كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

تأثير الخلايا الجذعية على العيوب الكروموسومية المسببة لها مادة رابع كلوريد الكربون فى الفئران المصابة بالتليف الكبدى

رسالة مقدمة للحصول على درجة دكتوراة الفلسفة فى العلوم
(علم الحيوان)
كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
جامعة عين شمس

مـــن

نـورا راضي محمد إبـراهيم

مدرس مساعد بقسم علم الحيوان
كلية البنات للآداب والعلوم والتربية – جامعة عين شمس

تحت إشراف

أ.د / رقية حسين أحمد شلبى

أستاذ البيولوجيا الجزيئية والوراثة الخلوية
قسم علم الحيوان - كلية البنات
جامعة عين شمس

أ.د/ نجوى كمال الدين رشدى

أستاذ البيولوجيا الجزيئية والكيمياء الحيوية الطبية
قسم الكيمياء الحيوية - كلية الطب
جامعة القاهرة

أ.د / محمد ابراهيم عارف

أستاذ علم المناعة والباثولوجيا الطبية
قسم المناعة – كلية الطب
جامعة الأزهر

د / هيام الداودى صالح

مدرس علم الحيوان
قسم علم الحيوان – كلية البنات
جامعة عين شمس

د / نرمين محمد حسن

مدرس الكيمياء الحيوية الطبية
قسم الكيمياء الحيوية - كلية الطب
جامعة القاهرة

2014

Ain Shams University
Women's College for Arts
Science and Education
Zoology Department

Effect of Stem Cells on Chromosomal Abnormalities Induced by CCl_4 in Experimental Rat Liver Fibrosis

Thesis

Submitted to Women's College, Ain Shams University
For Ph.D. Degree in Science

By

Noura Rady Mohammed Ibrahim

Assistant Lecturer in Zoology Department
Women's College for Arts, Science & Education
Ain Shams University
(B.Sc. 2004 & M.SC. 2009)

Supervised By

Prof.Dr. Rokaya H. Shalaby

Professor of Molecular Biology & Cytogenetics
Zoology Department - Faculty of Women
Ain Shams University

Prof.Dr. Nagwa K. Roshdy

Professor of Molecular Biology&
Clinical Biochemistry
Faculty of Medicine
Cairo University

Prof.Dr. Mohammed I. Aref

Professor of Immunology &
Clinical Pathology
Faculty of Medicine
Al-Azhar University

Dr. Hayam E. Saleh

Lecturer of Zoology
Zoology Department
Faculty of Women
Ain Shams University

Dr. Nermeen M. Hassan

Lecturer of Clinical Biochemistry
Biochemistry Department
Faculty of Medicine
Cairo University

2014

وَيَرَى الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ الَّذِي
أُنْزِلَ إِلَيْكَ مِنْ رَبِّكَ هُوَ الْحَقَّ
وَيَهْدِي إِلَى صِرَاطِ
الْعَزِيزِ الْحَمِيدِ صدق الله العظيم

سورة سبا
الآية (6)

Women's College for Arts
Science and Education
Zoology Department

APPROVAL SHEET

***Name*:** Noura Rady Mohammed Ibrahim

Scientific Degree: Ph.D.

***Title*:** Effect of Stem Cells on Chromosomal Abnormalities Induced by CCl_4 in Experimental Rat Liver Fibrosis.

Supervisors

Prof.Dr. Rokaya H. Shalaby

Professor of Molecular Biology & Cytogenetics
Zoology Department - Faculty of Women
Ain Shams University

Prof.Dr. Nagwa K. Roshdy

Professor of Molecular Biology & Clinical Biochemistry
Faculty of Medicine
Cairo University

Prof.Dr. Mohammed I. Aref

Professor of Immunology & Clinical Pathology
Faculty of Medicine
Al-Azhar University

Dr. Hayam E. Saleh

Lecturer of Zoology
Zoology Department
Faculty of Women
Ain Shams University

Dr. Nermeen M. Hassan

Lecturer of Clinical Biochemistry
Faculty of Medicine
Biochemistry Department
Cairo University

QUALIFICATION

Name: Noura Rady Mohammed Ibrahim

Scientific Degree : M.SC.

Department: Zoology

College: Women's College for Arts, Science & Education

University: Ain Shams University

Graduation Year : May 2004

كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

اسم الطالبـــــة : نـورا راضى محمد ابراهيم

الدرجة العلمية : ماجستير فى العلوم (تخصص حيوان)

القسم التابع له : قسم علم الحيوان

اسم الكليـــــة : كلية البنات للآداب والعلوم والتربية

الجامعـــــــة : جامعة عين شمس

سنة التخـــرج : 2004 م

سنة المنـــــح : 2014 م

كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

شكر

أشكر السادة الأساتذة الذين قاموا بالإشراف وهم:

أ.د / رقية حسين احمد شلبى : أستاذ البيولوچيا الجزيئية والوراثة الخلوية - قسم علم الحيوان كلية البنات - جامعة عين شمس

أ.د / نجوى كمال الدين رشدى: أستاذ البيولوچيا الجزيئية والكيمياء الحيوية الطبية- قسم الكيمياء الحيوية - كلية الطب - جامعة القاهرة

أ.د / محمد إبراهيم عارف: أستاذ علم المناعة والباثولوچيا الطبية- قسم المناعة - كلية الطب جامعة الأزهر

د/ هيام الداودى صالح: مدرس علم الحيوان قسم علم الحيوان - كلية البنات - جامعة عين شمس

د/ نرمين محمد حسن: مدرس الكيمياء الحيوية الطبية- قسم الكيمياء الحيوية - كلية الطب جامعة القاهرة

كما أتقدم بخالص الشكر إلى

جميع أفراد قسم علم الحيوان على ما منحوه لى من تسهيلات وتعاون خلال هذه الدراسة

كلية البنات للآداب والعلوم والتربية
قسم علم الحيوان

اسم الطالبـــة : نهورا راضى محمد ابواهيم

عنوان الرسالة : تأثير الخلايا الجذعية على العيوب الكروموسومية المسببة لها مادة رابع كلوريد الكربون فى الفئران المصابة بالتليف الكبدى.

الدرجة العلمية : دكتوراة الفلسفة فى العلوم (علم الحيوان)

لجنة الإشراف

1- **أ.د / رقية حسين احمد شلبى** : أستاذ البيولوچيا الجزيئية والوراثة الخلوية
قسم علم الحيوان - كلية البنات - جامعة عين شمس

2- **أ.د / نجوى كمال الدين رشدى** : أستاذ البيولوچيا الجزيئية والكيمياء الحيوية الطبية
قسم الكيمياء الحيوية - كلية الطب - جامعة القاهرة

3- **أ.د / محمد ابراهيم عارف** : أستاذ علم المناعة والباثولوچيا الطبية – قسم المناعة
كلية الطب-جامعة الأزهر

4- **د/ هيام الداودى صالح** : مدرس علم الحيوان - قسم علم الحيوان
كلية البنات - جامعة عين شمس

5- **د/ نرمين محمد حسن** : مدرس الكيمياء الحيوية الطبية - قسم الكيمياء الحيوية
كلية الطب - جامعة القاهرة

لجنة الممتحنين

1-

2-

الدراسات العليا

ختم الإجازة أجيزت الرسالة بتاريخ: / / 2014

موافقة مجلس الكلية
/ / 2014

موافقة مجلس الجامعة
/ / 2014

ACKNOWLEDGEMENT

*First and foremost, thanks to **Allah**, who is most beneficent and most merciful.*

*I had the honor to accomplish my work under the supervision of **Prof. Dr. Rokaya Hussien Ahmed Shalaby**, Professor of Molecular Biology and Cytogenetics, Women's Faculty for Arts, Science and Education, Ain Shams University. I am really indebted to her for her unlimited support, kind encouragement, suggesting and planning the subject, supervising the whole work, reading and criticizing the manuscript. I will never forget every thing she did for me. She always was being like a mother. I am truly proud to be her student.*

*I wish to express my great appreciation to the help offered by **Prof. Dr. Nagwa Kamal Roshdy**, Professor of Molecular Biology and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Cairo University, for her close supervision, continuous assistance and providing facilities during the investigation and fruitful cooperation in this thesis.*

*I must also extend my deepest appreciation to **Prof. Dr. Mohammed Ibrahim Aref**, Professor of Immunology and Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Al-Azhar University.*

His endless efforts, valuable assistance, expertise and perfection made this thesis the best it could possibly be.

I wish to express my sincere thanks and gratitude to ***Dr. Hayam El-Dawudy Saleh****, Lecturer of zoology, Faculty of Women, Ain Shams University, for her valuable help, faithful guidance, encouragement, support and expert advice throughout this study. She helped me to overcome many difficulties during this work. Her guidance helped me in all the time of research and writing of this thesis.*

I would like also to thank ***Dr. Nermeen Mohammed Hassan****, Lecturer of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Cairo University, for her cooperation and advice whenever needed and for learning me about stem cells field.*

Thanks for all the ***Staff members*** *of Zoology Department, Women's College for Arts, Science and Education, Ain Shams University, for their help and support.*

No words can express my deep thanks and appreciation to my ***parents*** *and all my* ***family****, for their continuous support and outstanding encouragement during this study.*

ABSTRACT

Regenerative medicine is a novel field that utilizes stem cells for the restoration of damaged tissues and improvement of organ functions. So, this study aimed to estimate and compare the possible therapeutic role of rat mesenchymal stem cells (MSCs) and human $CD34^+$ stem cells in the amelioration of liver fibrosis and chromosomal abnormalities induced by carbon tetrachloride (CCl_4). Male albino rats were divided into 4 groups: control, CCl_4, CCl_4 plus MSCs, and CCl_4 plus $CD34^+$. The fibrosis was induced by using subcutaneous route injection of CCl_4 at a dose of 0.2 mL/100 g body weight twice a week for 6 weeks. After 6 weeks of CCl_4 administration, stem cells (MSCs and $CD34^+$) were given as a single dose of 10^7 cells per rat and left for one month. The liver tissues, blood and bone marrow samples were collected from rats to assay the following parameters: type 1 collagen and metalloproteinase (MMP)-2 gene expressions in liver tissues, biochemical analysis of albumin and alanine aminotransferase (ALT) levels in serum, histopathological and immunohistochemical examinations for liver tissues, and cytogenetic analysis for bone marrow cells. The results showed that, CCl_4 administration induced many histological alterations and the fibrosis was the most prominent type of alterations

observed. Also, CCl_4 administration significantly increased ($P<0.05$) immunopositivity of cells toward α-smmoth muscle actin (SMA) antibody, type 1 collagen and MMP-2 gene expressions. There was also a significant decrease ($P<0.05$) in serum albumin level and a significant increase ($P<0.05$) in serum ALT level and also chromosomal aberrations in bone marrow cells of rats after CCl_4 administration. Regards to the two types of stem cells the results stated that, treatment with multipotent stem cells (MSCs and $CD34^+$) decreased the fibrotic tissue and improved liver tissue architecture in rats affected with liver fibrosis. Also they reduced the percentage of α-SMA-positive cells and significantly decreased ($P<0.05$) type 1 collagen and MMP-2 gene expressions in liver tissues that induced by CCl_4. The results also showed a significant elevation ($P<0.05$) in serum albumin after administration of both types of stem cells, but ALT level and chromosomal aberrations in bone marrow cells were significantly decreased ($P<0.05$) only in CCl_4/$CD34^+$ group while in CCl_4/MSCs group they were slightly decreased. In conclusion, the two used types of stem cells have a potential effect in the improvement of hepatic injury and mitigation of the chromosomal abnormalities induced by CCl_4.

CONTENTS