

دراسة أهمية التعابير المثيلة في استشراف مستقبل سرطان المبيض

فاطمة محمد يحيى

تحت إشراف:

د. مريم حسن الزهراني و د. مراد طاهر عبيدي

المستخلص

سرطان المبيض (OC) أو كما يطلق عليه "القاتل الصامت" هو أعلى السرطانات فتكاً بالنساء. إذ يُصيب OC أكثر من 3% من النساء السعوديات وتكمن خطورته خاصة في تأخر تشخيصه في مراحل مُبكرة، ويُعزى ذلك لعدم ظهور أيّ علاماتٍ أو أعراضٍ تشير إلى وجود الورم لدى المرأة المصابة. وقد ارتبطت الإسكات الفوق جيني لبعض الجينات بالإصابة بال-OC. نظراً لِشُحِّ الدراسات حول التغيرات الوراثية الفوق جينية في OC، كان من الضروري زيادة الدراسات في هذا المجال للحصول على صورة أوضح للخريطة الفوق جينية لل-OC. لقد صُممت هذه الدراسة لقياس مستوى المثيلة في محفّزات عدّة جينات بما في ذلك *RARB*، *LEP*، *RASSF1A*، *KL* في مجموعة من المصابات بال-OC بالإضافة إلى تأكيد هذه المخرجات عن طريق دراسة التعبير البروتيني لكل من *KL* و *LEP*. وعليه، فقد تم قياس ملامح مثيلة هذه الجينات باستخدام 63 عينة من الأنسجة الورمية المثبتة شمعيّاً (FFPE) وذلك بمعالجة الحمض النووي DNA بثنائي فوسفات الصوديوم متبوعاً بإضافة بواقي تخصصة لمنطقة المحفز على ال-DNA باستخدام تقنية *MethyLight*. بعد ذلك، تمّ تأكيد هذه النتائج عن طريق قياس التعبير البروتيني لجيني *KL* و *LEP* باستخدام تقنيتي الأنسجة المصفوفاتية المجهرية والأنسجة المصبوغة كيمو-مناعياً. وقد أظهرت نتائجنا أن نسب المثيلة في المصابات ب-OC في محفّز ال-*KL* (62%)، *LEP* (43%)، *RASSF1A*

(١٢,٧٪)، $RARB$ (٦, ٢٠٪). كما لوحظ وجود ارتباط وثيق بين مستوى مُثَيِّلة الجينات وعدد من الخصائص السريرية للمصابات. وبحسب تحليل كابلان ماير فقد كان لارتفاع نسبة مُثَيِّلة الـ KL تأثيراً واضحاً على البقاء على قيد الحياة (DSS) ($p=0.021$) حيث أنّ المريضات اللواتي لديهنّ نسبة مرتفعة من KL المُمَيَّل انخفضت لديهنّ احتمالية البقاء على قيد الحياة؛ أي احتمالية مُوتهنّ أسرع في حين لم يكن هناك ارتباط كبير بين DSS وارتفاع نسبة المُثَيِّلة في الجينات الأخرى وخصوصاً عند الإناث الأصغر عمراً. أما بالنسبة للتعبير البروتيني لجينيّ الـ KL و LEP فكانت النتائج متوافقة مع نتائج المُثَيِّلة فبسبب ارتفاع نسبة المُثَيِّلة في الجينين أدّى ذلك إلى إسكاتهما وبالتالي انخفاض التعبير البروتيني لهما. كما بيّن التحليل الإحصائي ارتباط زيادة تعبيرهما بالعديد من الخصائص السريرية للمصابات. ختاماً، يمكننا أن نعتبر فرط المُثَيِّلة لمحفز الـ KL بمثابة مؤشر تنبؤي سيئ لمريضات سرطان المبيض، ويتطلّب متابعة أكثر دقّة وخطط علاجية تكاملية مشخّصة.

Investigation of Prognostic Value of Methylation Profiles in Ovarian Cancer

Fatimah Mohammed Yahya

Supervisors:

Dr. Maryam Hasan Al-Zahrani, Dr. Mourad Taher Assidi

ABSTRACT

Ovarian cancer or as it is called, “Silent Killer” is the highest deadly cancer among women. It affects more than 3% of Saudi women through their lifetime. Its danger lies in delayed diagnosis and its symptomless progression mainly at early stages. Epigenetic silencing of some genes was associated with OC. Since there are only limited reports on epigenetic alterations in OC, it is important to analyze multiple genes to have an overall picture of the epigenetic map in OC. This study aims to study the methylation profiles in a panel of key genes including *KL*, *RASSF1A*, *LEP* and *RARB* in a group of OC patients, and to validate these findings through studying the expression patterns of both KL and LEP proteins. The methylation profiles of these genes were measured in 63 Formalin-Fixed Paraffin-Embedded tumor tissues by quantitative Polymerase Chain Reaction using MethyLight assay. After that, the protein expression of the KL and LEP genes was measured using both Tissue Microarray and immunohistochemistry techniques. Our Results showed that the *KL* methylation had the highest frequency(63%), followed by *LEP*(43%) and the lowest frequencies were for *RARB* and *RASSF1A* with(20.6%and12.7%, respectively). However, the

results showed a significant association between hypermethylated genes and various clinicopathological features. Furthermore, Kaplan-Meier analysis of Disease-Specific Survival was significant only with hypermethylated *KL* ($p=0.021$). With regards to the protein expression of *KL* and *LEP*, the results were consistent with the results of methylation profiles since the two hypermethylated genes were silenced/reduced at the protein expression levels. Moreover, protein overexpression of *KL* and *LEP* were associated significantly with different clinicopathological features. In conclusion, our study suggests that the *KL* gene could be a novel biomarker for the prediction of bad prognosis for OC patients mainly in younger women. Thus, patients with hypermethylated promoters of *KL* require more watchful follow-up and integrative personalized therapeutics.