



تنظيم الجينوم اللاوراثي للفيتامينات أ و ج و هـ لتعديل النشاط الجيني لربائط NKG2D في سرطان الكبد

إعداد

محمد نصر الله

بحث مقدم لنيل درجة الماجستير في العلوم
(الكيمياء الحيوية)

إشراف

د. هاني بن محمد زبير شودي

استاذ مشارك

الكيمياء الحيوية، كلية العلوم، جامعة الملك عبدالعزيز

د. محمد عمران خان

استاذ مشارك

الكيمياء الحيوية، كلية العلوم، جامعة الملك عبدالعزيز

كلية العلوم

جامعة الملك عبدالعزيز

جده - المملكة العربية السعودية

م - 2019 هـ 1440

المستخلص

يحل سرطان الكبد خامس أكثر أنواع السرطان شيوعاً بين الرجال والنساء على مستوى العالم. في حين الوفيات العالمية الناجمة عن السرطان، يعتبر سرطان الكبد هو السبب الثالث الأكثر شيوعاً بسبب تشخيصه المتأخر. حيث يبلغ معدل البقاء الإجمالي خلال خمس سنوات أقل من ١٥%. وافقت هيئة الغذاء والدواء الأمريكية على ثلاثة أدوية فقط لعلاج سرطان الكبد. ولكن هذه الأدوية توفر فوائد بسيطة فقط لمرضى وتتسبب في آثار جانبية ذات صلة بالعلاج. وبالتالي، لا تزال هناك ضرورة ملحة لمعرفة وتطوير علاجات جديدة وفعالة لمرض سرطان الكبد. العلاقة بين سرطان الكبد و تناول فيتامينات يختلف في سياق الدراسات الوراثة اللاجينية. يحتوي خلايا وهي مقاومة إلى حد كبير لاستئصال ، NK 2D ((NKG2DLs سرطان الكبدية من مجموعة روابط في الجسم. يهدف المشروع الى دراسة إمكانات تعديل عوامل الوراثة NK الخلايا القهقرية التي تم NKG2DLs في تعزيز إعادة التعبير و نشاطية E و C و A اللاجينية من خلال الفيتامين وتم التأكد من استخدام نموذج ، HepG اثنابط جينياً في سرطان الكبد. تم إجراء الدراسة على خلايا ٢ لمزيد من التأكيد نتائج الدراسة. أولاً ، تم تقييم نسبة نمو انقسام HCT خلايا سرطان القولون ١١٦ بجرعات WST- عن طريق الفحص ١ HCT و ١١٦ HepG الخلايا السرطانية من كل من الخلايا ٢ مختلفة من الفيتامينات. تم اختيار تركيزات ٢٥ و ٥٠ و ١٠٠ ميكروغرام / مل من جميع الفيتامينات ٢٥ ميكروغرام / مل و A لمدة ٢٤ ساعة لجميع التحليلات. أظهر العلاج الوحيد لفيتامين في كلا النوعين من الخلايا. في حين NKG2DLs 50 ميكروغرام / مل تنظيم جيني هام C فيتامين تعمل على A خلايا سرطان الكبد، معالجة لمدة ٢٤ ساعة ل ١٠٠ ميكروغرام / مل من فيتامين تقليل عملية المثيلة عن طريق تقليل تنظيم انزيم ميثيل ترانسفيرازات الحمض ٢٥ ميكروغرام / مل من مستوى C وبالمثل، يقلل فيتامين (DNMTs) النووي عن طريق تنظيم انزيم ميثيل ترانسفيرازات الحمض النووي. كما أن NKG2DLs مثيلة في كل من TETs (DNA demethylase) ينظم التعبير انزيم C ميكروغرام / مل من فيتامين في الخلايا ولم نجد / SAM SAH خلايا سرطان الكبد و سرطان القولون. قمنا أيضاً بقياس نسبة أي تأثير للفيتامينات على مستوياتها. تشير المقارنة الشاملة بوضوح إلى أنه من بين جميع بشكل أساسي عن ، NKG2DLs فقط أفضل استجابة، لتنظيم تعبير C الفيتامين



Potential epigenome regulation of Vitamins A, C, and E to modulate the expression of NKG2D ligands in hepatocellular carcinoma

By

Mohammad Nasrullah

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the award of Degree of
Master of Science in Biochemistry

Supervised By

Dr. Hani Mohammad Zubair Choudhry

Associate Professor,
Department of Biochemistry, Faculty of Science, King Abdulaziz University

Dr. Mohammad Imran Khan

Associate Professor,
Department of Biochemistry, Faculty of Science, King Abdulaziz University

**FACULTY OF SCIENCE
KING ABDULAZIZ UNIVERSITY
JEDDAH – SAUDI ARABIA
1440H – 2019G**

ABSTRACT

Hepatocellular Carcinoma (HCC) is the fifth most common cancer in both men and women globally. In terms of global mortality due to cancer, HCC is considered as the third most common reason owing to its poor prognosis with an overall five-year survival rate of less than fifteen percent. Only three are approved by the U.S. Food and Drug Administration for HCC. But, these drugs provide only marginal benefits to HCC patients and cause significant therapy-related side effects. Hence, an imperative necessity remains to find out new therapeutic strategies for the effective treatment of HCC. The relationship between HCC risk and intake of vitamin varies in the context of epigenetic studies. HCC cells exhibit transcriptional downregulation of NK group 2D ligands (NKG2DLs) and are largely resistant to NK cell-mediated eradication. The aim of this study is to investigate the potential of epigenome modifying vitamin A, C, and E in promoting the re-expression of epigenetically silenced NKG2DLs in HCC. The study was performed on HepG2 cells, and further confirmed using colon cancer (CC) model (HCT 116 cell line) were used for further confirmation. Firstly, cell viability percentage of both cells was assessed by WST-1 assay to finalize dose and time for vitamins treatment. 25, 50, and 100 µg/mL concentrations of all vitamins for 24 hours were selected for all analysis. The only treatment of 25 µg/mL vitamin A and 50 µg/mL vitamin C showed significant upregulation of NKG2DLs in both cell types. In HCC, 24 hours treatment of 100 µg/mL vitamin A reduces the methylation process by downregulating DNA methyltransferases (DNMTs) expression. Similarly, 25 µg/mL vitamin C decreases the methylation level of NKG2DLs by downregulating DNMTs in CC. 50 and 100 µg/mL of vitamin C upregulates TETs (DNA demethylases) expression in both HCC and CC model. We also measured the SAM/SAH ratio in cell lines and found no effect of vitamins on their level