Faculty of Pharmacy, Pharos University in Alexandria,
Department of Pharmacology and Therapeutics

ASSESSMENT OF ANTICANCER ACTIVITY OF SOME ESSENTIAL OILS/ACTIVE CONSTITUENTS ON BREAST CANCER IN MICE

A thesis submitted In Partial fulfillment of the requirements For the degree of Master

In

Pharmacology

Asmaa Mohamed Shehata

B.Pharm.Sci.(2017) Faculty of Pharmacy Pharos University

2023

P.U.A. Library
Central Medical Library (B)
Faculty of :
Serial No : 843
Classification : 615

الملخص العربى

سرطان الثدي هو أكثر أنواع السرطانات التي يتم تشخيصها بين الإناث في جميع أنحاء العالم ، وثاني أكثر أسباب الوفاة بين جميع أنواع السرطان. يحتل سرطان الثدي في مصر المرتبة الأولى بين الإناث ويمثل 32٪ من إجمالي حالات السرطان. بحلول نهاية عام 2050 ، من المتوقع حدوث تسارع في الإصابة بسرطان الثدي بمعدل الضعفين في مصر.. يعد سرطان الثدي مرض قابل للشفاء بشكل كبير إذا تم اكتشافه مبكرًا ، ولكن التشخيص المتأخر قد يؤدي إلى الوفاة. يعتبر استئصال الثدي الجراحي والإشعاع والعلاج الكيميائي والأدوية المضادة للهرمونات هي الخطوط العلاجية الرئيسية. و يعد الاكتشاف المبكر هو المحدد الرئيسي للتشخيص مع عوامل أخرى بما في ذلك حجم الورم.

و تعتبر المشاكل الرئيسية التي تواجه علاج سرطان الثدي هي التكلفة العالية والآثار الجانبية للعلاجات الحالية وقبل كل شيء مقاومة الأدوية مما يزيد من الحاجة إلى التطوير المستمر لأساليب علاجية جديدة. تعتبر المواد الكيميائية النباتية هي من بين الأساليب البديلة الناشئة التي تظهر نشاطًا مضادًا للسرطان. في واقع الأمر ، فإن نصف عوامل العلاج الكيميائي التقليدية لها أصل نباتي مع ما يقرب من 25 ٪ مشتقة مباشرة من النباتات ، و 25 ٪ عبارة عن نسخ معدلة كيميائيًا من المنتجات النباتية

تعد الزيوت العطرية هي من بين أكثر المواد الكيميائية النباتية قيمة. فهى مواد معقدة ومتعددة الوظائف من أصل نباتي ، وقد استخدمت منذ آلاف السنين لدورها في الوقاية والعلاج من الأمراض المختلفة. أظهرت الزيوت العطرية ومكوناتها إمكانات واعدة للوقاية الكيميائية والعلاج الكيميائي في مختلف خطوط الخلايا السرطانية. يُعتقد أنهم يمتلكون أهدافًا خلوية مختلفة من خلال مكوناتهم الرئيسية بما في ذلك مضادات الخلايا ، ومضادات التكاثر ، ومضادات تكوين الأوعية الدموية ، وتوقف دورة الخلية

.

من بين المواد الكيميائية النباتية التي تظهر نشاطًا واعدًا مضادًا للسرطان هو جيرانيول والذي يعد واحدًا من أكثر المكونات وفرة في العديد من الزيوت العطرية. في دراسة للاورام ، وجد أن جيرانيول يمارس نشاطًا قويًا مضادًا للأورام على خلايا سرطان الرئة والجلد والقولون والكبد والثدي. تشمل آلياته المحتملة مسار إشارات متعددة ، منها موت الخلايا المبرمج ، و توقف تكوين الأوعية و الانتشار لدى الخلايا السرطانية.

كان الهدف من هذه الدراسة هو التحقق من التأثير العلاجي المحتمل لجيرانيول على سرطان الثدي المستحدث فى إناث الفئران. تمت مقارنة التأثير العلاجي المحتمل مع عقار العلاج الكيميائي -5الفلوروبوراسيل بالإضافة إلى ذلك ، تم التحقيق أيضًا في التأثير التآزري المحتمل لكلا العقارين على نمو الورم والعلامات البيوكيميائية.

و قد تم استحداث سرطان الثدي في إناث الفئران التي يتراوح وزنها بين 20 و 25 جرامًا عن طريق زرع خلايا الاستسقاء إيرليش. تم حصاد الخلايا من سائل استسقاء الفئران التي تحمل ورم الاستسقاء بعد 8 إلى 10 أيام. ثم تعليق السائل المسحوب ، والذي يحتوي على ما يقرب من 10^6 خلية في محلول ملحي معقم وحقنه تحت الجلد في الجانب الايسر لإناث الفئران. تم تقييم حجم الورم يوميا حتى وصل (100-150 مم 2). ثم تم توزيع الفئران بشكل عشوائي على المجموعات التالية:

الفئران الحاملة للورم و الفئران التي تم معالجتها بجيرانيول (200 مجم / كجم). وأخرى تم معالجتها بـ 5-فلوروبوراسيل (5 مجم / كجم) و مجموعة اخيرة تمت معالجتها بكلاهما معا . تم اعطاء الجيرانيول يوميا عن طريق الفم و الفلوروبوراسيل 3 ايام اسبوعيا بالحقن و مدة العلاج كانت 21 يوما . في نهاية العلاج ، تم حقن الفئران بجرعة زائدة من التخدير وتم استئصال الورم وغسله بمحلول ملحي. تم تقسيم الورم إلى جزأين ، الجزء الأول مغمور في الفورمالين المخزن لدراسات الأنسجة المرضية بينما تم تخزين الجزء الثاني على الفور عند -80 درجة مئوية من أجل التحديدات البيوكيميائيةكما تم فحص آلية النشاط المضاد للورم على مؤشرات حيوية مختلفة للورم بما في ذلك تعبير miR-21 باستخدامPCR .

تم تحديد المؤشرات الحيوية للورم المصب أيضًا في أنسجة الورم المتجانس باستخدام تقنية ELISA والتي شملت "mTOR"، "PTEN"، caspase-3 و "LC3" و ترافق ذلك مع فحص الأنسجة لجميع العينات والقياس الكمي كمؤشر على فعالية العلاج.

أظهرت النتائج أن الفئران غير المعالجة أظهرت زيادة تدريجية في حجم الورم تصل إلى أكثر من 500٪. في المجموعة المعالجة بجيرانيول ، كانت النسبة المئوية لتراجع الورم أعلى في اليوم السابع ووصلت الى 72٪ تراجع بنهاية فترة العلاج ؛

اما الفئران المعالجة بـ 5الفلوروبوراسيل فقد شهدت ارتفاع في معدل نمو الورم و والذي بلغ 113% ،بينما أظهر العلاج المشترك أبطأ زيادة في حجم الورم ، حيث بلغ حجم الورم 41٪ فقط.

أظهر التحقيق في المؤشرات الحيوية للورم ارتفاعًا ملحوظًا في تعبير miR-21 في الفئران غير المعالجة. تم إيقاف هذا الارتفاع بشكل كبير في كل من المجموعات المعالجة بـالجيرانيول و الفلوروبوراسيل و كان هذا مرتبطًا بشكل كبير بالانخفاض الملحوظ في جين مثبط الورمPTEN. و قد لوحظ ارتفاع ملحوظ في مستوىPTEN في الفئران التي تم علاجها بجيرانيول و فلوروبوراسيل بالإضافة إلى ذلك ، تسبب العلاج بالجيرانيول في انخفاض مستويات mTOR في الأنسجة ، وهو أحد مسارات مسار miR-21 الذي يعزز الانتشار.

علاوة على ذلك ، تم قمع مستوىCaspase3معامل موت الخلايا المبرمج في الفئران غير المعالجة. تم عكس هذا بنجاح بعد العلاج بجيرانيول و الفلوروبوراسيل وبالمثل ، أظهرت LC3B ، علامة البلعمة الذاتية زيادة بأكثر من 5 أضعاف في الفئران الحاملة للورم. نجح كل من علاج بجيرانيول و الفلوروبوراسيل في خفض كبير في مستويات LC3B في الأنسجة.

تماشيا مع هذه النتائج ، كشف الفحص النسيجي المرضي عن وجود أنسجة ورمية ارتشاحية تتكون من خلايا خبيثة سيئة التمايز تظهر تعدد الأشكال وفرط الصبغيات ، مفصولة بمناطق قليلة بنخر غير هيكلي بمتوسط 30٪. اما في مجموعات الجرنيول و الفلوروبوراسيل، كشفت عينات الأنسجة الثديية عن مناطق أوسع من النخر بنسبة 70٪

ومن المثير للاهتمام أن النتائج أظهرت أن جيرانيول عزز تأثير العلاج الكيميائي لـفلوروبوراسيل الذي يتجلى في تثبيط نمو الورم. ربما يعد السبب هو وقف التعبير عن miR-21 المعروف بمقاومة العلاج الوسيطة. بعد ذلك ، أظهر PTEN مستوى أعلى في العلاج الثنائي ، بينما أظهر mTOR مستوى أقل مقارنة بفلوروبوراسيل. لوحظ نفس النتيجة في caspase-3 ، حيث تسبب العلاج المشترك في ارتفاع مستوى موت الخلايا المبرمج مقارنة بـفلوروبوراسيل وحده.

في الختام ، قام جيرانيول بقمع نمو ورم الثدي في الفئران الناجم عن طريق الحقن بخلايا الاستسقاء إيرليش وتجاوز تأثير عقار 5 فلورويوراسيل القياسي. أظهر هذا العمل لأول مرة المسارات الميكانيكية وراء هذه الإمكانات العلاجية الرائعة. قام جيرانيول بتثبيط التعبير عنmiR-21 ، وهو مشارك في العديد من السمات السرطانية لسرطان الثدي. أثر هذا لاحقًا على مسارات المصب بما في ذلك تنشيط PTEN وقمع .mTOR بالإضافة إلى ذلك ، كان جيرانيول قادرًا على تنشيط موت الخلايا المبرمج وتثبيط الالتهام الذاتي في الأنسجة السرطانية. تشير هذه النتائج إلى أن الجيرانول يمكن أن يمثل عقارًا علاجيًا كيميائيًا واعدًا لسرطان الثدي. علاوة على ذلك ، عزز جيرانيول ، عبر مسار miR-21 / PTEN ، الحساسية الكيميائية لفلورويوراسيل مما أدى الى زيادة فعاليته العلاجية.