

# تعديل الجينات المقاومة لعقار الدوكسوروبيسين بواسطة عقار الدلتيازيم في خلايا الثدي البشرية السرطانية وإمكانية تقليل سمية القلب في الجرذان

تحت إشراف

أ.د. عبدالمنعم محمود عثمان

أ.د. زهير عبدالله دمنهوري

أ.د. جمانة يوسف الأعمى

## المستخلص

يعتبر الدوكسوروبيسين واحد من أهم الأدوية المنتمية إلى مجموعة الإنتراسيكلين (ذات الفعالية العالية في علاج سرطان الثدي). لكن هذا الدواء يسبب سمية مزمنة في القلب متمثلة في إعتلال عضلاته بالإضافة إلى نشوء خلايا سرطانية مقاومة للعلاج مما حد من استخدامه. لذلك تم توجيه هذا البحث لتعزيز السمية الخلوية لعقار الدوكسوروبيسين وقدرته على إيقاف، أو عكس المقاومة وإمكانية التغلب على مقاومة الخلايا بواسطة عقار الدلتيازيم في خلايا الثدي السرطانية البشرية، وكذلك الحماية المحتملة ضد السمية القلبية في ذكور الجرذان. لتقييم هذه التأثيرات، قمنا بإستكشاف تأثير الدوكسوروبيسين على نمو خلايا الثدي السرطانية البشرية، توزيع مرحلة دورة الخلية، مستوى الدوكسوروبيسين الخلوي والتعبير عن جينات ABCB1 و FOXO3a و p53 في وجود وغياب ٢٠ ميكروجرام / مل من الدلتيازيم. بالإضافة إلى ذلك درسنا قدرة الدلتيازيم لمنع تسهم القلب الناجم عن الدوكسوروبيسين بعد حقنه لمرة واحدة (١٥ مليغرام / كغ) في ذكور الجرذان. تم تحديد عدد من العوامل القلبية مثل التروبونين، مجموع أنشطة الكرياتين كيناز، ومجموع النشاط المضاد للأكسدة، والمالونداكسدة والجلوتاثيون. أدت إضافة الدلتيازيم في النظام العلاجي إلى تعزيز التأثير السام للخلايا للدوكسوروبيسين (IC50) مقابل نمو خلايا الثدي السرطانية البشرية بمعدل ٠,٢١ ميكروجرام/مل مقارنة بـ ٠,٨٩ ميكروجرام/مل للدوكسوروبيسين لوحده، وزاد مستوى الدوكسوروبيسين داخل الخلايا إضافة إلى التقليل من المستوى الجيني (ABCB1) بأكثر من أربعة أضعاف في حين أن التعبير المحرض للجين (FOXO3a) والجين (p53) ارتفع بمقدار مرة ونصف مقارنة مع الدوكسوروبيسين منفردا. على الجانب الآخر، أظهر الدلتيازيم حماية ضد التسهم القلبي الناجم عن الدوكسوروبيسين الذي يمثل إنخفاض مستوى إنزيمات القلب مثل الكرياتين كيناز وكذلك إنخفاض مستوى المالونداكسدة وزيادة مستوى النشاط المضاد للأكسدة والجلوتاثيون بعد إضافة الدلتيازيم إلى الدوكسوبيسين. هذا وقد أكد تصوير الخلايا القلبية النتائج السابقة، حيث أظهر إضافة الدلتيازيم إلى الدوكسوبيسين عدم تأثر الألياف العضلية القلبية بشكل كبير، إضافة إلى وجود النواة في حالتها الطبيعية إلى جانب عدم ملاحظة تأثر الأنسجة القلبية على عكس ما حصل عند المعالجة بالدوكسوبيسين. مما سبق نستنتج أن إضافة الدلتيازيم يعزز من فاعلية الدوكسوبيسين على خلايا الثدي البشرية السرطانية ويمنع نشوء خلايا مقاومة للدوكسوبيسين إلى جانب الحماية ضد السمية القلبية الناتجة من الدوكسوبيسين للجرذان.

# **Modulation of Doxorubicin Induced Expression of Multidrug Resistance Gene in Breast Cancer cells by Diltiazem and Possible Protection Against Cardiotoxicity in Rats**

**Supervised By**  
**Prof. Abdel-Moneim M. Osman**  
**Prof. Zohair A. Damanhori**  
**Prof. Jumana Y. Al-Aama**

## **Abstract**

Doxorubicin (DOX) is an anthracycline antibiotic and one of the most important anticancer agents used in treating breast cancer. Unfortunately, chronic cardiotoxicity and multidrug resistance as well as the development of cardiomyopathy, limit the chemotherapeutic use of DOX. Therefore, this work was directed to evaluate the cytotoxicity of DOX and its capability to arrest, reverse, or delay tumor growth and ameliorate cell resistance by calcium channel blocker (CCB) diltiazem (DIL) in breast cancer MCF-7 cells. The possible protection against DOX induced cardiotoxicity in male Wister rats has also been investigated. To evaluate these effects, we have explored the DOX effects on growth of MCF-7 cells, cell cycle phase distribution, DOX cellular uptake and expression of ABCB1, FOXO3a and p53 genes in the presence and absence of DIL (20 µg /ml). In addition, we studied the ability of DIL to prevent DOX-induced cardiotoxicity after a single injection of DOX (15 mg/kg) in male Wister rats. Addition of DIL in the protocol regimen enhanced the cytotoxic effect of DOX against the growth of MCF-7 cells with IC<sub>50</sub> 0.21 µg/ml compared to 0.89 µg /ml DOX alone and increased the intracellular level of DOX as well as increased cells accumulation in G<sub>2</sub>/M phase. This effect was confirmed by the light microscopic study were DIL treatment with DOX showed highly condensed neuclear fragments and rim of cytoplasm were scattered in MCF-7 cells. Moreover, DIL addition to DOX increased down expression of ABCB1gene by more than 4 fold while induced expression of FOXO3a and p53 genes by 1.5 fold compared with DOX alone. On the other hand, DIL treatment showed a protection against DOX-induced cardiotoxicity represented by a decrease in the level of cardiac enzymes CK-MB as well as a decrease in the level of malondialdehyde (MDA) and increased level of total antioxidant capacity (TAC) and glutathione peroxidase (GPx). Histopathological investigation of cardiac cells confirmed the biochemical study, where addition of DIL to DOX showed that the fragmentation of the muscle fiber revealed normal with central vesicular nuclei and prevented a marked disruption of normal cardiac architecture that resulted from DOX treatment. In conclusion, DIL increased the cytotoxic activity of DOX against the growth of MCF-7 cells and reversed the resistant cells to the action of DOX and protect against its cardiotoxicity in the rats.