



## بررسی اثر بازدارنده تیمار ترکیبی دو داروی ناپروکسن و 5-FU بر تکثیر و مهاجرت رده سلولی سرطان کولورکتال

امیرحسین احمدیه یزدی<sup>۱</sup>، مریم سادات صادقی<sup>۱</sup>، دکتر طیبه مدرکیان<sup>۲</sup>، دکتر مظاهر احمدی<sup>۲</sup>، دکتر سعید افشار<sup>۳\*</sup>

۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

۲. دانشکده شیمی، دانشگاه بوعلی، همدان، ایران.

۳. مرکز تحقیقات سرطان، پژوهشکده سرطان، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

۴. گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

| چکیده                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | نوع مقاله: پژوهشی اصیل                                                                                                                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>مقدمه:</b> شیمی درمانی با استفاده از 5-FU یک درمان استاندارد برای سرطان کولورکتال است. با این حال، توسعه مقاومت به 5-FU به یک چالش بزرگ در درمان سرطان تبدیل شده است. گزارش شده است که داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs) مانند ناپروکسن اثرات کشندگی داروهای شیمی درمانی را در رده های سلولی مختلف سرطانی افزایش می دهند. این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات هم افزایی ناپروکسن و 5-FU بر رده سلولی HCT-116 انجام شد.</p> <p><b>مواد و روش ها:</b> اثرات داروهای ناپروکسن و ۵-فلوروراسیل (5-FU) بر کشندگی سلولی و تهاجم سلول های سرطانی با استفاده از روش های MTT و تست خراش ارزیابی شد. ابتدا منحنی های دوز-پاسخ برای هر دارو به صورت جداگانه رسم و مقادیر IC<sub>50</sub> در ۴۸ ساعت تعیین گردید. سپس سلول ها با غلظت های مختلف 5-FU (۱، ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۸ IC<sub>50</sub>) و ناپروکسن (۱ و ۱/۲ IC<sub>50</sub>) به صورت تکی و همزمان تیمار شدند تا مؤثرترین ترکیب دارویی مشخص شود.</p> <p><b>یافته ها:</b> مقادیر IC<sub>50</sub> برای 5-FU و ناپروکسن به ترتیب ۱۹۸۳ μM و ۱۷۵۵ μM به دست آمد. ترکیب ۸۷۷.۵ μM داروی ناپروکسن (۱/۲ IC<sub>50</sub>) با دوزهای ۹.۹۱ μM ، ۴.۹۵ μM و ۲.۴۷ μM داروی 5-FU به طور معناداری زنده مانده سلولی را کاهش داد (P&lt;0.05). همچنین در تست خراش ترکیب ۲.۴ μM 5-FU با ۸۷۷.۵ μM ناپروکسن موجب کاهش قابل توجه مهاجرت سلولی در مقایسه با تیمار تکی شد (P&lt;0.001).</p> <p><b>نتیجه گیری:</b> نتایج نشان می دهد ناپروکسن می تواند اثرات ضدسرطانی 5-FU را تقویت کرده و مهاجرت سلول های سرطانی را کاهش دهد؛ بنابراین این ترکیب ممکن است رویکردی بالقوه برای افزایش کارایی درمان سرطان کولورکتال باشد.</p> <p><b>کلیدواژه ها:</b> سرطان کولورکتال، ناپروکسن، 5-FU، هم افزایی دارویی، اثر ترکیبی داروها</p> | <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۸</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸</p> <p>*نویسنده مسئول: سعید افشار</p> <p>همدان، خیابان شهید فهمیده، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده علوم و فناوری های نوین</p> <p>تلفن: ۰۸۱۳۸۳۸۰۱۰</p> <p>پست الکترونیک: safshar.h@gmail.com</p> |



## مقدمه

سرطان کلورکتال سومین سرطان شایع و دومین سرطان کشنده در جهان است. طبق آمار GLOBOCAN در سال ۲۰۲۲، ۹.۷ میلیون نفر جان خود را بر اثر سرطان از دست داده‌اند که ۹.۳٪ از کل مرگ‌هایی که بر اثر سرطان ثبت شده‌اند را در برمی‌گیرد (۱). یکی از روش‌های رایج و مؤثر برای درمان سرطان کلورکتال، شیمی‌درمانی است. داروهایی که برای سرطان روده بزرگ مورد استفاده قرار می‌گیرند، عبارتند از: ۵-فلوروراسیل (5-FU)، کپستابین، ایرینوتسان (کامپتوسار)، اگزالی پلاتین (الوکساتین)، تری فلوریدین و تیپیراسیل (Lonsurf). اغلب اوقات، ترکیب ۲ یا ۳ دارو در شیمی‌درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲، ۳). FU پرکاربردترین و پراستفاده‌ترین داروی شیمی‌درمانی برای درمان سرطان کلورکتال است و به نوعی خط اول درمان برای این سرطان محسوب می‌شود. این دارو بیش از چهل سال است که مورد استفاده قرار می‌گیرد و در بیشتر رژیم‌های درمانی مرتبط با این سرطان موجود است. مشتقات خوراکی این دارو نیز امروزه در دسترس است که رایج‌ترین آن‌ها کپسیتابین می‌باشد (۴).

اثرات داروی 5-FU از طریق متابولیت‌های آن اعمال می‌شود. 5-FU بر اثر فعال‌سازی متابولیک به 5-Fluoro-2'-deoxyuridylate تبدیل شده که نهایتاً با متیلن تتراهیدروفولات ترکیب شده و یک ساختار سه‌تایی را با آنزیم تیمیدیلالات سنتاز تشکیل می‌دهد (۵). تیمیدیلالات سنتاز تبدیل deoxyuridylate به thymidylate را کاتالیز می‌کند، بنابراین با تشکیل این کمپلکس از تشکیل thymidylate جلوگیری شده و نهایتاً از سنتز DNA جلوگیری می‌شود. از دیگر مکانیسم‌های عمل این ماده می‌توان به اتصال مستقیم آن با RNA و جلوگیری از عمل رونویسی

RNA و همچنین اتصال مستقیم با DNA اشاره کرد (۶). تاثیرگذاری 5-FU می‌تواند با تجویز همزمان داروهای دیگر بهبود یابد. 5-FU به تنهایی یا به همراه داروهای دیگر کاربرد بسیاری در درمان سرطان کلورکتال دارد. با این وجود در بسیاری از بیمارانی که با این دارو تحت درمان قرار گرفته‌اند مقاومت دارویی نسبت به 5-FU مشاهده می‌شود. این مشکل می‌تواند تا حدی با افزایش دوز مصرفی دارو برطرف شود، اما به دلیل سمی بودن دوزهای بالای 5-FU برای بیمار، افزایش دوز مصرفی این دارو بیش از حد خاصی قابل انجام نیست. در مطالعات مختلف تاثیر انواع مختلف دارو به صورت ترکیبی با 5-FU مورد بررسی قرار گرفته که نتایج مثبتی از این مطالعات گزارش شده است (۷). طبق گزارش ژائو و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۸)، ترکیب کورکومین با 5-FU می‌تواند مقاومت دارویی به 5-FU را کم کرده و سمیت حاصل از دوزهای مصرفی بالای آن را کاهش دهد. از طرفی مطالعه‌ی Du و همکاران (۹) نشان داد که تجویز همزمان Curcumin و 5-FU بیان Cyclooxygenase2 (COX2) را در سلول‌های سرطانی کلورکتال به طور مشخصی کاهش می‌دهد و رشد آن‌ها را پایین می‌آورد.

بیان COX2 در پاسخ به سایتوکاین‌های التهابی، فاکتورهای رشد و پروموتورهای تومور را افزایش می‌دهد (۱۰). مطالعات نشان می‌دهد که COX2 در ۸۰ درصد آدنوکارسینومای کلورکتال و در ۴۰ درصد آدنومای کلورکتال انسانی افزایش بیان دارد (۱۰). به طور کلی سیکلوآکسیژنازها نقش مهمی در رگ‌زایی، فرآیندهای التهابی و کارسینوژنز دارند. مطالعات بسیاری وجود غلظت بالای پروستوگلاندین E2 و COX2 را در سرطان کلورکتال گزارش کرده‌اند. بنابراین می‌توان نتیجه



روی سرطان کلورکتال (۱۲)، به همراه Celecoxib روی سرطان معده (۱۳) و به همراه Etodolac روی سرطان سر و گردن (۱۴) مورد بررسی قرار گرفت که همگی این مطالعات نتایج مثبت و امیدوارکننده‌ای به همراه داشتند.

ناپروکسن یک NSAID پر استفاده در جهان است. این دارو مهارکننده‌ی غیر انتخابی آنزیم COX است که به جایگاه فعال COX2 متصل شده و به صورت برگشت پذیر آن را مهار می‌کند (۱۵). مطالعات مختلفی که تاکنون روی ناپروکسن انجام شده‌است، نشان دهنده‌ی تاثیرگذار بودن این دارو بر روی سلول‌های سرطانی کلورکتال بوده‌است (۱۶-۱۸). با این وجود تاثیر هم افزایی این دارو با داروی 5-FU در سرطان کلورکتال تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته‌است. ما در این مطالعه، تاثیر هم افزایی داروهای 5-FU و Naproxen را در از بین بردن سلول‌های سرطانی کلورکتال بر روی رده سلولی HCT-116 سرطان کلورکتال مورد مطالعه و ارزیابی قرار داده‌ایم.

گرفت مهار COX2 می‌تواند راهکاری قابل اتکا برای مقابله با سرطان کلورکتال در نظر گرفته شود (۱۱).

داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی (Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)) داروهایی هستند که قادر به مهار هر دو ایزوفریم COX می‌باشند. تاثیر NSAID ها روی سرطان کلورکتال برای اولین بار توسط Narisawa جراح ژاپنی مورد مطالعه قرار گرفته و نتایج مثبتی از آن گزارش شد. مطالعات بسیاری تاثیر مثبت NSAIDs را در پیشگیری و درمان سرطان کلورکتال به اثبات رسانده‌اند (۱۲). به عنوان مثال، لی و همکاران اثر آسپرین را روی ۹ رده‌ی سلولی سرطان کلورکتال بررسی نمودند که نتایج این مطالعه نشان‌دهنده تاثیر مثبت این دارو روی این سلول‌های سرطانی بود (۹). همچنین در مطالعات متفاوتی اثر سینرژیک NSAID ها به همراه داروی 5-FU بر روی سرطان‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته‌است. در این مطالعات، تاثیر سینرژیک داروی 5-FU به همراه آسپرین

## مواد و روش‌ها

رده و کشت سلولی

رده سلولی مورد استفاده در این مطالعه HCT-116 سرطان کولورکتال بود که از انستیتو پاستور تهران تهیه شدند. نگهداری آن در DMEM با مکمل سرم جنین گاو (FBS) ۱۰ درصد، پنسیلین-استرپتومایسین ۱ درصد در انکوباتور با فشار CO2 ۵ درصد و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت بالا انجام شد.

آماده سازی داروها

پودر داروی 5-FU با وزن مولکولی ۱۳۰.۰۷۸ g/mol و خلوص بیش از ۹۸٪ خریداری گردید و جهت تهیه محلول ۸۰ میلی مولار اولیه بعنوان استوک اصلی، ۱۰.۴۰۶ میلی گرم از دارو با ۱ میلی لیتر DMSO (molecular grade) حل گردید. پودر داروی ناپروکسن با وزن مولکولی ۲۳۰.۲۶ g/mol و خلوص بیش از ۹۸٪ برند سیگما خریداری گردید و جهت تهیه محلول ۱۲۰ میلی مولار اولیه بعنوان استوک اصلی، ۲۷.۶۳۱



حل گردید.

به منظور تعیین  $IC_{50}$  هر یک از دارو ها بر رده سلولی HCT116 از روش MTT استفاده گردید و زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مد نظر قرار گرفت (۲۰). بدین منظور سلول های مورد مطالعه به تعداد معین در داخل پلیت های کشت ۹۶ حفره کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت سلول ها در مجاورت غلظت های ۲۲۰ میکرومولار تا ۱۷۵۵ میکرومولار از داروی ناپروکسن، و غلظت های، ۲۰۴۷ میکرومولار تا ۸۰ میکرومولار از داروهای 5-FU (به صورت گروه های مجزا) و در فواصل زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه شدند. سپس با افزودن MTT و سپس DMSO با خواندن جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر غلظتی از داروها که ۵۰ درصد کشندگی را به همراه داشته باشد در نظر گرفته شدند. مقادیر  $IC_{50}$  دو دارو محاسبه شد و میزان اثر این دو دارو در زمان های مختلف تعیین شده نیز بررسی شد.

ارزیابی قرار گرفت. سلول های نرمال بدن جانوران در صورت آسیب، واجد توانایی ترمیم با توانایی مهاجرت سلولی می باشند. داروهایی که بتوانند اثر حرکتی سلول ها را تحریک کرده و آن ها را به سمت مهاجرت سریع تر پیش ببرند، می توانند در ترمیم آسیب های فیزیکی مؤثر باشند. این اثر می تواند با تغییر در فاکتورهای بیانی که در تقسیم سریع تر و در نتیجه پرکردن سریع فضای خالی نقش دارند، تأثیرگذار باشد. لذا بررسی میزان مهاجرت و تهاجم سلول ها هم از نظر مولکولی (تنظیم تمامی رفتارهای سلولی به واسطه عنصر ژنتیک) و هم از نظر مورفولوژی قابل بررسی است. مسئله دیگر افزایش قابلیت تهاجم سلولی در بافت های سرطانی می باشد که منجر به متاستاز می گردد. لذا داروهایی که بتوانند بر خلاف داروهای مؤثر در ترمیم زخم، قابلیت

میلی گرم از دارو با ۱ میلی لیتر DMSO (molecular grade)

تعیین  $IC_{50}$  داروی 5-FU و ناپروکسن در سلول های رده سرطانی کلورکتال با روش MTT

برای ارزیابی تکثیر سلول ها در پاسخ به داروها، فاکتورهای رشد و مواد شیمیایی از این آزمایش استفاده می گردد. این آزمایش یک روش رنگ سنجی است که بر اساس یک واکنش آنزیمی نمک تترازولیوم به واسطه سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی به فورمازان تبدیل می گردد. تعداد بالای سلول های زنده منجر به افزایش فعالیت دهیدروژناز میتوکندریایی می گردد که این آنزیم قادر است کریستال های زرد رنگ و محلول در آب تترازولیوم را احیا نموده و تبدیل به فورمازان (بنفش رنگ) غیر محلول نماید. تولید فورمازان رابطه مستقیمی با تعداد سلول های زنده دارد و افزایش تعداد سلول موجب افزایش تشکیل فورمازان و جذب نوری در طول موج ۵۷۰ نانومتر می شود (۱۹).

بررسی اثر داروی ناپروکسن روی  $IC_{50}$  داروی 5-FU (تیمار همزمان با دو دارو)

در ادامه سلول ها با ترکیب های مختلف غلظت داروی ناپروکسن و 5-FU، یعنی دوز های ۱۹.۸۳، ۹.۹۱، ۴.۹۵ و ۲.۴۷ میکرومولار از دارو های 5-FU (به ترتیب معادل ۱/۸، ۱/۴ و ۱/۲) و دوز های ۱۷۵۵ میکرومولار و ۸۷۷.۵ میکرومولار  $IC_{50}$  ناپروکسن (به ترتیب معادل  $IC_{50}$  و ۱/۲  $IC_{50}$ ) به منظور بررسی اثر ترکیبی کشندگی دو دارو تیمار شدند.

بررسی مهاجرت سلول های سرطانی با تست خراش

پس از به دست آوردن دوز های مناسب هر دو دارو جهت استفاده ترکیبی، مهاجرت سلول های سرطانی تیمار شده با دوز های منتخب از هر دو دارو به وسیله ی تست خراش مورد



سلول‌ها به میزان حدود ۸۰ تا ۹۰ درصد از سطح پلیت با استفاده از نوک سمپلر ۱۰۰ µL یک خراش در سطح سلول‌ها در کف پلیت ایجاد شد. سپس سلول‌ها برای خارج کردن سلول‌های مرده و کنده شده حاصل از خراش یکبار با PBS شستشو شدند. بعد از این مرحله سلول‌ها با دوزهای ۱۹.۸۳، ۹.۹۱، ۴.۹۵ و ۲.۴۷ میکرومولار ۱ از داروهای 5-FU (به ترتیب معادل ۱/۲، ۱/۴ و ۱/۸ IC50) و ۸۷۷.۵ میکرومولار ناپروکسن (معادل ۱/۲ IC50) تیمار شده و در انکوباتور نگهداری شدند. تصاویر به دست آمده از خراش در زمان‌های صفر، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت تهیه شد و مساحت پرنشده نیز پس از زمان طی شده توسط نرم افزار image j آنالیز گردید و در نهایت نسبت مهاجرت به صورت درصد بیان گردید.

میکرومولار به دست آمد. نمودارهای مربوط به هریک از داروها در شکل ۱ قابل مشاهده است.

بررسی اثر داروی ناپروکسن روی IC50 داروی 5-FU

جهت بررسی رقت‌های ترکیبی مناسب از دو دارو، دوزهای مختلفی از این دو دارو با یکدیگر ترکیب و بر روی رده HCT116 سرطان کلورکتال مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۲ میزان کشندگی دوزهای مختلف و ترکیب آن‌ها با یکدیگر را نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده نشان داد استفاده از ۸۷۷.۵ µM (معادل ۱/۲ IC50) داروی ناپروکسن به همراه دوزهای ۹.۹۱ µM (معادل ۱/۲ IC50)، ۴.۹۵ µM (معادل ۱/۴ IC50) و ۲.۴۷ µM (معادل ۱/۸ IC50) داروی 5-FU به طور معناداری کشندگی سلولی را افزایش می‌دهد. در دوز ۱۹.۸۳ µM معادل IC50 1 داروی 5-FU، ترکیب با

تهاجمی سلول‌ها را کاهش دهند، ارزشمند بوده و می‌توانند به عنوان داروی مقابله با متاستاز شناخته شوند. تست خراش (Scratch) یک روش ساده‌تر و کم‌هزینه می‌باشد. در این تست سلول‌ها در پلتهای چندخانه رشد کرده و پس از رسیدن به تراکم و غلظت مناسب توسط خراش دهنده یا Scratcher خراش داده می‌شوند. در این تست بخشی از سلول‌ها در یک خط مشخص خراش داده شده و در ساعت‌های مختلف از آن بخش عکس گرفته می‌شود. هرچقدر توانایی سلول‌ها در مهاجرت بالاتر باشد آن ناحیه خراش داده شده را هر چه سریع‌تر پر می‌کنند. در نهایت عکس‌های گرفته شده در ساعات مختلف مقایسه می‌شوند (۲۱).

در این آزمایش تعداد معین سلول HCT116 در هر چاهک، پلیت ۲۴ خانه کشت داده شد. پس از رسیدن به تراکم تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS 24.0 for Windows و Prism مورد بررسی قرار گرفت. متغیرهای کمی به صورت میانگین  $\pm$  انحراف میانگین (Mean  $\pm$  SEM) بیان شده‌اند. کلیه تفاوت‌های بین گروه‌های مختلف توسط One-Way ANOVA و t-test با در نظر گرفتن  $P < 0.05$  به عنوان حد معنی دار بودن مورد مقایسه قرار گرفتند.

## نتایج

تعیین IC50 دو داروی 5-FU و ناپروکسن

در این مطالعه تست MTT به منظور تعیین IC50 دو داروی مورد مطالعه انجام گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده در زمان ۴۸ ساعت بعد از تیمار، مقادیر IC50 برای داروی 5-FU، ۱۹.۸۳ میکرومولار و برای داروی ناپروکسن، ۱۷۵۵



داروی ناپروکسن اثر کشندگی سلولی این دارو را افزایش نداد.

بررسی مهاجرت سلول های سرطانی با تست خراش

برای بررسی تاثیر تیمار ترکیبی انجام شده بر روی مهاجرت سلول های سرطانی، تست خراش مورد استفاده قرار گرفت. تحلیل نتایج به دست آمده نشان داد افزودن  $877.5 \mu\text{M}$  داروی ناپروکسن تنها در دوز  $2.47 \mu\text{M}$  داروی 5-FU باعث کمتر شدن تهاجم سلول های سرطانی ( $P < 0.001$ ) شود و در بقیه دوز ها تاثیری ندارد (شکل ۳ و ۴).

### بحث

داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی (Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)) داروهایی هستند که قادر به مهار هر دو ایزوفریم COX می باشند. تاثیر NSAID ها روی سرطان کلورکتال برای اولین بار توسط Narisawa جراح ژاپنی مورد مطالعه قرار گرفته و نتایج مثبتی از آن گزارش شد. مطالعات بسیاری تاثیر مثبت NSAIDs را در پیشگیری و درمان سرطان کلورکتال به اثبات رسانده اند (۱۲). به عنوان مثال، لی و همکاران اثر آسپرین را روی ۹ رده ی سلولی سرطان کلورکتال بررسی نمودند که نتایج این مطالعه نشان دهنده تاثیر مثبت این دارو روی این سلول های سرطانی بود (۹). همچنین در مطالعات متفاوتی اثر سینرژیک NSAID ها به همراه داروی 5-FU بر روی سرطان های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است. در این مطالعات، تاثیر سینرژیک داروی 5-FU به همراه آسپیرین روی سرطان کلورکتال (۱۲)، به همراه Celecoxib روی سرطان معده (۱۳) و به همراه Etodolac روی سرطان سر و گردن (۱۴) مورد بررسی قرار گرفت که همگی این مطالعات نتایج مثبت و امیدوارکننده ای به همراه داشتند.

ناپروکسن یک NSAID پر استفاده در جهان است. این دارو مهارکننده ی غیر انتخابی آنزیم COX است که به جایگاه فعال COX2 متصل شده و به صورت برگشت پذیر آن را مهار می کند (۱۵). مطالعات مختلفی که تاکنون روی ناپروکسن انجام شده است، نشان دهنده ی تاثیرگذار بودن این دارو بر روی سلول های سرطانی کلورکتال بوده است (۱۶-۱۸). با این وجود تاثیر هم افزایی این دارو با داروی 5-FU در سرطان کلورکتال تاکنون مورد بررسی قرار نگرفته است. در این مطالعه تاثیر هم افزایی داروهای 5-FU و Naproxen از بین بردن سلول های سرطانی کلورکتال بر روی رده سلولی HCT-116 سرطان کلورکتال مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت.

یافته های ما نشان می دهد که افزودن  $IC_{50}$  ۱/۲ ناپروکسن به  $IC_{50}$  های مختلف 5-FU منجر به افزایش قابل توجهی در سمیت سلولی می شود. آنالیز نتایج حاصل از تست MTT نشان داد، در همه دوزهای مطالعه به جز  $IC_{50}$  ۱/۲ داروی 5-FU سمیت سلولی افزایش می یابد. عدم افزایش سمیت سلولی در این رقت می تواند به علت اثر غالب داروی 5-FU باشد. این نتیجه با مطالعات قبلی که اثرات هم افزایی داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAIDs) و عوامل شیمی درمانی را بر روی سلول های سرطانی نشان داده است، مطابقت دارد. به عنوان مثال، یانگ و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که NSAID ها سمیت سلولی سیس پلاتین را در سلول های سرطانی ریه A549 و H1299 افزایش می دهند (۲۲).

علاوه بر این، بر اساس نتایج تست خراش که ترکیب 1/8  $IC_{50}$  5-FU و  $IC_{50}$  ۱/۲ ناپروکسن به طور قابل توجهی تهاجم سلولی را در مقایسه با تیمار تکی  $IC_{50}$  5-FU 1/8 به تنهایی کاهش داد. این مشاهدات با گزارش های قبلی



محاسبه نشد که می‌تواند در مطالعات آینده مورد توجه قرار گیرد.

### نتیجه گیری

با توجه به اهمیت شیوع مقاومت در برابر داروهای شیمی درمانی و کاهش پاسخ بیماران به این داروها، احتمال ابتلا به سرطان افزایش می‌یابد. یافته‌های ما نشان می‌دهد که ترکیب ناپروکسن با 5-FU ممکن است یک استراتژی بالقوه برای افزایش فعالیت ضد سرطانی 5-FU و کاهش تهاجم سلولی در سلول‌های HCT-116 ارائه دهد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که اثرات هم افزایی NSAID ها و عوامل شیمی درمانی را بر سلول‌های سرطانی نشان داده‌اند، مطابقت دارد. با این حال، مطالعات بیشتری برای درک کامل مکانیسم عمل و پیامدهای بالینی این درمان ترکیبی مورد نیاز است.

### تقدیر و تشکر:

نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان به دلیل حمایت مالی این مطالعه در قالب طرح شماره ۱۴۰۰۸۱۱۶۴۶۰ تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### ملاحظات اخلاقی:

این مطالعه با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان و با کد اخلاق IR.UMSHA.REC.1400.587 انجام شده است.

که نشان می‌دهد ناپروکسن می‌تواند مهاجرت و تهاجم سلولی را مهار کند مطابقت دارد. به عنوان مثال، لی و همکاران (۲۰۱۷) گزارش داد که ناپروکسن مهاجرت و تهاجم سلول‌های سرطان کبد را مهار می‌کند (۲۳).

مکانیسم‌های زیربنایی اثرات هم افزایی ناپروکسن و 5-FU نامشخص است. با این حال، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که NSAID ها ممکن است اثربخشی عوامل شیمی درمانی را از طریق مکانیسم‌های مختلف، از جمله مهار فعالیت سیکلواکسیژناز (COX)، القای استرس اکسیداتیو، و تعدیل مسیرهای سیگنال دهی سلولی، افزایش دهند (۲۴، ۲۵).

توجه به این نکته مهم است که در حالی که مطالعه ما شواهدی برای اثرات هم افزایی ناپروکسن و 5-FU در سلول‌های HCT-116 ارائه می‌دهد، محدودیت‌هایی دارد و تحقیقات بیشتری برای تعیین دوزها و برنامه‌های درمانی بهینه برای این درمان ترکیبی ضروری است و بررسی مکانیسم‌های زمینه‌ای مسئول اثرات هم افزایی مشاهده شده این داروها ارزشمند خواهد بود. این مطالعه صرفاً در شرایط *in vitro* و بر روی یک رده سلولی انجام شده است، بنابراین تعمیم نتایج به شرایط *in vivo* و محیط بالینی نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد. علاوه بر این، مکانیسم‌های مولکولی دقیق اثرات هم افزایی ناپروکسن و 5-FU مورد بررسی قرار نگرفت و تنها اثرات عملکردی بر زنده‌مانی و مهاجرت سلولی ارزیابی شد. همچنین شاخص‌های کمی سینرژی مانند Combination Index



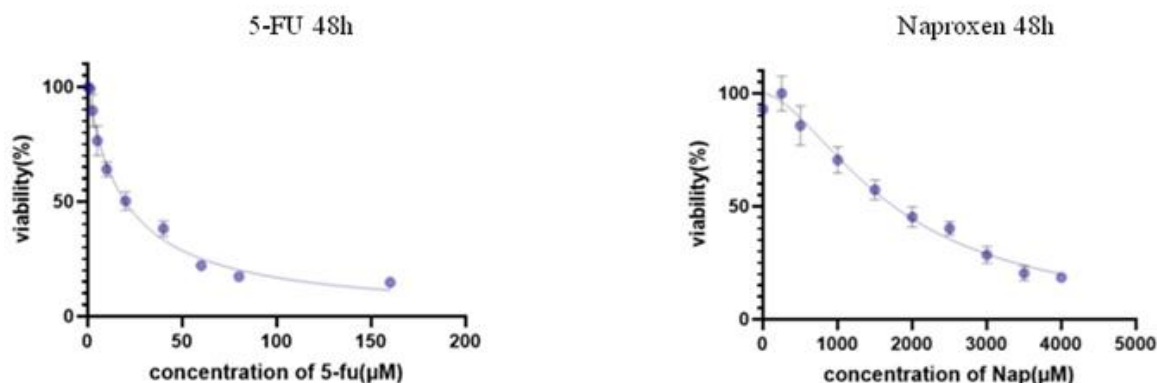
## References

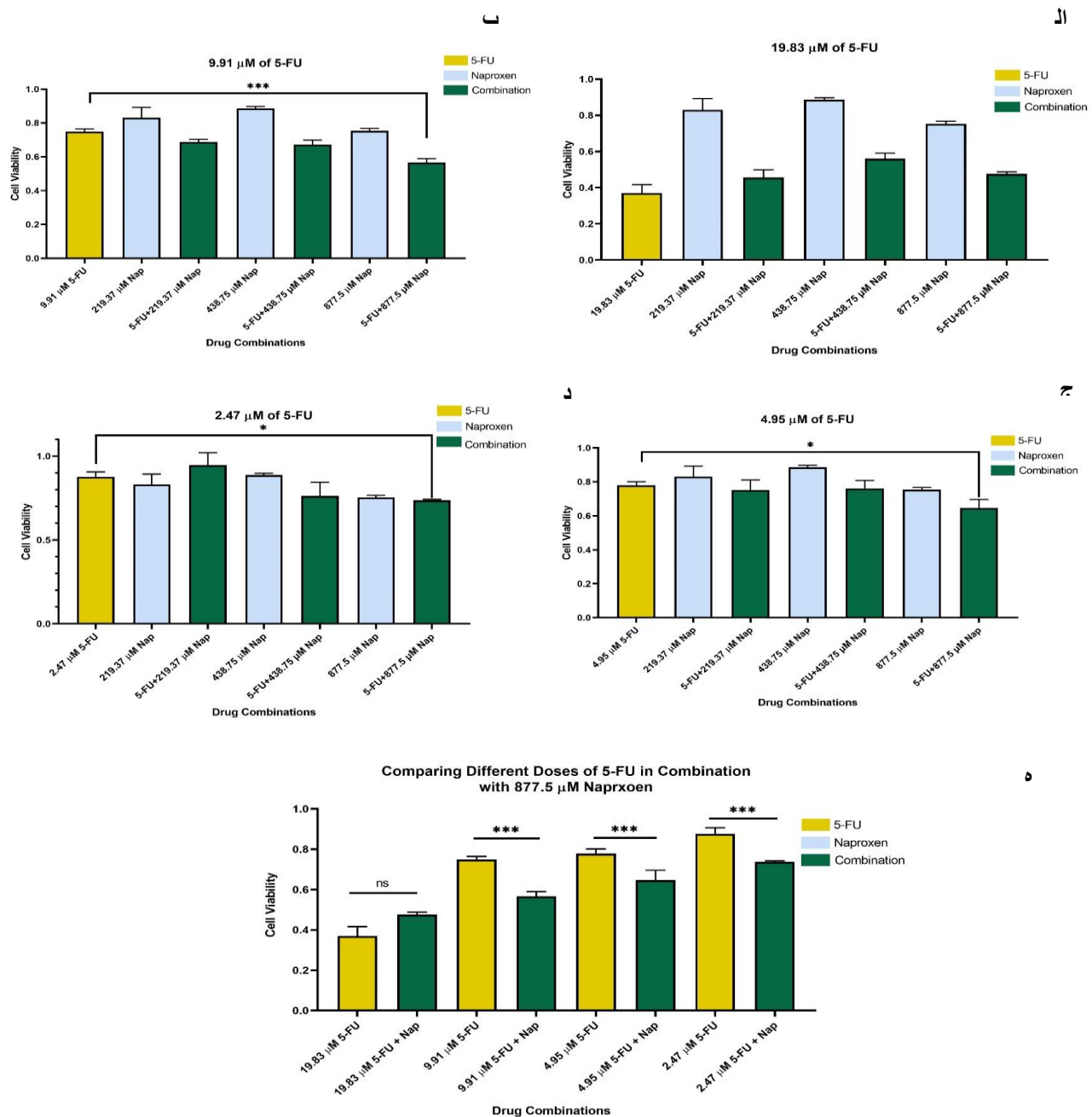
1. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2024;74(3):229-63.
2. Geng F, Wang Z, Yin H, Yu J, Cao B. Molecular targeted drugs and treatment of colorectal cancer: recent progress and future perspectives. *Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals*. 2017;32(5):149-60.
3. André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, Navarro M, Tabernero J, Hickish T, et al. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(23):2343-51.
4. Gill S, Thomas R, Goldberg RM. Colorectal cancer chemotherapy. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2003;18(7):683-92.
5. Réti A, Pap É, Adleff V, Jeney A, Kralovánszky J, Budai B. Enhanced 5-fluorouracil cytotoxicity in high cyclooxygenase-2 expressing colorectal cancer cells and xenografts induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs via downregulation of dihydropyrimidine dehydrogenase. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2010;66(2):219-27.
6. Peters GJ, Backus H, Freemantle S, Van Triest B, Codacci-Pisanelli G, Van der Wilt C, et al. Induction of thymidylate synthase as a 5-fluorouracil resistance mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2002;1587(2-3):194-205.
7. Wang W, McLeod HL, Cassidy J, Collie-Duguid ES. Mechanisms of acquired chemoresistance to 5-fluorouracil and tomudex: thymidylate synthase dependent and independent networks. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2007;59(6):839-45.
8. Wei Y, Yang P, Cao S, Zhao L. The combination of curcumin and 5-fluorouracil in cancer therapy. *Archives of pharmacal research*. 2018;41(1):1-13.
9. Lee TB, Kim KJ, Min YD, Kang SI, Jung KR, Lee JU, et al. Adjuvant Effect of NSAIDs on the Cytotoxicity of Colon Cancer Cells to 5-FU. *Journal of the Korean Society of Coloproctology*. 2005;21(3):121-8.
10. Nanda N, Dhawan DK. Role of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer. *FRONTIERS IN BIOSCIENCE-LANDMARK*. 2021;26(4):706-16.
11. Sheng J, Sun H, Yu F-B, Li B, Zhang Y, Zhu Y-T. The role of cyclooxygenase-2 in colorectal cancer. *International journal of medical sciences*. 2020;17(8):1095.
12. Ashktorab H, Dawkins FW, Mohamed R, Larbi D, Smoot DT. Apoptosis induced by aspirin and 5-fluorouracil in human colonic adenocarcinoma cells. *Digestive diseases and sciences*. 2005;50(6):1025-32.
13. Zhang XQ, Sun XE, Liu WD, Feng YG, Zhang HM, Shi LH, et al. Synergic effect between 5-fluorouracil and celecoxib on hypoxic gastric cancer cells. *Molecular medicine reports*. 2015;11(2):1160-6.
14. Murata S, Adachi M, Kioi M, Torigoe S, Ijichi K, Hasegawa Y, et al. Etodolac improves 5-FU sensitivity of head and neck cancer cells through inhibition of thymidylate synthase. *Anticancer research*. 2011;31(9):2893-8.
15. Ng K, Meyerhardt JA, Chan AT, Sato K, Chan JA, Niedzwiecki D, et al. Aspirin and COX-2 inhibitor use in patients with stage III colon cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2015;107(1):dju345.
16. Mohammed A, Janakiram NB, Madka V, Zhang Y, Singh A, Biddick L, et al. Intermittent dosing regimens of aspirin and naproxen inhibit azoxymethane-induced colon adenoma progression to adenocarcinoma and invasive carcinoma. *Cancer Prevention Research*. 2019;12(11):751-62.



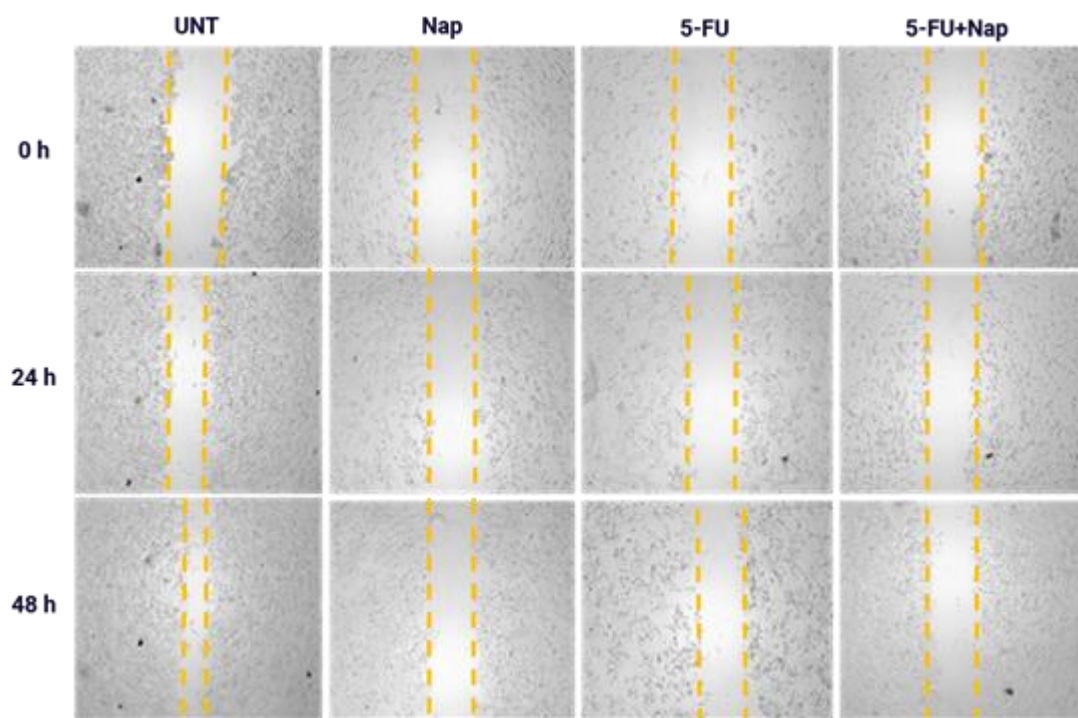
17. Kim M-S, Kim J-E, Huang Z, Chen H, Langfald A, Lubet RA, et al. Naproxen induces cell-cycle arrest and apoptosis in human urinary bladder cancer cell lines and chemically induced cancers by targeting PI3K. *Cancer Prevention Research*. 2014;7(2):236-45.
18. Steele VE, Rao CV, Zhang Y, Patlolla J, Boring D, Kopelovich L, et al. Chemopreventive efficacy of naproxen and nitric oxide-naproxen in rodent models of colon, urinary bladder, and mammary cancers. *Cancer Prevention Research*. 2009;2(11):951-6.
19. Loveland B, Johns T, Mackay I, Vaillant F, Wang Z, Hertzog P. Validation of the MTT dye assay for enumeration of cells in proliferative and antiproliferative assays. *Biochemistry international*. 1992;27.50-10:3
20. Afshar S, Sedighi Pashaki A, Najafi R, Nikzad S, Amini R, Shabab N, et al. Cross-Resistance of Acquired Radioresistant Colorectal Cancer Cell Line to gefitinib and regorafenib. *Iranian journal of medical sciences*. 2020;45(1):50-8.
21. Liang C-C, Park AY, Guan J-L. In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature protocols*. 2007;2(2):329.
22. Li B, Li X, Xiong H, Zhou P, Ni Z, Yang T, et al. Inhibition of COX2 enhances the chemosensitivity of dichloroacetate in cervical cancer cells. *Oncotarget*. 2017;8(31):51748.
23. Liu Y, Ren T, Xu X, Jin J. Association of aspirin and nonaspirin NSAIDs therapy with the incidence risk of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis on cohort studies. *European Journal of Cancer Prevention*. 2021;31(1):35-43.
24. Folprecht G, Lutz M, Schöffski P, Seufferlein T, Nolting A, Pollert P, et al. Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma. *Annals of Oncology*. 2006;17(3):450-6.
25. Welch S, Spithoff K, Rumble R, Maroun J, Group GCDS. Bevacizumab combined with chemotherapy for patients with advanced colorectal cancer: a systematic review. *Annals of oncology*. 2010;21(6):1152-62.

شکل ۱. ارزیابی اثرات کشندگی داروی 5-FU و ناپروکسن بر سلولهای HCT116

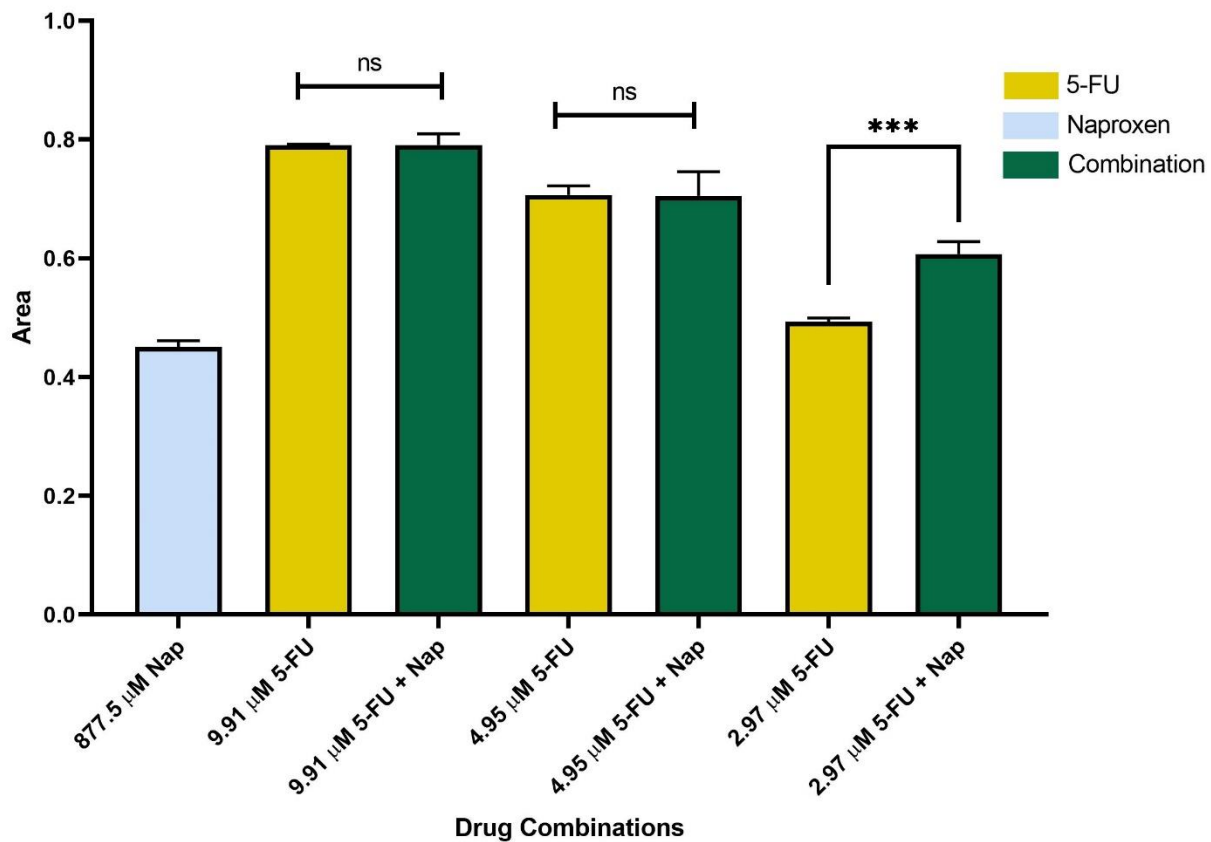




شکل ۲. بررسی اثر داروی ناپروکسن روی IC<sub>50</sub> داروی 5-FU. الف) مقایسه اثر کشندگی سلولی دوز (19.83  $\mu$ M) (معادل IC<sub>50</sub>) داروی 5-FU، دوز های مختلف داروی ناپروکسن و دوز های ترکیبی این دو دارو. ب) مقایسه اثر کشندگی سلولی دوز (9.91  $\mu$ M) (معادل 1/2 IC<sub>50</sub>) داروی 5-FU، دوز های مختلف داروی ناپروکسن و دوز های ترکیبی این دو دارو. ج) مقایسه اثر کشندگی دوز (4.95  $\mu$ M) (معادل 1/4 IC<sub>50</sub>) داروی 5-FU، دوز های مختلف داروی ناپروکسن و دوز های ترکیبی این دو دارو. د) مقایسه دوز (2.47  $\mu$ M) داروی 5-FU (معادل 1/8 IC<sub>50</sub>)، دوز های مختلف داروی ناپروکسن و دوز های ترکیبی این دو دارو. ه) مقایسه اثرات کشندگی سلولی دوز های مختلف داروی 5-FU بصورت تیمار مجزا و تیمار ترکیبی با 877.5  $\mu$ M داروی ناپروکسن. (\*P<0.05, \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001)



شکل ۳. اثر مهارى 5-FU، ناپروکسن و ترکیب دو دارو بر میزان مهاجرت رده‌های سلولی سرطان کولورکتال. مهاجرت سلول‌های HCT-116 با استفاده از تست خراش بررسی شد. مقایسه اندازه فضای خراش نشان می‌دهد تیمار با استفاده از ترکیب دارویی 877.5  $\mu\text{M}$  ناپروکسن و 2.47  $\mu\text{M}$  5-FU مهاجم سلول‌ها را کاهش می‌دهد.



شکل ۴. آنالیز کمی مهاجرت رده‌های سلولی سرطان کولورکتال. مهاجرت در زمان ۴۸ ساعت بررسی شد. بر اساس نتایج به دست آمده افزودن  $877.5 \mu\text{M}$  داروی ناپروکسن تنها در دوز  $2.47 \mu\text{M}$  داروی 5-FU باعث کمتر شدن تهاجم سلول‌های سرطانی شود ( $P < 0.001$ ).



## Investigation of the combined effect of naproxen and 5-fluorouracil on the proliferation and migration of colorectal cancer cells

Amirhossein Ahmadi<sup>1</sup>, Maryamsadat Sadeghi<sup>1</sup>, Tayebah Madrakian<sup>2</sup>, Mazaher Ahmadi<sup>2</sup>, Saeid Afshar<sup>3,4\*</sup>

1. Student Research Committee, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
2. Chemistry Department, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
3. Cancer Research Center, Institute of cancer, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
4. Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Medical Sciences and Technologies, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

### Type of Article

**Received:** 2025/05/18

**Accepted:** 2026/04/28

#### \*Corresponding Author:

Dr. Saeid Afshar  
Address: Department of  
Medical Biotechnology,  
School of Advanced  
Medical Sciences and  
Technologies, Hamadan  
University of Medical  
Sciences, Hamadan, Iran  
.Postal Code: 6517838736  
Tel: 98-8138381796  
Fax: 98-8138382112  
Email:  
s.afshar@umsha.ac.ir

### ABSTRACT (Maximum 250 words)

#### Introduction

Pediculosis (head lice infestation) is one of the most common parasitic infestations worldwide, including Iran. It is particularly prevalent in densely populated areas with poor hygiene, such as primary schools. The present study aimed to examine the prevalence of pediculosis and its associated factors among primary school students in Behbahan County in 2023.

#### Methods

This cross-sectional (descriptive-analytical) study collected data from 1,000 students using pre-designed questionnaires. Data analysis was performed using SPSS version 21, employing Chi-square tests for qualitative variables and t-tests for relationships between quantitative and qualitative variables.

#### Results

The findings revealed that of the 1,000 students, 545 (54.5%) were boys, and 455 (45.5%) were girls. Significant relationships were observed between head lice prevalence and factors such as maternal education level, history of previous infestation, family size, weekly bathing frequency, hair type, and texture ( $p < 0.05$ ). However, no significant differences were found with paternal education level or grade level.

#### Conclusion

The study concludes that the high prevalence of pediculosis among Behbahan students may have a negative impact on their academic performance. Educational classes for school administrators, teachers, and parents are recommended to reduce the infestation rate.

#### Keywords

Pediculosis, Primary Schools, Prevalence, Students, Behbahan

► Please cite this article as: Ahmadi<sup>1</sup>, Sadeghi M.S, Madrakian T, Ahmadi M, AfsharS. Investigation of the combined effect of naproxen and 5-fluorouracil on the proliferation and migration of colorectal cancer cells. J Neyshabur Univ Med Sci 2025;13(1).