

التأثير المُحتمل لمستخلص الهيل في تعزيز موت الخلايا المبرمج الناتج

عن السورافينيب في خلايا HepG2

حياة احمد علي الغامدي

إشراف

أ.د. أماني عليوي الرشيدى

المستخلص

تشخيص سرطان الكبد ضعيف للغاية مما يجعله ثاني أكبر سبب للوفاة شيوعاً على مستوى العالم ويستخدم السورافينيب للمعالجة بقيود بسبب سميته وآثاره الجانبية حيثُ يستخدم بجرعات منخفضة مع مكملات أخرى. حبوب الهيل هي واحدة من العناصر الأكثر شيوعاً في الطب التقليدي الهندي والصيني. دراسات متعددة تُشير إلى أنّ مستخلصات الهيل لها أنشطة مُضادة للسرطان. **الهدف:** هدفت هذه الدراسة إلى التحقق من كفاءة مستخلص الهيل السائل في تعزيز الموت الذاتي المبرمج للسورافينيب في خلايا سرطان الكبد البشرية لغرض التقليل من آثاره الجانبية.

الطريقة: تم إخضاع خلايا سرطان الكبد البشرية (HepG2) لجرعات متزايدة من المعالجة المنفصلة والمركبة للسورافينيب مع أو بدون مستخلص الهيل السائل. ثم تم حصاد الخلايا بعد ٢٤ ساعة وفحص حيوية الخلايا بواسطة فحص الـ (MTT). أجريت أيضاً اختبارات تكوين المستعمرات وهجرة الخلايا.

تم تحديد مستوى أنواع الأكسجين التفاعلية وتقييم مستوى الجهد الغشائي للميتوكوندريا بواسطة صبغتي الـ DCFH-DA وصبغة JC-1 على التوالي. وأخيراً: تم إجراء اختبار فحص المذنب لمعرفة الضرر الناجم عن استخدام المعالجات على الحمض النووي للخلية بالإضافة لتقنية الهجرة الكهربائية للكشف عن تكسر الحمض النووي.

النتيجة: المعالجة المركبة لمستخلص الهيل مع السورافينيب أدت إلى قمع انتشار وتكوين مستعمرة وهجرة خلايا سرطان الكبد أكثر من السورافينيب وحده. أعلى تركيز مثبط لنصف الخلايا بعد ٢٤ ساعة من الحضانة كانت ١٥ ميكرومولار للسورافينيب و ٩ - ٧,٣ ميكرومولار للسورافينيب المعزز بـ ٥ - ١٠ ميكرو جرام/ ١٠٠ ميكرو لتر هيل على التوالي. عرضت خلايا سرطان الكبد المعالجة سمات بيوكيميائية للموت المبرمج الذاتي. العلاج المركب زاد من إنتاج أنواع الأوكسجين

التفاعلية، قلل من مستوى الجهد الغشائي للميتوكوندريا، زاد من طول ذيل المذنب وأظهر سلم لقطع الحمض النووي أكثر مما فعل السورافينيب وحده.

الخلاصة: تبين هذه النتائج أن مستخلص الهيل عزز تأثير السورافينيب في خلايا سرطان الكبد وتشير إلى أن مستخلص الهيل قد يكون عاملا واعدة للحد من الآثار الجانبية للسورافينيب في مجال سرطان الكبد.

الكلمات المفتاحية: سرطان خلايا الكبد، التربيينات الأحادية، موت الخلايا المبرمج، سورافينيب.

Potential Effect of *Elettaria Cardamom* Extract on Enhancement of Sorafenib-Induced Apoptosis in HepG2 Cells

Hayat Ahmad Ali Al Ghamdi

Supervised by:

Prof. Amani Aliwi Al-rasheedi

Abstract

The prognosis for liver cancer is very poor; globally it is the second most common cause of death. It can treat with sorafenib, but its use is limited due to its toxicity and adverse reactions. One approach to overcome this toxicity is to use lower doses of sorafenib in combination with other complementary agents. Cardamom seeds are one of the most common ingredients of Indian and Chinese traditional medicine, and different studies have suggested that cardamom extract can display anti-cancer activities. **Aim:** this study aimed to investigate the efficiency of *Elettaria Cardamom* Aqueous Extract (ECE) on enhancement of Sorafenib-induced apoptosis in HepG2.

Methods: Human liver cancer cells (HepG2) were subjected to increasing doses of single and combined treatments of Sorafenib and ECE. Cells were then harvested after 24 h and cell viability was examined by MTT Assay. Clonogenicity assays and Cell Migration Assay were also carried out. Reactive oxygen species (ROS) generation and mitochondrial membrane potential (MMP) level were determined by DCFH-DA and JC-1 dye, respectively. Finally, agarose gel electrophoresis and comet assays were performed to assess the DNA damage.

Result: Combined treatment of ECE with Sorafenib suppressed the proliferation, colony formation and cell migration of HepG2 cells more than the Sorafenib did only. the half maximal inhibitory concentration (IC50), after 24h of incubation were 15 μ M of Sorafenib and 9 and 7.3 μ M of Sorafenib enhanced by 5 and 10 μ g / 100 μ l of ECE respectively. HepG2 treated cells displayed biochemical features of apoptotic cell death. The combined treatment increased the ROS

production, reduced the level of MMP, increased Comet tail length and induced Deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation more than Sorafenib did alone.

Conclusion: These findings demonstrate that ECE enhanced the sorafenib effect in HepG2 cells and suggest that the ECE may be a promising agent for reducing sorafenib side effects in hepatocellular carcinoma (HCC).

Key Words: Hepatocellular Carcinoma, Monoterpenes, Apoptosis, Sorafenib.