مستخرج البرقوق الطازج (برقوق شائع) يثبط النمو ويحدث موت ذاتي مبرمج لخلايا سرطان القولون والمستقيم (HCT116)

فـاطمة عبد الرحمن العلكمي

بإشراف

د/ عتاب صالح الغامدي

المستخلص

الهدف: استهدفت هذه الدراسة إيضاح التأثير السام لمستخلص البرقوق على خلايا سرطان القولون والمستقيم .

الطرق: خضعت كلا من: خلايا بشرية طلائية لسرطان القولون والمستقيم (HCT116) وخلايا بشرية طلائية سليمة للفم (MOE-1) إلى جرعات متزايدة من مستخلص البرقوق (N-Bu OH PEX) خلال٢٤ ,٤٨ و٧٢ ساعة لتقييم معدل بقاء الخلايا سليمة بواسطة فحص (MTT) وفحص (Clonogenicity)**.** تم اجراء عدد من الفحوصات لتقييم امكانية مستخلص البرقوق على إحداث موت ذاتي مبرمج لخلايا HCT116 مثل: استخدام الصبغات النووية Hoechst 33342، Acridine orange /Ethidium bromide، تقنية الهجرة الكهربائية للكشف عن الضرر الناجم في الحمض النووي(DNA) بالإضافة الى اختبار المذنب للكشف عن أضرار الحمض النووي على مستوى فردي للخلية. تم قياس الجهد الغشائي للميتوكوندريا وكمية إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية وتم تقدير كمية (DNA) المتضاعف باستخدام تفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي للكشف عن مستوى التعبير الجيني.

النتائج: أظهرت النتائج أن العلاج بمستخلص البرقوق أدى بشكل فعال الى انخفاض معدل بقاء الخلايا السرطانية حية، في حين عزز من نمو الخلايا السليمة بطريقة تعتمد على الجرعة والوقت (P<0·05). الجرعة التي أدت الى موت ٥٠% من الخلايا السرطانية خلال ٢٤ ،٤٨ و &٧٢ ساعة كانت ١,٢، ١ و ٠,٨ ميكروجرام/ مليلتر على التوالي. كذلك أظهرت النتائج المورفولوجية والبيوكيميائية بأن علاج خلايا HCT116 بمستخلص البرقوق احدث بشكل ملحوظ موت ذاتي مبرمج للخلية، تكسر في الحمض النووي، زيادة ملحوظة في انتاج أنواع الأكسجين التفاعلية وانخفاض الجهد الغشائي للميتوكوندريا. نجد كذلك أن هذا المستخلص قد ساهم بشكل فعال في خفض مستويات التعبير في البروتينات المسببة للسرطان وارتفاع مستويات التعبير في البروتينات المحفزة لحدوث الموت الذاتي المبرمج للخلية.

الاستنتاج: تشير النتائج بأن الآلية الجزيئية الكامنة وراء تأثير مستخلص البرقوق كمادة مضادة للسرطان قد تكون مؤهلة لتكون واحده من الاستراتيجيات العلاجية الواعدة لسرطان القولون والمستقيم.

Crude Extract of Plum(*Prunus domestica*. *L*) Inhibits Cell Growth and Induces Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells, HCT116

By
Fatimah Abdulrahman Alalkami

Supervised By
Dr. Etab Saleh Alghamdi

Abstract

Objective: We aimed to investigate the cytotoxic effects of Plum (*Prunus domestica. L*) on colorectal cancer (CRC) cells (HCT116).

Methods: Human colorectal cancer cells (HCT116) and normal oral gingival epithelium cells (MOE-1) were subjected to increasing doses of n-butanol extract of plum (N-BuOH PEX). Cells were then harvested after 24, 48 or 72 h and cell viability was examined by MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] . Clonogenicity assay was also carried out. Nuclear stains: (Hoechst 33342), Acridine orange/Ethidium bromide double staining, agarose gel electrophoresis and comet assays were performed to assess pro-apoptotic potentiality of the extract. Reactive oxygen species (ROS) production and mitochondrial membrane potential were also measured. Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR), using gene-specific primers were performed.

Results: Treatment of N-BuOHPEX significantly reduced cell viability in HCT116 cells, promote growth in MOE-1 in a dose- and time-dependent manner ($P<0{\cdot}05$). Calculated IC_{50}, after 24, 48 and 72 h, were 1.2, 1 and 0.8 µg/mL respectively. N-BuOH PEX reduced colony formation and exhibited morphologic and biochemical features of apoptotic cell death. The induction of apoptosis was associated with increased ROS production, reduction in mitochondrial membrane potential, induced DNA fragmentation and downregulated expression levels of anti-apoptotic proteins including: (Bcl-2, cyclin D1 and c-Myc) and upregulated expression levels of proapoptotic proteins (Bax and Noxa).

Conclusion: The molecular mechanism underlying the antitumor effect of N-BuOH PEX on HCT116 cells could be qualified as one of the promising targets for innovative treatment strategies of CRC.