دراسة معملية لتثبيط النمو وتحفيز الموت المبرمج في نموذج من خلايا سرطان الثدي البشرية باستخدام مستخلص العُكْبر السعودي

نوره سعد الشهري

إشراف: عتاب صالح الغامدي

المستخلص

الهدف من الدراسة: يشكل سرطان الثدي أزمة طبية مزمنة حول العالم، حيث أنه السرطان الأكثر شيوعا والمتسبب الأول للوفيات بين النساء. لذلك، فإن تطوير علاجات آمنة نسبيا يُعد أمر ضروري للحد من نمو الخلايا الخبيثة والتقليل من الآثار الجانبية المصاحبة للعلاجات التقليدية. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد مكونات العُكْبر الذي تم جمعه من منطقة الطائف في المملكة العربية السعودية و البحث في مدى تأثيره كمثبط للنمو ومحفز للموت المبرمج في نموذج من خلايا سرطان الثدي البشرية MCF-7 وMDA-MB-231.

منهج الدراسة: تم استخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) لفصل المركبات الفينولية الفعالة في مستخلص العُكْبر السعودي. كما تم تقدير النسبة الكلية لكل من الفينولات والفلافونيدات واختبار النشاط الكسحي للجذور الحرة باستخدام صبغة DPPH لمستخلص العُكْبر. ولإجراء اختبارات السمية، تم استخدام نموذجين من خلايا سرطان الثدي البشرية MCF-7 وMDA-MB-231 بالإضافة إلى نموذج من خلايا الفم الطلائية الطبيعية MOE-1. تم تعريض الخلايا لجرعات متزايدة من المستخلص ثم الكشف عن القابلية الحيوية للخلايا بعد ٢٤ و٤٨ و٧٢ ساعة باستخدام اختبار MTT. ولتحديد التغيرات المورفولوجية تم استخدام صبغات الفلورسنت، بالإضافة إلى التحقق من تكسر الحمض النووي في الخلايا المعالجة بالعُكْبر إلى شظايا صغيرة باستخدام الفصل الكهربي الهلامي واختبار المذنب. علاوة على ذلك، تم قياس المستويات الخلوية لكل من شوارد الأكسجين الحرة ROS وجهد غشاء الميتوكوندريا لتأكيد دور المستخلص في تحفيز الموت الخلوي.

النتائج: لقد أبرزت نتائج التحليل الكيميائي وجود خمسة أحماض فينولية وهي Cinnamic, Rosmarinic, Sinapic, Gallic, and Caffeic acid على التوالي. بينما تم الكشف عن فلافونيد وحيد وهو Chrysin. كما أظهرت نتائج MTT أن للمستخلص سمية اختيارية ذات دلالة إحصائية تبعا للوقت والتركيز ضد خلايا سرطان الثدي المستخدمة دونا عن خلايا الفم الطلائية الطبيعية. كما لوحظ وجود تغيرات في مورفولوجيا الخلايا التي تضمنت انكماش الخلايا وتكاثف الكروماتين مما يدعم نمط الموت المبرمج. بالإضافة إلى ارتفاع كبير في مستويات ROS، يصاحبه انخفاض في جهد غشاء الميتوكوندريا، وتلف في الحمض النووي.

الاستنتاج: تفيد الدراسة أن مستخلص العُكْبر السعودي غني بالمواد الفعالة التي قد يعزى إليها دوره الفعال في الحد من نمو الخلايا السرطانية، عن طريق تحفيز الموت المبرمج داخل الخلايا.

الكلمات المفتاحية: العكبر، المركبات الفينولية، سرطان الثدي، الموت المبرمج.

Induction of Growth Arrest and Apoptosis in Human Breast Cancer Cells by Saudi Propolis Extracts: *in vitro* Study

By

Norah Saad Alshehri

Supervised by:

Dr. Etab Saleh Alghamdi

Abstract

Aim: Worldwide, breast cancer continues to be a chronic medical problem, being the most common type of cancer and the leading cause of death in women. Therefore, the development of relatively safe treatments is necessary to reduce the growth of malignant cells and minimize the side effects associated with conventional therapies. The present study was carried out to investigate the ability of a crude ethanolic extract of Saudi Propolis (EESP) to induce growth arrest and apoptosis in human breast cancer cells.

Methods: EESP constituents were analyzed using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The total phenolic and flavonoid content as well as DPPH radical scavenging activity of the extract were determined. Breast carcinoma cell lines; MCF-7, MDA-MB-231, and Normal oral gingival epithelial MOE-1 cells were exposed to increasing doses of EESP for 24, 48 and 72 hours, then cellular viability was evaluated using MTT assay. Colony formation assay was also used to further analyze the cytotoxic effect of EESP. The morphological features of apoptosis were detected using fluorescent stains; Hoechst 33342 and acridine orange/ethidium bromide. Furthermore, DNA laddering, Comet assay, cellular levels of reactive oxygen species (ROS), and mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi M$) were employed to investigate the pro-apoptotic effects of EESP.

Results: HPLC analyses revealed a significant presence of phenolic acids including Rosmarinic, Cinnamic, Sinapic, Gallic, and Caffeic acids; while the only flavonoid detected was chrysin. EESP exhibited a time-and dose-dependent cytotoxic effect on breast cancer cell lines; MCF-7 and MDA-MB-231. It significantly increased ROS levels, decreased mitochondrial membrane potential, and induced DNA damage. However, EESP had slight or insignificant cytotoxicity on normal oral gingival epithelial cells MOE-1.

Conclusion: Findings suggest that, Propolis may possess a pro-apoptotic potential that might be that might be exploited for prevention of breast cancers.

Key words: Propolis, Phenolic compounds, Breast Cancer, Apoptosis.