



Effect of Diclofenac on Doxorubicin-Induced Apoptosis in Breast Cancer Cells

**By
Noha Eldeab Mohammed**

A thesis submitted for the requirements of the degree of Master of Medical Sciences

[Pharmacology]

**Supervised By
Prof. Abdel-Moneim M. Osman
Dr.FatemahOmar Kamel**

**FACULTY OF MEDICINE
KING ABDULAZIZ UNIVERSITY
JEDDAH – SAUDI ARABIA
Rabi al-Thani1442 H –November2020 G**

Effect of Diclofenac on Doxorubicin-Induced Apoptosis in Breast Cancer

Noha Eldeab Mohammed

English Abstract

Background: Breast cancer is the most common disease in women worldwide. Studies in Saudi Arabia recorded a significant increase in breast cancer incidence which occurred earlier than in Western countries. Doxorubicin (DOX) is a chemotherapeutic drug from anthracycline family and is highly effective in advanced breast cancer. Unfortunately, the toxic effects of DOX affect normal cells as well as cancer cells, which lead to severe heart damage. Many strategies have been investigated to protect the heart against DOX induced cardiotoxicity. Recent studies evaluated the effect of diclofenac (DICLO) as an anti-cancer. Therefore, the current study aimed to investigate the potential chemo sensitizing effect of Diclofenac on DOX cytotoxicity against the proliferation of human breast cancer cells (MCF-7) as well as elucidating the possible underlying mechanism.

Materials and methods: Evaluate the effect of DOX on apoptosis induction, cell cycle phase distribution, cellular absorption, and p-glycoprotein activity in breast cancer cells when DICLO was present with different concentrations.

Results: The addition of DICLO (10 and 100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) increased the effectiveness of DOX as it led to a significant decrease in IC_{50} compared to the cells treated with DOX alone. Cell cycle analysis showed that DICLO (100 $\mu\text{g} / \text{ml}$) significantly increased the percentage of apoptotic phase cells in DOX (0.25 $\mu\text{g} / \text{ml}$) from 3.5% to 10.9%. In addition, significantly increased apoptotic phase cells to 40.2% when DICLO added to DOX (1 $\mu\text{g} / \text{ml}$) compared to 15.6% in DOX alone. Programmed cell death test showed that combined treatment of DICLO with DOX resulted in a significant increase in the rate of early programmed cell death to more than 12 times and three times greater than DOX (0.25 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 1 $\mu\text{g} / \text{ml}$) respectively. DICLO increased the cellular absorption of DOX significantly by 32% and 63% compared to DOX alone (5 $\mu\text{g} / \text{ml}$ and 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$) respectively. The addition of 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ diclofenac 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$ DOX resulted in an approximately 50% significant increase in the accumulation of dye to 9.65 %, which was almost equal to the effect of Verapamil (10 μM) that is a well-known p-glycoprotein inhibitor.

Conclusion: The present study concluded that DICLO potentiates the cytotoxic activity of DOX against the growth of MCF-7 cancer cells through induction of apoptosis, inhibition of p-glycoprotein activity and enhance DOX cellular uptake.



تأثير ديكلوفيناك على موت الخلايا المبرمج الناجم عن دوكسوروبيسين في خلايا سرطان الثدي البشرية

نهى الديب عبد المجيد محمد

بحث مقدم لنيل درجة الماجستير في العلوم
(علم الأدوية)

تحت إشراف
أ.د. عبد المنعم محمود عثمان
د. فاطمة عمر كامل

كلية الطب
جامعة الملك عبد العزيز
جدة - المملكة العربية السعودية
ربيع ثاني 1442 هـ - نوفمبر 2020 م

المستخلص

المقدمة:سرطان الثدي هو أكثر الأمراض شيوع بين النساء حول العالم. قد سجلت الدراسات في المملكة العربية السعودية زيادة كبيرة في حالات الإصابة بسرطان الثدي التي تحدث في سن مبكرة مقارنة بالدول الغربية. دوكسوروبيسين هو نوع من الأدوية العلاجية الكيميائية من مجموعة الأنترا سيكلين و هو فعال للغاية في علاج سرطان الثدي المتقدم. و للأسف ،فإن التأثيرات السامة لدوكسوروبيسين تؤثر على الخلايا الطبيعية وكذلك الخلايا السرطانية، مما يؤدي إلى آثار جانبية. إعادة اكتشاف استخدامات جديدة للأدوية يعد حلاً لتطوير العقاقير للتغلب على الآثار الضارة للعلاج الكيميائي. أثبتت الدراسات الحديثة تأثير الديكلوفيناك (كمضاد للسرطان. و تشمل آليات العمل المطبقة التحويل المناعي، زيادة الموت المبرمج لخلايا الصفائح لذا ، تهدف الدراسة الحالية إلى MCF. استقلاب الجلوكوز وزيادة حساسية العلاج) DICLO الدموية، دراسة تأثير العلاج المشترك الديكلوفيناك مع الدوكسوروبيسين على خلايا سرطان الثدي والتحقيق في الآلية الممكنة للتغلب على الآثار الجانبية و كذلك مقاومة الأدوية المتعددة للعلاجه. 7 المواد وطرق البحث: لتقييم هذه التأثيرات، قمنا بفحص تأثير الدوكسوروبيسين على موت الخلايا المبرمج، وتوزيع طور دورة الخلية وتثبيط البروتين السكري في خلايا سرطان الثدي في وجود الديكلوفيناك بتركيزات مختلفة. ، والامتصاص الخلوي ، ميكروغرام/مل) إلى زيادة فعالية الدوكسوروبيسين حيث أدى إلى انخفاض 100 و معنوي في 100 مقارنة بالخلايا المعالجة (IC50) 10 النتائج: أدت إضافة الديكلوفيناك بالدوكسوروبيسين فقط . و قد أظهر تحليل دورة الخلية أن الديكلوفيناك (0.25 ميكروجرام /مل) سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية لخلايا مرحلة موت الخلايا المبرمج في الدوكسوروبيسين (بالإضافة إلى ذلك زادت خلايا طور موت الخلايا المبرمج زيادة ملحوظة عند إضافة .% 10.9 إلى % 3.5 ميكروجرام /مل) من مقارنة بالدوكسوروبيسين منفردا .كذلك % 40.2 إلى % 15.6 ميكروجرام /مل) من 1 الديكلوفيناك إلى

الدوكسوروبيسين () قد أدى إلى زيادة كبيرة 1 و 0.25 أظهر اختبار موت الخلايا المبرمج أن العلاج المشترك لـ الديكلوفيناك مع الدوكسوروبيسين (مرة وثلاث مرات أكبر من الدوكسوروبيسين ؛ على التوالي و قد زاد 12 في معدل موت الخلايا المبرمج المبكر إلى أكثر من 5) مقارنة بالدوكسوروبيسين وحده 32% الديكلوفيناك من الامتصاص الخلوي للدوكسوروبيسين بشكل ملحوظ بنسبة ميكروجرام /مل من 100 ميكروجرام /مل.) وكذلك أدت إضافة 10(من الدوكسوروبيسين وحده 63% ميكروجرام /مل) و مع 6.69% ميكروجرام /مل الدوكسوروبيسين إلى زيادة ضئيلة ولكن هادئات نسبة مئوية إلى ما يقرب من 5 ديكلوفيناك إلى ميكروجرام /مل الدوكسوروبيسين إلى زيادة ملحوظة 10 ميكروجرام /مل من ديكلوفيناك مع 100 ذلك، أدى العلاج المشترك أ % 50 بنسبة أ ، وهو ما يعادل % 9.65 تقريبا في تراكم الصبغة إلى ميكرومتر) وهو يعتبر مثبت معروف 10(تقريبا تأثير فيراباميل للبروتين السكري. الخلاصة: مما تقدم يمكن الاستنتاج أن للديكلوفيناك خصائص كبيرة مضادة للأورام في نموذج سرطان الثدي والتي قد تؤدي إلى مزيد من التقدم في العلاج لتقليل الآثار الضارة و كمساعد للعديد من العلاجات التقليدية. و كذلك فإن للديكلوفيناك قدرة على إحداث موت الخلايا المبرمج، وتعزيز الامتصاص الخلوي للدوكسوروبيسين ،وتثبيط إنتاج البروتين السكري