CAIRO UNIVERSITY

FACULTY OF PHARMACY

Evaluation of the Potential Antitumor Effects of GLI inhibitor "GANT61"alone or in Combination with Celecoxib on Colorectal Carcinoma Cell Line

Thesis submitted to Faculty of Pharmacy

Cairo University
In partial fulfillment for Master degree

In Pharmaceutical Sciences

(Pharmacology and Toxicology)

Presented By

Asmaa Ahmed Ramadan Neamatallah

B.Sc. Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Drug Manufacturing

Pharos University, 2013

Under the Supervision of

Dr. Dalaal Moustafa Abdallah

Professor of Pharmacology
Department of Pharmacology& Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Dr. Hanan Salah El Din El-Abhar

Professor of Pharmacology
Department of Pharmacology &Toxicology
Faculty of Pharmacy
Cairo University

Dr. Maged Wasfy Helmy

Assistant Professor of Pharmacology
Department of Pharmacology &Toxicology
Faculty of Pharmacy
Damnhour University

Faculty of Pharmacy
Cairo University
2020

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 694
Classification : 615.321

الملخص العربي

يُعد سرطان القولون والمستقيم رابع أكثر أنواع السرطان تشخيصًا في العالم ، وهو السبب الرئيسي الثاني لوفيات السرطان في الولايات المتحدة. كان هناك أكثر من ١,٨ مليون حالة تم تشخيصها حديثًا في عام ٢٠١٨ وفقًا لمنظمة الصحة العالمية (WHO). وتعد معدلاته أعلى بكثير في الذكور من الإناث.

لوحظ تزايد الاهتمام مؤخراً بسرطان القولون والمستقيم المصري عندما كشفت الملاحظات الشخصية والدراسات الوبائية عن ارتفاع نسبة الإصابة بالمرض بين الشباب المصري حيث يوجد العديد من العوامل المعروفة التي تزيد من خطر الإصابة بسرطان القولون والمستقيم؛ بعض هذه العوامل قابلة للتعديل بينما البعض الآخر غير قابل للتعديل.

كمعظم أنواع السرطان الأخرى ، فإن الصورة الجزيئية في سرطان القولون والمستقيم تشمل العديد من السمات المميزة مثل الأوعية الدموية المستدامة ، والتهرب من موت الخلايا المبرمج والانتشار السريع غير المنضبط. وتشمل مسارات إشارات الاهتمام في الدراسة الجارية مسارات إشارات hedgehogو Cox2 و NF-κB و تكوين الأوعية الجديدة و مسار .PI3K/Akt

ان علاج هذا المرض يعتمد في الأغلب على امكانية إعطاء العلاج الكيميائي والإشعاعي والعلاجات المستهدفة بيولوجيًا بمفردها أو معًا لتخفيف الأعراض وإطالة مدة البقاء وقد تمت الموافقة على عدد من العلاجات المستهدفة في السنوات الأخيرة من قبل إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) لعلاج سرطان القولون والمستقيم المنتشر.

تميل حقبة جديدة في علاج السرطان ، وخاصة سرطان القولون والمستقيم ، إلى استغلال الآثار المضادة للورم المفيدة في الاستهداف المزدوج لأكثر من إشارات مرتبطة بالسرطان. من بين هذه المسارات ، تم اقتراح الاستهداف المزدوج لـ Hh و COX-2 كما في الدراسة الجارية. في هذا السياق ، تم تجربة التأثير المحتمل لمصاحبة كل من GANT61 وسيليكوكسيب (CXB) في زيادة فعاليتهما ضد سرطان القولون والمستقيم عن طريق منع مسارات مختلفة في خلايا HCT-116 السرطانية.

تم تحديد GANT61 كأول مانع وكذلك الأكثر استخدامًا لمسار إشارات hedgehog (Hh)الذي يستهدف بروتينات متجانسة الورم المتماثل (Gli) المرتبطة بـ Glioma. سيليكوكسيب (CXB) ، مثبط2 COX ، هو دواء مضاد للالتهابات غير الستيرويدية(NSAID) ويستخدم في علاج التهاب المفاصل و التهاب المفاصل الروماتويدي و الألم الحاد و الحيض المؤلم وأعراض الدورة الشهرية. كما يستخدم أيضًا مؤخرًا لتقليل أعداد الاورام الحميدة في القولون والمستقيم.

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد وتقييم الآثار المحتملة من GANT61 و CXB في خلايا سرطان القولون والمستقيم. علاوة على دراسة ما إذا كان الجمع بين العقارين المقترحين سيضيف تأثيرًا مضاعفًا لكل واحد بمفرده من خلال الإشارات التفاعلية المحتملة المفترضة. تم تقسيم العينات الي أربع مجموعات ، المجموعة الأولى (خلايا غير معالجة) ، (المجموعة الثانيةGANT61) ، (IC50 = 8.64 µmol/Lالمجموعة الثالثة CXB) ، (IC50= 24.26 µmol/Lوالمجموعة الرابعة GANT61 + CXB) ، بنفس التركيز من كل دواء وحده. تم استخدام برنامج Calcusyn لحساب التركيز المثبط لخمسون بالمائة من الخلايا (IC50) بعد استخدام العقارين CXB

و GANT61 سواء بمفردهما او بعد جمعهما بالإضافة إلى ذلك ، تم تحديد مؤشرات الجمع وخفض الجرعة (CI و CRI ، على التوالي). تم تقييم CI لتقدير التآزر أو التناقض بين العقارين، من أجل تحديد قدرتهما على قتل الخلايا السرطانية. تم إثبات التأثير التآزري بين GANT61 و CXB من خلال قيمة CI بين GANT61 و CXB التي كشفت عن ٠,٧٣.

ومن أجل تحديد المسارات التي تلعب دورا في سميتهما المحتملة للورم فقد تم تقييم التعبير الجيني النسبي لـ GLI-1و COX2 باستخدام تقنية qRT -PCR ، في حين تم تقييم مستويات البروتين من caspase-3 ، cyclin D1 ، PGE2 ، و VEGF-1 بواسطة ELISA علاوة على ذلك ، تم تقييم مستويات التعبير البروتين pS473-AKT ، pS536-NFκB p65، و COX2 باستخدام تقنية western blotting.

كشفت نتائج الدراسة الحالية أن العلاج باستخدام GANT61 و CXB وبالأخص عند جمعهما معا قد أدى إما إلى تحسين أو تدهور مسارات مختلفة وعلامات السرطان عند مقارنتها مع الخلايا غير المعالجة أو بكل عقار على حده.

تم تحقيق استعادة كبيرة لنشاط caspase-3 مع انخفاض كبير في مستويات GLI-1 و cyclin D1 و VEGF و PGE2 عن طريق علاج الخلايا HCT-116 باستخدام CXB و/ أو GANT61 ؛ وأظهرت المجموعة المشتركة إضافة تأثيرات متفوقة مقارنة بكل دواء بمفرده.

وعلاوة على ذلك ، انخفضت مستويات التعبير البروتين pS473-AKT، وpS536-NF-κB p65 بشكل ملحوظ خاصة مع العلاج المشترك (CXB / GANT61). في المقابل، لم تظهر مستويات تعبير البروتين في COX2 أي تأثير كبير على العلاج المشترك (CXB / GANT61) ومع ذلك ، كما هو متوقع ، أدى CXB وحده إلى انخفاض ملحوظ في مستويات تعبير البروتين COX2 . فيما يتعلق بمستوى تعبير COX2 ، كان هناك انخفاضا واضحا في كل من مستوى البروتين والجينات عند علاج الخلايا ب CXB ، بينما أدى علاج الخلايا باستخدام GANT61 بشكل مدهش إلى زيادة مستوى التعبير الجيني ل COX2 ، وهذه النقطة بحاجة إلى مزيد من التحقيق.

الدراسة قيد التشغيل هي الأولى التي أثبتت أن التأثير الإضافي لـ GANT61 إلى CXB في خلايا سرطان القولون والمستقيم HCT-116 أظهرت تآزر السمية الخلوية للدواءين والتأثيرات المثبطة لتخليق الأوعية الدموية عن طريق زيادة تثبيط GLI1 و pAKT و pNF-κB / COX2 وكذلك تثبيط التعبيرات الخلوية VEGF و PGE2. لذلك، قد يمثل هذا المزيج الجديد المضاد لسرطان القولون والمستقيم علاجًا كيميائيًا مستهدفًا واعدًا في علاج مرضى سرطان القولون والمستقيم ، وهو اكتشاف يحتاج إلى مزيد من الدراسات المختلفة داخل المختبر ، بالإضافة إلى دراسات في الجسم الحي وتحقيقات سريرية.