . .

- Telomere ends 4
- Telomere loss and cellular senescence 8

★ **Telomerase Enzyme and Normal Hematopoietic Cells** . . . . .

- Telomerase enzyme 12
- Structure of telomerase 13
- Telomerase regulation 16
- Telomerase as a gene therapy for ageing 18
- Telomerase regulation and telomere stability in primitive hematopoietic cells 20
- Telomerase activation during human B-cell differentiation 24
- Telomerase expression in human T-cell development and activation 27

★ **Telomerase and Malignancy** . . . . .

- How might telomerase contribute to cancer? 31
- Telomerase in early detection of cancer 34
- Telomerase as a target for anticancer therapy 40

★ **Telomerase Activity in Hematological Malignancies** . . . . .

- Acute myeloid leukemia 43
- Chronic myeloid leukemia 46
- Acute lymphoid leukemia 48
- Chronic lymphoid leukemia 50
- Myelodysplastic syndrome 53
- Anti-telomerase therapy for leukemias 55
- Telomerase activity in Hodgkin's-non Hodgkin's lymphoma and other lymphoproliferative disorders 56

Page

★ **Telomerase Assays** . . . . . .

- Telomere length as an indicator measure of telomerase activity 61
- Original telomere repeat amplification protocol (TRAP) . . 63
- TRAP with an internal standard 66
- TRAP-SPA assay 67
- Quantification method 68
- In situ PCR assay 69
- TRAP-ELISA assay 70
- Telomerase quantification by scintillation counting 71
- Polymerase chain reaction based radioactive telomerase assay 71
- Combined electrophoretic-ELISA TRAP assay 72
- Cellular immunofluorescence based flowcytometry assay . . 73
- TRAP assay without shortening or lengthening of telomerase product 74
- RTQ-TRAP system 74

★ **Summary** 76

★ **References** 79