تأثير فلافونيدات التمر على تكوُّن الأوعية الدموية في خلايا الكبد جي ٢ المستهدفة للعلاج الكيميائي

إعداد

مروج بنت جابر ابوعايد

رسالة مقدمة لاستكمال متطلبات الحصول على درجة الماجستير

(الكيمياء الحيوية)

إشراف

أ.د. خالد بن عمر ابوالنجا

د. نوف بنت عوده الشريف

المستخلص

يعتبر سرطان الخلايا الكبدية (HCC) السبب الثاني للوفاة في جميع أنحاء العالم، والذي يتميز بأنه ورم شديد العدوانية ويعتمد على الأوعية الدموية. في الواقع، تشكل الأوعية الدموية الطريقة الحاسمة لتطور الأورام الصلبة مثل سرطان الخلايا الكبدية وانتشارها. لذلك، تفرز الخلايا السرطانية بعض عوامل النمو مثل عامل النمو البطاني الوعائي (VEGFA)لتنشيط الإشارات المولدة للأوعية. حيث إن تنشيط مستقبل عامل النمو البطاني الوعائي (VEGFR2) عبر VEFGAيلعب دورًا محوريًا في تنشيط الإشارات الوعائية اللاحقة وانتشار الخلايا البطانية (ECs). تمر السكري هو أحد أصناف التمر الشهيرة التي تزرع في المملكة العربية السعودية. يحتوي مستخلص التمر السكري (SDE) على مركبات الفلافونويد حيث هدفت الدراسة الحالية إلى تقييم التأثير المضاد لتولد الأوعية لـ SDE على سرطان الكبد. أجريت الدراسة باستخدام HepG2. تم تقييم تأثير SDEفي HepG2 باستخدام .WST-1 بعد ذلك، تم تقييم مستوى الموت الخلوي عن طريق قياس موت الخلايا المبرمج عن طريق قياس التدفق الخلوي. وللكشف عن معدل الهجرة الخلوية، تم إجراء فحص التئام الجروح. أخيرًا، تم إجراء تفاعل البلمرة المتسلسل في الوقت الفعلي (qt-PCR) لتقدير التعبير الجيني النسبي لـ VEGF وVEGFR2. وجد SDE أنه يقلل من قابلية HepG2 النمو بطريقة تعتمد على التركيزوالوقت. وجد أن علاج الخلايا ذات التركيزات المنخفضة من SDE يحفز موت الخلايا المبرمج. في المقابل، أدى تركيزSDE العالي إلى منع هجرة الخلايا. بشكل ملحوظ، كان تركيزIC50 لـSDE قادرًا على تثبيط تعبيرmRNA عن VEGFA / VEGFR2 في HepG2. نستنتج من هذه النتائج إلى أن SDE يعمل على تثبيط تكوين الأوعية الدموية في خلايا الكبد السرطانية معملياً إلى جانب تثبيط التكاثر الخلوي.

الكلمات المفتاحية: سرطان الخلايا الكبدية، تمر السكري، عامل نمو الأوعية الدموية، الفلافونويد، الأوعية الدموية

THE EFFECT OF DATE FLAVONOIDS ON ANGIOGENESIS IN HEPG2 CELLS AS A TARGET OF CHEMOTHERAPY

By
Morooj Jaber Abu Ayeid

A thesis submitted for the requirements of the degree of master of science (Biochemistry)

Supervised By
Prof. Dr. Khaled Omar Abu annja
Dr. Nouf Al-Shareef

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is ranked as the second cancer cause of death worldwide characterized as a highly aggressive and angiogenic-dependent tumor. Indeed, angiogenesis is critical for solid tumors like HCC to develop and metastases. *Sukkari* is a famous date cultivar grown in Saudi Arabia. Similar to other date extracts, *Sukkari* date extract (SDE) contains flavonoids among other compounds that exert biological activity. The present study aimed to evaluate the anti-angiogenic effect of SDE on HCC development. The study was carried out on the HepG2 cell line. Firstly, the anti-proliferative effect of different SDE concentrations (20,30,40,50 and 60 mg/ml) were assessed using WST-1 and crystal violate dye. Then, the cell death level was elucidated by measuring the apoptotic effect of 20 and 30 mg/ml SDE using flow cytometry. The effect of different SDE concentrations on migration rate by wound healing assay. Finally, the real-time polymerase chain reaction (qt-PCR) was conducted to estimate the relative gene expression of specific angiogenic genes *VEGF* and *VEGFR2* by using the IC_{50} of SDE. Results have shown that SDE significantly reduces HepG2 viability in a concentration-dependent and time-dependent manner. Despite this, treating the cells with low SDE concentrations had been found to induce HepG2 apoptosis. Likewise, high SDE concentrations were inhibiting the migration of the cells. Significantly, the IC_{50} (47 mg/ml) concentration of SDE was capable to inhibit mRNA expression of VEGFA/VEGFR2 in HepG2. The results concluded that SDE is susceptible to inhibiting HCC angiogenesis as well as cellular proliferation in HepG2.

Keywords: Hepatocellular carcinoma, Angiogenesis, *Sukkari* date extract, Flavonoids, Vascular endothelial growth factor