التأثير المحتمل لمستخلص العجوة (*Phoenix dactylifera*) على إحداث موت مبرمج لخلايا سرطان الكبد البشريةHepG2

إعداد

لمى محمد زيد القرشي

إشراف

د. رانيه مروان مكي

أ.د أيمن إبراهيم القاضي

يعتبر سرطان الخلايا الكبدية (HCC) واحد من الأسباب الشائعة للوفيات المرتبطة بالسرطان في جميع أنحاء العالم. ولايزال معدل الإصابة بسرطان الخلايا الكبدية مرتفع في العالم النامي , خصوصا في المناطق التي تعاني من فيروس الالتهاب الكبدي المزمن بي و سي. ويمكن تقليل النتيجة المدمرة للسرطان فقط باستخدام عوامل علاجية فعالة. تهدف التجارب العلمية لإيجاد مركبات بديلة مضادة للسرطان من مصادر ومستخلصات طبيعية ، والتي تظهر آلية جديدة للوقاية من السرطان بواسطة مركبات انتقائية نشطة حيويا". وقد شاع استخدام مستخلص العجوة في العديد من نظم الطب لتأثيرها على مجموعة متنوعة من الأمراض البشرية. تهدف الدراسة الحالية إلى اختبار التأثير المضاد للسرطان لمستخلص العجوة وتحفيزه للموت الخلوي المبرمج في خلايا سرطان الكبد البشرية HepG2. تم قياس نسبة حيوية الخلايا من خلال اختبارMTT. كما تم تقييم مدى قدرة الخلايا على تكوينها للمستعمرات السرطانية. تم صبغ الخلايا بصبغة الجمسا للكشف عن التغيرات المظهرية المصاحبة لموت الخلايا المبرمج ، أيضا" تم الكشف عن هجرة الخلايا السرطانية عن طريق اختبار التئام الجروح. وقد تم الكشف عن الأضرار الناتجة على الحمض النووي عن طريق إجراء اختبار المذنب واختبار تكسر المادة الوراثية. وتمت دراسة التغيرات الطارئة على الجهد الغشائي للميتوكندريا بواسطة اختبارJC-1 وتم قياس مستوى الأكسجين التفاعلي عن طريق اختبار2,7 -dichlorofluorescein diacetate. أظهلرت النتائج من اختبارMTT إلى أن مستخلص العجوة قادر وبشكل كبيرعلى تثبيط نمو خلايا سرطان الكبد البشرية بطريقة تعتمد على الجرعة والوقت. كما أظهرت النتائج تثبيط تشكل المستعمرات السرطانية بناء" على الجرعات المستخدمة على الخلايا. كما ظهرت بعض السمات المظهرية الدالة على الموت الخلوي المبرمج. وأكدت نتائج اختبار المذنب على تحفيز المستخلص لموت الخلايا المبرمج وارتفاع نسبته. بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت الخلايا المعالجة بالمستخلص

ارتفاعا واضحا في مستوى الأكسجين التفاعلي وانخفاضا في الجهد الغشائي للميتوكندريا المصاحب لموت الخلية المبرمج. تشير هذه النتائج و بقوة إلى أن مستخلص العجوة يحفز تثبيط تكاثر خلايا سرطان الكبد البشرية HepG2 عن طريق تحفيز الموت الخلوي المبرمج.

Potential Effects of *Phoenix dactylifera* (Ajwa) Extract on Prompting Apoptosis in Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line, HepG2

By

Lama Muhammed Al-qurashi

Supervised By

Dr. Rania Marwan Makki

Prof. Ayman Ibrahim A. Elkady

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the sixth most common cancer worldwide, accounting for 9.1% of all cancers and an estimated incidence of 746,000 new cases every year. Globally, HCC is three times more common in men than in women. It is also one of the leading causes of cancer related deaths in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA). The overwhelming majority of HCC cases occurs in patients with chronic liver disease. So that exploration of novel therapeutic modalities is urgently imperative. The present study was undertaken to investigate the inhibitory effects of extract prepared from medicinal plants, *Phoenix dactylifera* (PDE) on proliferation of HCC HepG2 cells and to elucidate the mechanisms of action. To achieve these aims, we utilized MTT, clonogenic, wound healing (cellular migration), comet and DNA fragmentation assays. Morphological features of apoptosis were detected by Giemsa stain and biochemical changes related to of apoptotic cell death were monitored by assaying both of mitochondrial membrane potential and generation of reactive oxygen species (ROS) using fluorescent dyes, Jc-1 and 2,7 -dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA), respectively. We found that PDE obviously suppressed, in a dose- and time-dependent manner, the proliferation, clonogenicity and cellular migration potentials of the HepG2 cells. Hallmarks of morphological and biochemical signs of apoptosis were clearly apparent in the cells treated with the PDE. The comet assay and agarose gel electrophoresis confirmed that PDE induced DNA damage and oligo-nucleosomal degradation (DNA laddering), respectively in the treated cells. PDE treatment also induced oxidative stress characterized by an increase in the

intracellular of ROS and a decrease in the mitochondrial membrane potential. These results strongly suggest that PDE has a potential to inhibit growth and proliferation of HepG2 cells through prompting apoptotic mechanisms.