الاستهداف الدوائي لتحفيز الخلايا الجذعية السرطانية في سرطان الثدي المستحدث كيميائيا في الجرذان

رسالة مقدمة للحصول على درجة الدكتوراه فى الفلسفة في العلوم الصيدلية
(أدوية وسموم)

مقدمة من

أميره مجدي عبد العزيز حسن منصور

مدرس مساعد بقسم الأدوية والعلاجيات بكليه الصيدلة

جامعه فاروس بالإسكندرية

تحت إشراف

أ.د/ أيمن سعد نصر الدين الخطيب
أستاذ الأدوية والسموم
كلية الصيدلة- جامعة القاهرة

أ.د/ محمود محمد خطاب
أستاذ الأدوية والسموم
كلية الصيدلة- جامعة القاهرة

أ.م.د/ نسرين سعيد المزين
أستاذ المساعد الأدوية والعلاجيات
كليه الصيدلة - جامعه فاروس بالإسكندرية

أ.م.د/ وسام مجدي الرفاعي
أستاذ مساعد الصيدلانيات
كليه الصيدلة - جامعه فاروس بالإسكندرية

كلية الصيدلة

جامعة القاهرة

2025

Pharmacological Targeting of Cancer Stem Cell Activation and Stemness in Chemically-Induced Breast Cancer in Rats

Thesis submitted for the fulfilment of

Doctor of Philosophy Degree in Pharmaceutical Sciences (Pharmacology and Toxicology)

Submitted by:

Amira Magdy Abdelaziz Hassan Mansour

Assistant Lecturer of Pharmacology and Therapeutics

Faculty of Pharmacy, Pharos University in Alexandria

Under the supervision of:

Prof. Dr. Aiman S. El-Khatib

Professor of Pharmacology and Toxicology

Faculty of Pharmacy

Cairo University

Prof. Dr. Mahmoud M. Khattab

Professor of Pharmacology & Toxicology

Faculty of Pharmacy

Cairo University

Assoc. Prof. Nesrine S. El-Mezayen

Associate Professor of Pharmacology and Therapeutics

Faculty of Pharmacy

Pharos University in Alexandria

Assoc. Prof. Wessam Magdi El-Refaie

Associate Professor of Pharmaceutics

Faculty of Pharmacy

Pharos University in Alexandria

Faculty of Pharmacy

Cairo University

2025

الملخص العربي

يعد سرطان الثدي أكثر أنواع السرطانات شيوعاً بين النساء ويعتبر أحد الأسباب الرئيسية للوفيات المرتبطة بالسرطان. تظهر الإحصائيات الحديثة أن عدد حالات سرطان الثدي في الاناث قد تجاوز سرطان الرئة، حيث تمثل ما يقرب من ربع حالات الإصابة بالسرطان لدى الإناث. علاجات سرطان الثدي الحالية ليست فقط مكلفة، ولكنها تسبب العديد من الآثار الجانبية، مما يستدعي استكشاف خيارات جديدة، بما في ذلك إعادة استخدام الأدوية غير السرطانية المعروفة بأهدافها الجزيئية كعلاجات. تعتبر مضادات مستقبلات الأنجيوتنسين من النوع الأول (AT-1R)، فئة واعدة من الأدوية المعاد توظيفها لعلاج سرطان الثدي.

بيئة الورم الدقيقة لسرطان الثدي معقدة وتضم أنواعًا مختلفة من الخلايا وعوامل النمو وجزيئات الإشارة التي تتفاعل لتعزيز الخبائة، والانتشار، ومقاومة العلاج. الخلايا الجذعية السرطانية داخل البيئة الدقيقة للورم تساهم في هذه التأثيرات، حيث تمتلك خصائص شبيهة بالخلايا الجذعية التي تدعم نمو الورم، وانتشاره، ومقاومته للعلاج الكيميائي. يتم تنظيم نشاط الخلايا الجذعية السرطانية بواسطة جزيئات ومسارات إشارة رئيسية، مثل Src, PI3K/Akt. وتعد الخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان جزءاً آخر مهماً في البيئة الدقيقة للورم، حيث تشكل معظم نسيج الورم وتدعم الانتشار عن طريق إعادة تشكيل المصفوفة خارج الخلية والحفاظ على الخلايا الجذعية السرطانية.

في بيئة الورم الدقيقة، تتواصل الخلايا من خلال إطلاق حويصلات دقيقه تُعرف بالإكسوزومات، والتي تحمل جزيئات مثل الميكرو-آر إن إيه، مثل miR-21، الذي يعزز من عدوانية الورم ومقاومته للعلاج. تعبر الإكسوزومات عن بروتينات غشائية، مثل Tspan8، ويتم تنظيم حركة الإكسوزومات بواسطة مجموعة من انزيمات ال GTPases مثل Rab25.

يعد ومستقبل عامل النمو الشبيه بالأنسولين-1 (IGF-1R) مستقبلاً أساسياً للحفاظ على الخلايا الجذعية السرطانية وتعزيز التحول البارينكيمي للخلايا إلى الميزانكيمي. يمكن تنشيط مستقبل IGF-1R من خلال تنشيط غير مباشر بواسطة مستقبلات AT-1R. تعمل مضادات مستقبلات AT-1R، مثل فالسارتان على تثبيط مستقبلات AT-1Rوقد تقلل من نمو الورم من خلال تعطيل إشارات تعبير مستقبل IGF-1Rووظائف الخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان، مما يجعلها ذات إمكانيات لتقليل انتشار سرطان الثدي، مقاومة الدواء، والانتكاسات من خلال تعديل بيئة الورم الدقيقة واستهداف الخلايا السرطانية الكامنة.

تمحورت هذه الدراسة حول استكشاف تأثيرات العلاج المزمن لمضادات مستقبلات AT-1R وتحديدًا عقار فالسارتان، في نموذج سرطان الثدي المستحث بالـ DMBA والمعزز بالـ MPA في الجرذان، وذلك من خلال دراسة فعاليته كعلاج وقائي أو كعلاج موجه. ركزت الدراسة على هدفين رئيسيين:

الهدف الأول: تأثير الحجب المطوّل لمستقبلات AT-1R باستخدام عقار الفالسارتان، والذي استمر لأكثر من عام، على تطور الورم، على التفاعلات الرئيسية للإشارات ضمن بيئة الورم الدقيقة في سرطان الثدي، و بالأخص في خلايا سرطان الثدي الجذعية والخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان و أيضاً دراسة القدرة على تثبيط مستقبلات IGF-1R.

الهدف الثاني: دراسة تأثير استهداف مستقبلات AT-1R الموجودة على خلايا سرطان الثدي الجذعية بعد استحداث الورم، بواسطة تركيبة محملة بعقار الفالسارتان و موجهة لاستهداف خلايا سرطان الثدي الجذعية ، على قدرة خلايا سرطان الثدي الجذعية على إفراز الإكسوزومات، والتعبير عن علامات الخلايا الجذعية، وتطور الورم.

في القسم الأول من الدراسة، تم إعطاء عقار الفالسارتان بأربعة جرعات تصاعدية (10 و20 و40 و80 مجم/كجم) للجرذان مباشرة بعد استحداث سرطان الثدي العدواني، واستمر العلاج حتى وصل الورم إلى حجم محدد. أظهرت النتائج أن حجب مستقبلات AT-1Rبواسطة عقار الفالسارتان أدى إلى انخفاض ملحوظ في مستويات الأنجيوتنسين- II في الدم وفي داخل الورم، كما أدى إلى تقليل تعبير مستقبلات AT-1Rوزيادة تعبير مستقبل Mas-R الذي يعمل بصورة معاكسة. إضافةً إلى ذلك، قلل عقار الفالسارتان من تعبير مستقبل IGF-1R في صورته المفسفره الذي يرتفع عادةً في سرطان الثدي، خاصةً داخل نواة الخلايا الموجوده في بيئة الورم الدقيقة .تشير هذه التغيرات إلى أن عقار الفالسارتان قد يكون له تأثير وقائي ضد تطور سرطان الثدي لدى الأفراد المعرضين لمخاطر عالية.

كما فحصت الدراسة احتمالية التأثير المتبادل بين مستقبلات AT-1R ومستقبل IGF-1R في خلايا سرطان الثدي الجذعية والخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان، حيث كشفت النتائج عن ارتباط قوي بين مستويات تعبير مستقبلات AT-1Rومستقبل IGF-1R، خاصة في الخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان. أدى حجب مستقبلات AT-1Rإلى تقليل مستويات تعبير مستقبلات AT-1R ومستقبل IGF-1R في صورته المفسفره في كل من خلايا سرطان الثدي الجذعية والخلايا الليفية المرتبطة بالسرطان، مع التأثير على خلايا سرطان الثدي الجذعية بشكل أكبر. علاوة على ذلك، أظهرت عينات الأنسجة المصابة بسرطان الثدي غير المعالجة أن تعبير مستقبل IGF-1R في صورته المفسفره مرتبط بشكل كبير بتعبير جين Src، مما يشير إلى دور Src كوسيط لتنشيط مستقبل IGF-1R. أظهرت تحليلات إشارات المسارات أن عقار الفالسارتان قلل من تعبير جينات Src و Notch-1، وخفف من تنشيط مساري PI3K/Akt و IL-6/Jak/STAT، وقلل من التعبير عن العوامل الأساسية لجذعية الورم، بما في ذلك NANOG (علامة تعدد قدرات الخلايا للتحول)، و ALDH (علامة للقدرة الجذعية)، و N-Cadherin (علامة التحول البارينكيمي للخلايا إلى الميزانكيمي)، و VEGF (علامة لتكوين الأوعية الدموية)، مما يشير إلى أن عقار الفالسارتان قام بفاعلية بكبح خصائص الخلايا السرطانية الجذعية.

أثر علاج الفالسارتان أيضًا على تكاثر ونمو الورم. أظهرت الأورام في المجموعات المعالجة بعقار الفالسارتان انخفاضًا في تعبير مؤشر التكاثرKi-67، وانخفاضًا في أحجام الأورام، و زيادة فترات كمون الورم. ومن اللافت أن تأثيرات عقار الفالسارتان اتبعت استجابة على شكل منحنى الجرس، حيث أظهرت جرعة 20 مجم الفعالية القصوى، بينما كانت الجرعات الأعلى و الأقل منها أقل فعالية. تشير هذه النتائج بشكل عام إلى أن عقار الفالسارتان يمكن أن يكون علاجًا وقائيًا خاصًا بجرعة معينة ضد سرطان الثدي، مما يوفر نهجًا جديدًا لتثبيط المسارات المحفزة للورم وقد يساهم في تقليل المقاومة العلاجية لدى الفئات المعرضة لمخاطر عالية.

في القسم الثاني من الدراسة، تم التركيز على استهداف مستقبلات AT-1R التي تم اثبات تواجدها على خلايا سرطان الثدي الجذعية. تم استحداث سرطان الثدي في الجرذان بمادةDMBA وتعزيزه بواسطة MPA، ثم البدء بعلاج الفالسارتان عندما بلغت الأورام حجم 1x1 سم^3. كان الهدف من هذا القسم من الدراسة هو تقييم تأثير حجب مستقبلات AT-1R في الأورام المتقدمة، مع التركيز بشكل خاص على تأثيره على خلايا سرطان الثدي الجذعية ودورها في تطور الورم ومقاومته للعلاج.