



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة كربلاء - كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

دراسة وظيفية و جزيئية لبعض المورثات الايضية للنساء المصابات بسرطان الثدي والخاضعات للعلاج بعقار التاموكسيفين

أطروحة مقدمة إلى مجلس كلية التربية للعلوم
الصرفة / جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الدكتوراه في
علوم الحياة / علم الحيوان

تقدمت بها

إيناس عبد الكريم جبار

ماجستير علوم حياة / كلية العلوم / جامعة
البصرة (2007)

بأشراف

أ.د سعد حمد عبد اللطيف

أ.م.د سلوى جابر عبد الله

جمادي الثاني 1436

آذار 2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

{ وَقُلْ رَبِّ أَدْخِلْنِي مُدْخَلَ صِدْقٍ وَأَخْرِجْنِي مُخْرَجَ صِدْقٍ
وَاجْعَلْ لِي مِنْ لَدُنْكَ سُلْطَانًا نَصِيرًا }

صدق الله العلي العظيم

الإهداء ...

إلى الذين يحملون شعلة الفكر وهاجة ,
ومصابيح الثقافة وضياءة , فيبددون
بشعاعها ظلمة ليلنا , وَيَعِيدُونَ بنورها
طريق نهارنا , إلى كل أمين على رسالة
الحق والنور ...

مقتد برسول الرحمة والخير (صلى الله عليه
واله وسلم)

إلى كل مربٍ سائر على درب الهدى ...

عالم أو متعلم أبٍ أو أمٍ أو معلمٍ
إلى كل من ساهم وساند على طريق العلم

أخ أو أخت أو شريك

إلى هؤلاء جميعا اهدي هذه الدراسة

شكر وتقدير

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك ولا يطيب النهار إلا بطاعتك .. ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ..
ولا تطيب الآخرة إلا بعفوك .. ولا تطيب الجنة إلا برؤيتك فالحمد لك أولاً وأخيراً والصلاة والسلام
على خير خلقه نبيه الصادق الأمين واله الطيبين الطاهرين وسلم تسليماً كثيراً.
وبعد إتمام هذه الدراسة لا يسعني إلا أن أتقدم بعظيم حبي وامتناني إلى أستاذي المشرف الأستاذ
الدكتور (سعد حمد عبد اللطيف) والدكتورة (سلوى جابر عبد الله) على رعايتهما ودعمهما
ومساندتهما لي طيلة فترة البحث والتي كان لها أثر كبير في التخفيف عن صعوبات ومشقات العمل.
وأنتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى رئاسة قسم علوم الحياة و أعضاء الهيئة التدريسية وعمادة كلية
التربية للعلوم الصرفة وجميع موظفيها وخاصة قسم الدراسات العليا.

ولا أنسى بالشكر من ساندني وساعدني في الحصول على المواد وفي مراحل البحث الأخرى السيد
باسم محمد شمه .

وأنتقدم بالشكر إلى شعبة جمع الدم / معهد الإشعاع الذري في بغداد (السيد حسين سلمان , سعد
غضبان , شوقي قاسم والسيد احمد علي).

كذلك أتقدم بالشكر والتقدير إلى مركز الدنا العدلي للبصمة الوراثية لما أبدوه من مساعدة في
تحليلات عينات الدراسة ومنهم المدرس المساعد ضحى سالم.
وختاماً يدوم الصمت طويلاً وتتعثر الكلمات في لساني حين أتوجه بالشكر إلى عائلتي التي
شاركتني المعاناة طيلة مدة الدراسة.

والله الموفق

الخلاصة

يعد سرطان الثدي غالبا من الأمراض المعتمدة على فعل الهرمونات وخاصة هرمون الاستروجين , لذلك صممت هذه الدراسة لغرض بحث دور عقار التاموكسيفين وتأثيره على هذا الهرمون بالإضافة إلى دراسة النمط الوراثي لبعض المورثات الايضية المسؤولة عن ايض التاموكسيفين عند النساء في العراق.

تضمنت هذه الدراسة 100 امرأة مصابة بسرطان الثدي ويخضعن للعلاج (التاموكسيفين) , و 30 امرأة سليمة ظاهريا يراجعن مركز الكشف المبكر لسرطان الثدي.

تراوحت أعمار النساء من المجموعتين بين 20-80 سنة جمعت عينات من الدم لغرض إجراء قياس بعض الهرمونات الداخلية مثل هرمون الاستروجين , هرمون الشحمون الخصوي , هرمون الحليب , إنزيمات الكبد , بعض معايير الدم الأخرى , والنمط الوراثي للمورثات (*CYP2D6* , *CYP3A4* , *CYP3A5*).

أظهرت نتائج هذه الدراسة إن أعلى نسبة مئوية للإصابة بمرض سرطان الثدي للنساء في الفئة العمرية (41-60) وبنسبة 58% إضافة إلى أن المدى العمري للنساء لمجموعة المرضى والأصحاء يبدأ الحيض لديهن بعمر (10 – 13 سنة) وبنسبة 68% للمرضى و 63.33% للأصحاء كما أظهرت النتائج إن 88% من النساء هن متزوجات لمجموعة المرضى ولمجموعة الأصحاء 53.3% كما إن 51.13% من المرضى كان عمر الزواج ضمن الفئة 10 – 20 سنة .

وجدت الدراسة إن نسبة 32% من مجموعة المرضى ممن يمتلكون تاريخا عائليا للإصابة بمرض سرطان الثدي بينما 68% من الذين لا يمتلكون تاريخا عائليا.

أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاضا معنويا في مستويات هرمون الاستروجين بعد إن تم إزالة الورم وحقق المبيض بنظائر هرمون LHRH والعلاج الكيماوي وأخيرا عقار التاموكسيفين بجرعة 20 ملغم / اليوم أما هرمون الحليب وهرمون الشحمون الخصوي لم تظهر لهم أي فروق معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء كذلك إنزيمات الكبد وألبومين والكلوبيولين والفايبرينوجين أما الكوليستيرول الكلي والبروتين الدهني المنخفض الكثافة LDL فقد اظهرا ارتفاعا معنويا في مجموعة المرضى و انخفاضا معنويا في البروتين الدهني المرتفع الكثافة HDL.

كما أظهرت دراسة النمط الوراثي للمورث *CYP2D6*4* إن معظم العينات لم تهضم وقد يرجع السبب إلى قلة وجود هذا الاليل أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس

الزيجوت (qq) بنسبة 45% والذي يكون مسؤولاً عن إنتاج الإنزيم الأيضي ضعيف الفعالية في ايض عقار التاموكسيفين ($OR = 1$) كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة الأصحاء ومجموعة المرضى أما المورث *CYP3A4*1B* لم يحدث هضم لمعظم العينات أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (pp) النوع البري 77.7% $OR=1.43$ و المورث *CYP3A5*3* العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (pp) النوع البري (63%) ويليه نوع المتباين الزيجوت , مع عدم وجود فروق معنوية بين الأنواع.

ونستنتج من هذه الدراسة إن لعقار التاموكسيفين تأثيراً خافضاً لهرمون الاستروجين الذي يعتبر المسبب الرئيسي لسرطان الثدي في الحالات المدروسة إضافة إلى عدم هضم معظم العينات للمورث *CYP2D6* وذلك ترجع إلى احتمال انعدام وجود الأليل *4 أو لحدوث فشل في التقطيع وان النساء اللاتي يحمل النمط الوراثي الطافر (qq) المسؤول عن إنتاج إنزيم ضعيف الفعالية وبالتالي ايض فقير وجب تغير العقار لديهن وإيجاد عقار أكثر فعالية.

قائمة المحتويات

الصفحة	الموضوع	ت
4-1	الفصل الأول المقدمة Introduction	
47-5	الفصل الثاني استعراض المراجع Literature review	
5	السرطان: CANCER	1-2
5	التأشير الخلوي Cell Signaling	2-2
8	الاكتفاء الذاتي في إشارات النمو Self-sufficiency in growth signals	1-2-2
8	انعدام الحساسية لإشارات التثبيط Insensitivity to inhibitory (antigrowth) signals	2-2-2
8	إمكانية غير محدودة للاستنساخ Limitless replicative potential	3-2-2
8	أوعية دموية جديدة Sustained angiogenesis	4-2-2
8	غزو الأنسجة والانبثاث Tissue invasion and metastasis	5-2-2
9	التصنيف CLASSIFICATION	3-2
9	الورم الحميد Benign tumors	1-3-2
9	الأورام الخبيثة Malignant tumors	2-3-2
9	الثدي THE BREAST	4-2
9	تشريح الثدي Anatomy of the breast	1-4-2
11	نمو الثدي Breast development	2-4-2
11	الهormونات الجنسية وتأثيرها على الثدي The effect of sex hormone on the breast	3-4-2
13	سرطان الثدي Breast cancer	5-2
13	أمراضية سرطان الثدي Breast cancer pathogenesis	6-2
13	وبائية سرطان الثدي Epidemiology of breast cancer	7-2
15	مراحل سرطان الثدي Staging of breast cancer	8-2



15	المرحلة 0 (stage o)	1-8-2
15	المرحلة الأولى Stage I	2-8-2
15	المرحلة الثانية stage II	3-8-2
16	المرحلة الثالثة stage III	4-8-2
16	المرحلة الرابعة Stage IV	5-8-2
17	درجة سرطان الثدي Grading	9-2
17	أنواع سرطان الثدي TYPES OF BREAST CANCER	10-2
17	السرطان القنوي Ductal carcinoma	1-10-2
18	السرطان الفصي Lobular carcinoma	2-10-2
18	عوامل الخطورة لسرطان الثدي Risk Factors for Breast Cancer	11-2
18	عوامل وراثية Genetic factors	1-11-2
18	الجينات الكابتة للورم (المثبطة للنمو) : tumor suppressor genes (growth inhibitory)	1-1-11-2
19	بروتين قاصم الورم الرئيسي p53 a key tumor suppressor :	1-1-1-11-2
19	genes (Breast cancer gene 1 and 2) BRCA2 , BRCA1	2-1-1-11-2
19	الجينات المسرطنة ONCOGENES	2-1-11-2
20	هرمونات داخلية Endogenous hormones	2-11-2
20	هرمون الاستروجين (E2) Estrogen hormone	1-2-11-2
22	الاستروجين وسرطان الثدي Estrogen and breast cancer	2-2-11-2
22	هرمون الحليب Prolactin hormone	3-2-11-2
23	سرطان الثدي وهرمون الحليب Prolactin and breast cancer	4-2-11-2
23	هرمون الشحمون الخصوي TESTOSTERONE HORMONE	5-2-11-2

24	Testosterone سرطان الثدي وهرمون الشحمون الخصوي and breast cancer	6-2-11-2
24	Exogenous hormones هرمونات خارجية	3-11-2
24	Reproductive factors عوامل تكاثريّة	4-11-2
26	Lifestyle factors عوامل نمط الحياة	5-11-2
26	Treatment of breast cancer علاج سرطان الثدي	12-2
26	Surgery التدخل الجراحي	1-12-2
27	Radiotherapy العلاج الإشعاعي	2-12-2
27	Systemic treatment العلاج الجهازى	3-12-2
27	Chemotherapy العلاج الكيماوي	1-3-12-2
28	Targeted therapy العلاج المستهدف	2-3-12-2
28	Endocrine treatment علاج الغدد الصماء	3-3-12-2
29	ovarian expression قمع أو كبح المبيض	1-3-3-12-2
29	Aromatase inhibitors مثبطات الاروماتيز	2-3-3-12-2
30	Oestrogen and مستقبلات الاستروجين والبروجيسترون progesterone receptors	13-2
30	The oestrogen receptor مستقبلات هرمون الاستروجين	1-13-2
32	Endocrine treatment العلاج أّصمى بواسطة التاموكسيفين with Tamoxifen	14-2
32	Tamoxifen تعريف التاموكسيفين	1-14-2
33	History تاريخ العقار	2-14-2
33	Mechanism of action آلية عمل العقار	3-14-2
33	Clinical use الاستخدام السريري للعقار	4-14-2
33	Resistance to tamoxifen المقاومة لعقار التاموكسيفين treatment	5-14-2
34	The metabolism عملية الايض	6-14-2
34	The metabolism of drugs ايض الدواء او ازالة السمية detoxification	1-6-14-2
35	The metabolism of tamoxifen ايض التاموكسيفين	2-6-14-2

39	The genetic influences on tamoxifen metabolism التأثير المورثي على ايض التاموكسيفين	7-14-2
39	Cytochrome P450 السايٲوكروم	1-7-14-2
39	Cytochrome P450 تعريف السايٲوكروم	1-1-7-14-2
39	cytochrome P450 تاريخ وتسمية	2-1-7-14-2
39	cytochrome P450 التعدد الوراثي ل	3-1-7-14-2
42	metabolic gene of tamoxifen المورثات المسؤولة عن ايض عقار التاموكسيفين	2-7-14-2
42	Cytochrome P 450 2 D 6 (<i>CYP 2D6</i>)	1-2-7-14-2
44	: Cytochrome P 450 2 B 6 (<i>CYP 2B 6</i>)	2-2-7-14-2
44	Cytochrome P 450 <i>CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7</i>	3-2-7-14-2
46	Cytochrome P450 <i>CYP2C19,CYP2C9</i>	4-2-7-14-2
	الفصل الثالث MATERIALES AND METHODS المواد وطرق العمل	
47	: Materials and Instrument الأجهزة و المواد	1-3
47	:Instrument الأجهزة	1-1-3
48	Chemical materials المواد الكيماوية	2-1-3
49	: Study Design تصميم الدراسة	2-3
49	: Study Groups مجموعتي الدراسة	3-3
49	مجموعة مرضى سرطان الثدي	1-3-3
50	مجموعة الأصحاء	2-3-3
50	: Methods طرائق العمل	4-3
50	:Collection of blood samples جمع عينات الدم	1-4-3
50	:Physiological study الدراسة الوظيفية	2-4-3
50	Measurement of Estaradiol قياس هرمون الاستراديول	1-2-4-3

	E2 hormone	
52	Measurement of prolactin قياس هرمون الحليب :hormone	2-2-4-3
53	Measurement of testosterone hormone قياس هرمون الشحمون الخصوي testosterone hormone	3-2-4-3
55	:Measurement of albumin قياس مستوى الألبومين	4-2-4-3
56	:Measurement of fibrinogen قياس الفايبرينوجين	5 -2-4 -3
56	:Measurement of globulin قياس مستوى الكلوبولين	6-2-4-3
57	:Total cholesterol الكوليستيرول الكلي	7-2-4-3
58	Measuring of LDL- قياس البروتين الدهني منخفض الكفاءة - :CHOLESTEROL	8-2-4-3
60	Measurement of HDL قياس البروتين الدهني عالي الكثافة :HDL	9-2-4-3
61	Measurement alkaline phosphate (ALP قياس إنزيم :)	10-2-4-3
61	Measurement of gamma glutamyltransferase (GGT) or Y GT قياس إنزيم glutamyltransferase (GGT) or Y GT	11-2-4-3
61	Measurement of Aspartate transaminase قياس إنزيم (AST)	12-2-4-3
62	Measurement of Alanine aminotransferase (ALT) قياس إنزيم aminotransferase (ALT)	13-2-4-3
62	Measurement of lactate dehydrogenase قياس إنزيم :(LDH)	14-2-4-3
63	: Molecular study الدراسة الجزيئية	3-4-3
63	Isolation of genomic DNA عزل الحامض النووي منقوص الأوكسجين :genomic DNA	1-3-4-3
65	Estimation of DNA DNA تقدير أو قياس	2-3-4-3

	:concentration	
65	:Agarose gel electrophoresis الترحيل الكهربائي	3-3-4-3
66	:PCR master mix preparation PCR تحضير مزيج	4-3-4-3
68	Restriction fragment length (RFLP) تقنية : polymorphism	5-3-4-3
68	:CYP2D6 gene المورث	1-5-3-4-3
69	:CYP3A4 gene المورث	2-5-3-4-3
69	:CYP2A5 gene المورث	3-5-3-4-3
70	:Statistical analysis التحليل الإحصائي	5-3
	الفصل الرابع النتائج Results	
71	pathogenesis of breast cancer أمراضية سرطان الثدي :	1-4
71	: Age العمر	1-1-4
72	Age at menarche تاريخ بدء الدورة الشهرية (البلوغ)	2-1-4
72	: Marital Status الحالة الاجتماعية	3-1-4
73	: The age of marriage عمر الزواج	4-1-4
74	: Type of lactation نوع الرضاعة	5- 1-4
75	: Family history التاريخ العائلي	6-1-4
76	: Physiological Study الدراسة الوظيفية	2-4
76	: Estradiol hormone (E ₂) هرمون الاستراديول	1-2-4
77	: PRL Prolactin hormone هرمون الحليب	2-2-4
77	Testosterone hormone هرمون الشحمون الخصوي	3-2-4
78	Aspartate aminotransferase إنزيمات الكبد 4-2-4 , Alanine aminotransferase (ALT) إنزيم (AST), , Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) إنزيم lactate إنزيم (Alkaline Phosphate ALP) , إنزيم , dehydrogenase (LDH-5)	4-2-4

79	الألبومين Albumin :	5-2-4
79	الكلوبولين Globulin :	6-2-4
80	الفايبرينوجين Fibrinogen :	7-2-4
80	الكولستيرول الكلي Total cholesterol :	8-2-4
81	البروتين الدهني منخفض الكثافة Low density LDL lipoprotein	9-2-4
81	البروتين الدهني مرتفع الكثافة High density HDL lipoprotein	10-2-4
82	الدراسة الجزيئية : molecular study	3-4
82	دراسة النمط الوراثي للمورث Cytochrome P 450 2 D6 : (CYP2D6*4)	1-3-4
82	تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase chain :reaction	1-1-3-4
82	تحليل ناتج البلمرة المتسلسل باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism (RFLP) للمورث : CYP2D6*4	2-1-3-4
84	دراسة النمط الوراثي للمورث (Cytochrome P 450 3A4) : (CYP3A4*1B)	2-3-4
84	تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase chain :reaction	1-2-3-4
85	تحليل ناتج البلمرة المتسلسل باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism (RFLP) للمورث : CYP3A4*1B	2-2-3-4
86	دراسة التنميط الوراثي للمورث Cytochrome P 450 3A4 : (CYP3A5*3)	3-3-4
86	تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase chain :reaction	1-3-3-4
87	تحليل ناتج البلمرة التسلسلية باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism (RFLP) للمورث	2-3-3-4

	:CYP3A5*3	
	الفصل الخامس المناقشة Discussion	
89	أمراضية سرطان الثدي :Pathogenesis of breast cancer	1_5
89	العمر AGE :	1-1-5
90	تاريخ بدء الحيض (البلوغ) . Age at menarche :	2-1-5
91	الحالة الاجتماعية : Marital Status :	-3-1-5
92	عمر الزواج : The age of marriage :	4-1-5
93	نوع الرضاعة : Type of lactation :	5-1-5
93	التاريخ العائلي : Family history :	6-1-5
94	الدراسة الوظيفية : Physiological study :	2-5
	هرمون الاستراديول (E ₂) Estradiol hormone :	1-2-5
95	هرمون الحليب : Prolactin hormone :	2-2-5
96	هرمون الشحمون الخصوي : Testosterone hormone :	3-2-5
97	إنزيمات الكبد : Aspartate aminotransferase (AST), إنزيم Alanine aminotransferase (ALT), إنزيم Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), إنزيم Alkaline Phosphate (ALP), إنزيم lactate dehydrogenase (LDH-5)	4-2-5
99	الألبومين Albumin :	5-2-5
100	الكلوبيولين Globulin :	6-2-5
100	الفايبرينوجين Fibrinogen :	7-2-5
101	الكوليستيرول الكلي , البروتين الدهني منخفض الكثافة , والبروتين الدهني عالي الكثافة Low density LDL , Total cholesterol , : High density lipoprotein HDL , lipoprotein	8 -2 -5
103	الدراسة الجزيئية : molecular study :	3-5
103	المورث (CYTOCHROME P 450 2D6)	1-3-5

	: <i>CYP2D6*4</i>)	
106	CYTOCHROME P 450 <i>CYP3A4*1B</i> , المورثات : <i>CYP 3A5*3</i>	4-2-3-5
109-108	الاستنتاجات والتوصيات Conclusions & recommendations	
153 -110	المصادر References	

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان	الجدول
14	السرطانات العشرة الشائعة في العراق لعام 2010 حسب مجلس السرطان في العراق (لكل 100,000 نسمة)	(1-2)
41-40	يبين التعدد الوراثي لcytochrome P450	(2-2)
42	يبين توزيع اكثر الانواع المهمة للجينات المسؤلة عن ايض الادوية وترددتها في بعض الأعراق	(3-2)
47	الأجهزة Instrument:	1-1-3
49-48	المواد الكيميائية Chemical materials	2-1-3
71	التوزيع لمجموعي مرضى سرطان الثدي و الأصحاء حسب الفئات العمرية	(1-4)
72	توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب البلوغ	(2-4)
73	توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب الحالة الاجتماعية	(3-4)
74	توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب عمر الزواج	(4-4)
75	توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب نوع الرضاعة	(5-4)
76	توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب التاريخ العائلي للإصابة	(6-4)
76	مستوى هرمون الاستراديول E2 (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(7-4)
77	مستوى هرمون الحليب Prolactin (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(8-4)
77	مستوى هرمون الشحمون الخصوي Testosterone (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(9-4)
78	مستوى إنزيمات الكبد U/I بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(10-4)

79	مستوى Albumin (g/dl) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(11-4)
79	مستوى Globulin (g/dl) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(12-4)
80	مستوى Fibrinogen (g/l) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(13-4)
80	يبيّن مستوى الكولستيرول الكلي mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(14-4)
81	يبيّن مستوى البروتين الدهني منخفض الكثافة mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(15-4)
81	يبيّن مستوى البروتين الدهني مرتفع الكثافة mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء	(16-4)
83	يبيّن توزيع النمط الوراثي للمورث <i>CYP2D6*4</i> لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(16-4)
85	يبيّن توزيع النمط الوراثي للمورث <i>CYP3A4*1B</i> لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء.	(17-4)
87	يبيّن توزيع النمط الوراثي للمورث <i>CYP3A5*3</i> لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(18-4)
105	يبيّن توزيع عدد من الليلات الرئيسية للمورث <i>CYP2D6</i>	(3-5)

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان	الشكل
6	يبين نشاط المستقبلات على الغشاء البلازمي	(1-2)
7	يبين نشاط المستقبلات الداخل خلوية	(2-2)
10	تشریح الثدي	(3-2)
21	بناء هرمون الاستروجين وتحويله إلى الاستراديول	(4-2)
31	عملية تنشيط مستقبلات الاستروجين	(5-2)
35	عمليات التحول والطرح للمواد الداخلة للجسم	(6-2)
38	المسار الايضي للتاموكسيفين	(7-2)
82	صورة الترحيل الكهربائي لنتاج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP2D6*4</i>	(1-4)
84	تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP2D6*4</i> بواسطة إنزيم التقييد <i>BstNI</i> لمجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(2-4)
84	صورة الترحيل الكهربائي لنتاج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP 3A4*1B</i>	(4-4)
86	تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP3A4*1B</i> بواسطة إنزيم التقييد <i>MboII</i> لمجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(5-4)
86	صورة الترحيل الكهربائي لنتاج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP 3A5*3</i>	(6-4)
88	تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث <i>CYP3A5*3</i> بواسطة إنزيم التقييد <i>BseMII</i> لمجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء	(7-4)

قائمة المختصرات

المصطلح	الرمز
4-hydroxy-tamoxifen	4-OH
activation function1 & 2	AF1 &AF2
adenosine triphosphate	ATP
Aromatase inhibitors	AIs
American Joint Committee on Cancer	AJCC
alkaline phosphate	ALP
Activated protein	AP1
adenomatous polyposis coli gene	APC
Bromocresol green	BCG
Bovine serum albumin	BSA
genes (Breast cancer gene 1 and 2	<i>BRCA1</i> and <i>BRCA2</i>
checkpoint homolog gene	<i>CHEK-2</i>
Cyclic adenosine diphosphate	cAMP
cyclophosphamide, methotrexate, fluorouracil	CMF
Cytochrome P 450 2 B 6 :	CYP 2B 6
Cytochrome P450 2C 9, 19	cyp2c19 , cyp2c9
Cytochrome P 450 2 D 6	CYP2D6
Cytochrome P 450 3A 4,5,7	CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7
Cytochrom P450 genes	<i>CYP</i> genes
Ductal carcinoma in situ	DCIS
Dehydrotestosterone	DHT
Dehydroepiandrosterone - sulfate	DHEA-S
Deoxyribonucleic acid	DNA

N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium	DSBmT
Estradiol hormone	E2
Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group	EBCTCG
ethylene diamine tetra acetic acid	EDTA
epidermal growth factors	EGF
extensive metabolizer	EM
Estrogen receptors	ER
estrogen sulfotransferase	EST
fibroblast growth factors	FGF
Follicle stimulating hormone	FSH
gamma glutamyltransferase	GGT , γ GT
gonadotropin-releasing hormone	GnRH
glutathione oxidase transferase	GOT
glutathione pyruvate transferase	GPT
guanosine diphosphate	GDP
guanosine triphosphate	GTP
hydrogen peroxide	H ₂ O ₂
Human chorionic gonadotropin	hCG
High density cholesterol	HDL
human epidermal growth factor receptor 2	<i>her2</i>
pituitary human growth hormone	hGH
horseradish peroxidase	HRP
hydroxysteroid dehydrogenase	HSD
Invasive Ductal Carcinoma	IDC
Insulin like growth factor	IGF
Invasive Lobular Carcinoma	ILC
intermediate metabolizer	Im
Lobular Carcinoma In situ	LCIS
lactate dehydrogenase	LDH

Low density cholesterol	LDL
Luteinizing hormone	LH
messenger ribonucleic acid	mRNA
mitogen-activated protein	MAP
morpholino-ethane-sulfonic acid	MES
Myelocytomatosis viral oncogene homologue	<i>Myc gene</i>
Nucleotide adinophosphate	NADPH
National Comprehensive Cancer Network	NCCN
N-desmethyldamoxifen	N-DMT
neurofibromatosis type 1 gene	NF1
ovarian surface epithelium	OSE
Polymerase chain reaction	pcr
poor metabolizer	pm
Progesterone receptors	PR
Prolactin hormone	PRL
protein kinase C	PKC
Retinoblastoma gene	RB1
restriction fragment length polymorphism	RFLP
S-adenosylmethionine	SAM
Single nucleotide polymorphism	SNP
Statistical package for society science	SPSS
steroid sulfatase	STS
tetramethylbenzidine	TMB
Tumor size, lymph node, metastasis	TNM
tumor suppressor protein	TP53
thyroid-releasing hormone	TRH
UDP-glucuronosyltransferases	UGTs
Union for International Cancer	UICC
ultrarapid metabolizer	UM

Vascular endothelial growth factor	VEGF
World Health Organization	WHO

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

INTRODUCTION

يعرف مرض السرطان بأنه نمو غير طبيعي للخلايا التي تتكاثر بشكل غير مسيطر عليه والذي قد يؤدي إلى الموت أحيانا ويشكل نسبة خمس بالمائة من الوفيات في البلدان الصناعية الغربية و يمكن أن يصيب السرطان أي شخص و تزداد نسبته عند التقدم بالعمر , نمط الحياة, والملوثات البيئية (Panno,2005) .

وهناك عوامل أخرى قد تؤدي إلى الإصابة إذ تكون عوامل خارجية مثل (المواد الكيميائية, الإشعاع, والتدخين) أو عوامل داخلية مثل (الطفرات الوراثية, الهرمونات, والظروف المناعية) وقد تتواكب هذه العوامل مع بعض لحدوث واستمرار السرطان (Schulz,2005).

يعد السرطان مشكلة صحية رئيسية تشمل جميع أرجاء العالم و سبب السرطان بوفاة 8.2 مليون حالة حول العالم في العام 2012 متمثلة بسرطان الرئة 1.59 مليون حالة , سرطان الكبد 745000 حالة , سرطان المعدة 723000 حالة , سرطان القولون والمستقيم 694000 حالة , سرطان الثدي 521000 حالة وسرطان المريء 400000 حالة بالإضافة إلى 32.6 مليون يتعايشون مع مرض السرطان ومن المتوقع أن تزداد نسبة الإصابة بسرطان الثدي خلال العقدين القادمين (IARC ,, 2012) .

ازدادت حالات الإصابة بمرض السرطان حيث سجل 31 حالة لكل 100.000 فرد من عام 1991 إلى 3464 حالة لكل 100.000 حالة في عام 2010 في العراق (Iraqi Cancer Registry ,, 2010) .

أما سرطان الثدي فيعرف بأنه نمو غير طبيعي لخلايا الثدي و يظهر في البداية على هيئة عقدة (ورم) ويمكن أن ينتشر إلى خارج الثدي إلى العقد اللمفية الابطية أو العضلات الصدرية وغيرها وتنمو الخلايا بشكل غير مسيطر عليه و سريع وقد يصيب كلا الجنسين (Chlewbowski et al , 2010) .

المقدمة

يقسم ورم الثدي إلى: (American Cancer Society, 2009)

- أورام الثدي الحميدة Benign tumors: وهذا النوع من الورم الذي يتميز بنمو الخلايا بشكل غير طبيعي إلا أنه غير منتشر .
- أورام الثدي الخبيثة Malignant tumors: ويتميز هذا النوع بنمو غير طبيعي في الخلايا بالإضافة لانتشارها إلى الأنسجة المحيطة بالثدي.

يشكل سرطان الثدي عبئاً كبيراً في كل من البلدان المتقدمة والنامية ويعد أكثر أنواع السرطانات انتشاراً بين النساء إذ يشكل 18 % من مجموع أنواع السرطانات التي تصيب النساء فهو يصيب 40% للنساء فوق سن الأربعين , 30% للنساء فوق سن الثلاثينات , و2% للنساء فوق سن العشرين ويشكل نسبة 1% للذكور وفي عام 2008 سجلت 1.4 مليون حالة من سرطان الثدي و460.000 حالة من الوفيات في الولايات المتحدة الأمريكية (Anders Ferlay et al., 2010 ; Anders et al., 2009).

هنالك العديد من العوامل التي تسبب سرطان الثدي مثل : 1- العوامل الوراثية : حوالي (5-10 %) من الحالات قد تكون مسبباتها وراثية التي تكون من خلل جيني أو طفرة وراثية قادمة مباشرة من الأبوين 2- العوامل التكاثرية والهرمونات الداخلية المنشأ : تعتبر من المسببات الرئيسية لسرطان الثدي , 3- العوامل البيئية : التي تشمل التعرض (الإشعاع , المواد الكيميائية) وايضا السمنة,التدخين,الخمول الجسدي, الكحول , والحالة النفسية (American cancer society 2009 ; Veronesi et al ., 2005).

يعتمد سرطان الثدي كثيراً على الهرمونات الذاتية المنشأ وهي الناتجة عن المبيض منها الاستروجين وكذلك مدة التعرض لهذه الهرمونات كأن يكون البلوغ المبكر والتأخر بسن اليأس (Park,2000), بالإضافة إلى إن عدم الانجاب , تأخر الحمل الأول , قلة عدد الأطفال , هرمون خارجي , حبوب منع الحمل , والعلاج بالهرمونات البديلة كل هذه العوامل تزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي (Kerlikowske et al.,2005).

أظهرت الدراسة إن الزيادة في هرمون الاستروجين يسبب الإصابة بسرطان الثدي (Bulun et al.,2005).

المقدمة

وبذلك فإن استهداف هرمون الاستروجين يعتبر علاجاً فعالاً لمرض سرطان الثدي وهناك عدة عقارات لعلاج زيادة هرمون الاستروجين واستهداف مستقبلات الاستروجين في الثدي منها عقار التاموكسيفين (Gnant *et al* , 2009).

والتاموكسيفين من الأدوية التي تستهدف مستقبلات الاستروجين في الثدي إلا إن التاموكسيفين يكون ذا ألفه ضعيفة للارتباط بهذه المستقبلات لذلك يجب أن يؤيض إلى المركبات الأكثر فاعلية (Jin *et al* ., 2005) ومن أهم مركباته الايضية 4-hydroxy tamoxifen (OH-tamoxifen) و 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen (endoxifen) (Johnson *et al.*, 2004).

يعتبر endoxifen من أكثر المركبات الفعالة إذ يكون تركيزه 6-12 أضعاف تركيز OH-tamoxifen4 و ألفة الاندوكسيفين مع OH-4 للارتباط بالمستقبلات متساوي ولكن تركيز الاندوكسيفين هو الأعلى في المصل بذلك يكون المركب الأكثر أهمية وفاعلية (et al ., 2003). (Stearns

ويتم ايض التاموكسيفين في الكبد بمشاركة العائلة الإنزيمية cytochrome p 450 بمشاركة بعض الإنزيمات المهمة والتي تشفر من قبل الجينات *CYP3A4* , *CYP3A5* , و *CYP2D6* وان أهم العمليات الايضية التي تعمل على تحويل التاموكسيفين إلى المركبات الايضية هي demethylation و hydroxylation , وان N-methylation التي تتم عن طريق الإنزيمات المتشابهة *CYP3A4* , *CYP3A5* (Gardiner & begg .,2006).

يتحول N-desmethyl tamoxifen الى الاندوكسيفين المركب الفعال عن طريق 4 hydroxylation بواسطة *CYP2D6* وبذلك يعد *CYP2D6* الأكثر أهمية بين البقية في عملية ايض التاموكسيفين (Johnson *et al* ., 2004).

الهدف من الدراسة :

نظراً لأهمية الجينات الايضية (*CYP2D6*, *CYP3A5* , *CYP3A4*) ودورها في ايض التاموكسيفين الذي يعد العقار الأمثل لعلاج سرطان الثدي المعتمد على الاستروجين فقد تناولت الدراسة الحالية الأهداف الآتية :

دراسة النمط الوراثي للجينات الايضية (*CYP2D6*, *CYP3A5* , *CYP3A4*) وتأثيرها على ايض عقار التاموكسيفين .

المقدمة

• دراسة تأثير عقار التاموكسيفين على مستوى الهرمونات (الاستروجين , البرولاكتين , والتستوستيرون) وكذلك على مستوى انزيمات الكبد والتي تعطي صورة عن حالة الكبد (Alanine aminotransferase (ALT) , Aspartate aminotransferase (AST) , Alkaline Phosphate (ALP) Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) , lactate dehydrogenase (LDH-5) و على مستوى بعض المعايير الكيموحيوية مثل (billirubin, albumin, globulin, and fibrinogen). لكل من النساء المصابات بسرطان الثدي ومجموعة الأصحاء .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURE REVIEW

استعراض المراجع

LETRITURE REVIEW

1-2 السرطان Cancer :

يعرف مرض السرطان بأنه نمو الخلايا بشكل غير طبيعي وغير مسيطر عليه إذ يبدأ بخلية واحدة تفقد السيطرة على عملية النمو والتكرار العادية في الدورة الخلوية وقد يصيب مختلف الأنسجة والأعضاء (American Institute for Cancer Research,2007).

يعد السرطان المسبب الرئيسي للوفاة في جميع أنحاء العالم إذ يكون مسؤولاً عن 7.6 مليون حالة وفاة أو ما يقارب 13 % من الوفيات في عام 2008 وأن 70% منها كان في البلدان النامية ومن المتوقع أن يرتفع معدل الوفيات إلى 13.1 مليون حالة وفاة سنوياً بحلول 2030 (WHO,2012).

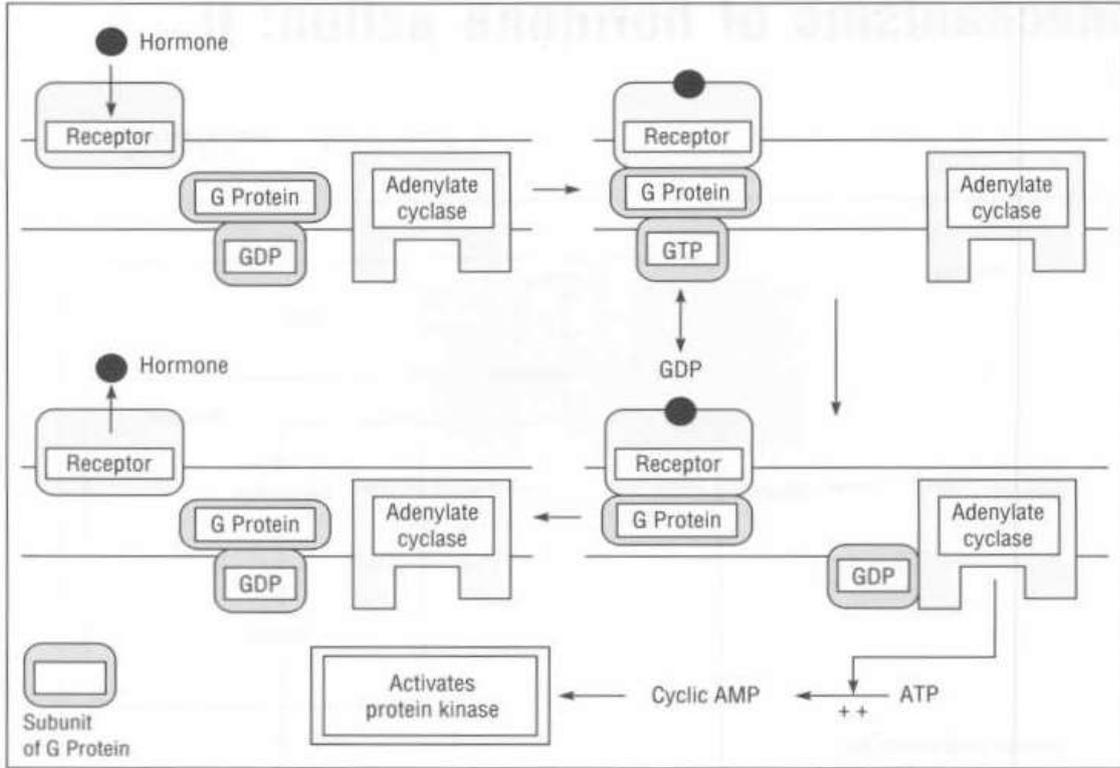
يبدأ النمو غير الطبيعي لجميع أنواع السرطانات بخلية واحدة تفقد السيطرة على الإصلاح والنمو وتنتقل إلى باقي الخلايا فهو مرض معقد يشمل العديد من التغييرات في وظائف الخلية والتي تؤدي بالنهاية إلى حدوث أورام خبيثة , أن نمو الخلايا غير الطبيعي (neoplasia) هو نقطة النهاية البيولوجية للمرض والذي يسبب استئصال المرض انتقال الخلايا السرطانية للأنسجة المحيطة والأعضاء البعيدة ومن ثم الوفاة . (Jemal., et al ., 2011)

2-2 التأشير الخلوي Cell Signaling :

أن السلوك الخلوي من نمو و تمايز للخلايا يخضع إلى عوامل النمو growth factor والتي تكون ذات طبيعة بروتينية ومنها الهرمونات والتي تحتوي مستقبلات على نوعين : 1- مستقبلات على غشاء الخلية : إذ يتموضع المستقبل على غشاء الخلية ويرتبط عامل النمو بالمستقبل الذي بدوره يفعل النظام البروتيني G protein والذي يسمى guanine nucleotide- binding proteins وهي عبارة عن عائلة بروتينية التي تعتبر المفتاح للنشاط والتفاعلات الجزيئية داخل الخلية والذي يعمل على نقل الإشارة الخلوية من خارج الخلية إلى داخلها وان هذا البروتين يستخدم النظام الانزيمي (GTP) guanosine triphosphate الذي يحوله إلى adenosine diphosphate (GDP) وان G protein يعمل على تنشيط الإنزيم الداخلي adenylyate cyclase الذي يحول adenosine trophosphate (ATP) إلى adenosine

استعراض المراجع

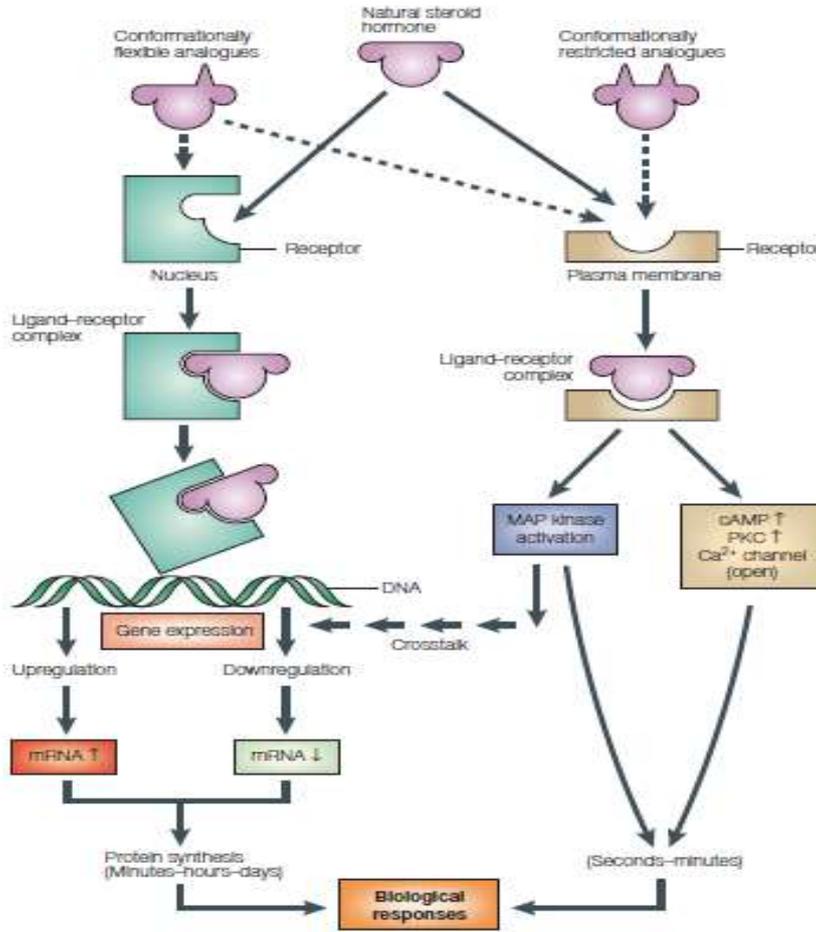
المفتاح الرئيسي والأساسي في نقل الاشارات الخلوية ونمو الخلية (Lawrence ., 1989) كما في الشكل (1-2)



شكل (1-2) يبين نشاط المستقبلات على الغشاء البلازمي (Lawrence ., 1989)

أما النوع الثاني من المستقبلات الهرمونية هي المستقبلات الداخلة خلوية : إذ يستطيع الهرمون المرور عبر الغشاء الخلوي إلى داخل الخلية عن طريق الانتشار أو باستخدام حامل بروتيني ويكون المستقبل على السطح الخارجي لغشاء النواة من أمثلتها الهرمونات الجنسية فيرتبط الهرمون مباشرة بالمستقبل ومعقد هرمون - مستقبل يرتبط بمواقع الاستنساخ على شريط ال DNA وبذلك يفعل استنساخ ال mRNA وبالتالي إنتاج البروتين وهناك بعض الهرمونات تمتلك نوعين من المستقبلات : المستقبلات على غشاء الخلية و مستقبلات على غشاء النواة (et al ., 2004) كما في الشكل (2-2)

استعراض المراجع



شكل (2-2) يبين نشاط المستقبلات الداخل خلوية (Anthony *et al.* , 2004)

mRNA , mitogen-activated protein = MAP , cyclic adenosine diphosphate = cAMP
protein kinase C = PKC , messenger RNA =

أهم الإشارات بين الخلية هي الإشارات الخارجية الإفراز paracrine معظم الخلايا السرطانية تعمل على بعث هذه الإشارات مشيرة إلى قدرة هذه الخلايا على إنتاج عوامل النمو ومما يساهم في الاستجابة لهذه الإشارات على وجود المستقبلات المناسبة على غشاء الخلايا إذ تمتلك هذه الإشارات على حلقة محفزة تفسر قدرة الخلايا السرطانية على النمو ذاتيا بعيدة عن الخلايا الطبيعية أولى العوامل المساعدة على نمو الخلايا السرطانية الهرمونات المتعددة الببتيد المحبة للدهون مثل الستيرويدات وهرمونات الغدة الدرقية وأنّ العديد من العلاجات تستهدف هذه الهرمونات مثل عقار التاموكسيفين الذي يستهدف مستقبلات هرمون الاستروجين أي أنّ نمو الورم يعتمد بذلك على هرمون الاستروجين (Delaunay *et al.* , 2000) .

استعراض المراجع

وجد أنّ تكون السرطان يخضع إلى عدة تغيرات كما أشار إليها (2004) Gabriel

هي:

1-2-2 الاكتفاء الذاتي في إشارات النمو Self-sufficiency in growth signals :

أنّ الخلايا الطبيعية تتطلب الكثير من عوامل النمو إلا أنّ الكثير من الخلايا السرطانية تستطيع إنتاج الإشارات والعوامل الخاصة بها وتوليف الاستجابة كذلك .

2-2-2 انعدام الحساسية لإشارات التثبيط Insensitivity to inhibitory signals (antigrowth):

إشارات عديدة تساعد الخلايا عند حدوث نمو غير طبيعي على تثبيط هذا النمو عن طريق كبح بروتين النمو غير الطبيعي أو الورم من خلال إيقاف الدورة الخلوية ومن ثم إيقاف الانقسام وتكوين خلايا جديدة إلا أنّ هذه العملية في الخلايا السرطانية تتعطل تؤدي إلى انعدام السيطرة على الدورة الخلوية وبذلك يزيد من تكاثر الخلايا . وتتميز كذلك بالتهرب من موت الخلايا المبرمج apoptosis اذ يكون موت الخلايا المبرمج موجود في جميع خلايا الجسم إلا أنّ الخلايا السرطانية تعمل على مقاومة هذه العملية .

3-2-2 إمكانية غير محدودة للاستنساخ Limitless replicative potential :

أثبتت أبحاث الزرع النسيجي إلى أنّ الخلايا الطبيعية لها قدرة على الاستنساخ (60 - 70 %) بعدها تتوقف عن النمو إلا أنّ الخلايا السرطانية لها إمكانية غير محدودة.

4-2-2 تكوين أوعية دموية جديدة Sustained angiogenesis :

يتميز الورم بقدرته على تغيير التوازن بين المحفزات والمثبطات لنمو وتكوين الأوعية الدموية الجديدة من خلال التغيير في التعبير المورثي مثال ذلك زيادة تعبير عامل نمو بطانة الأوعية الدموية (VEGF) vessels growth factor .

5-2-2 غزو الأنسجة والانبثاث Tissue invasion and metastasis :

معظم الوفيات تحدث بسبب انتشار كتلة الورم الأولية إلى الأعضاء والأنسجة المجاورة .

3-2- التصنيف CLASSIFICATION :

يصنف الورم من حيث السلوك إما أن يكون حميدا أو خبيث كما جاء في (WHO

(2003)

1-3-2 الأورام الحميدة Benign tumors: وهي الأورام التي تنمو ببطء إلا أنها

تكبر بالحجم مما يسبب في الضغط على الأعضاء المجاورة وتكون خطورتها قليلة نسبيا إلا إذا نمت في الأعضاء المحددة والضيقة كالججمة وعندها يجب استئصاله وقد تتحول هذه الأورام في بعض الأحيان إلى أورام خبيثة .

2-3-2 الأورام الخبيثة Malignant tumors :

تتميز بنموها السريع, غزو الأنسجة المحيطة, فضلا عن استهداف أعضاء بعيدة

وتتميز أيضا بتكوين أورام ثانوية صغيرة بانفصالها عن الكتلة الأم واستقلاليتها.

4-2 الثدي: THE BREAST

1-4-2 تشريح الثدي Anatomy of the breast كما أشار إليه (Jones & Lopez

:.,2006)

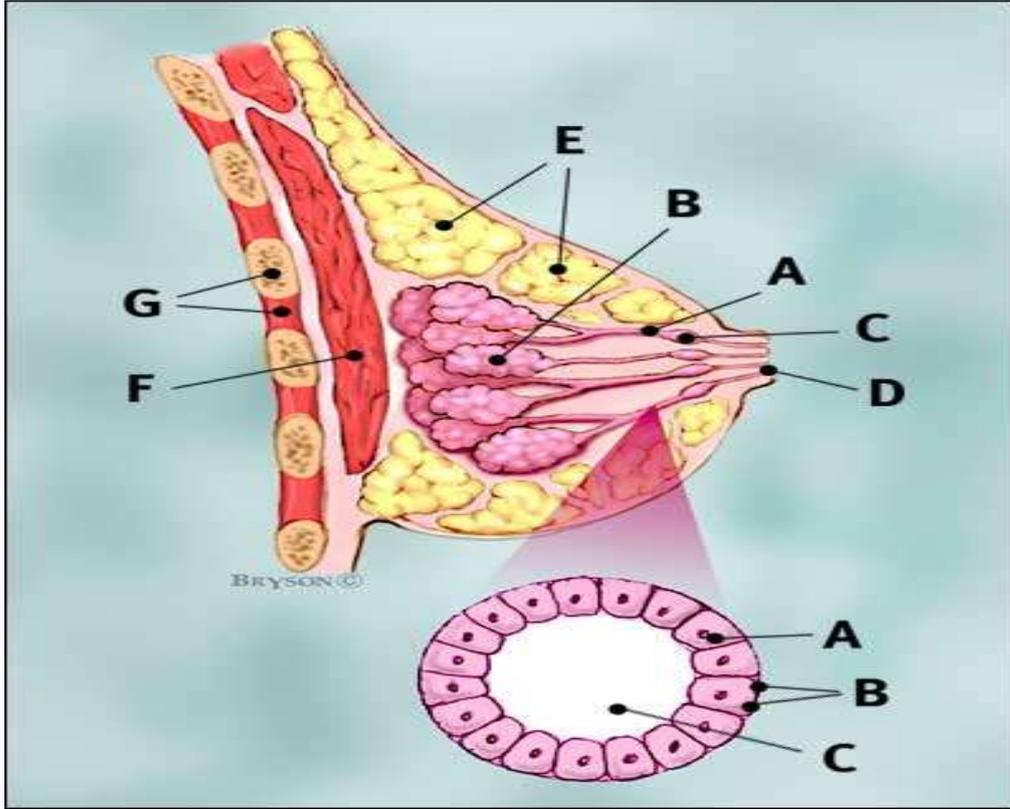
الغدة الثديية هي زوج من الأعضاء التي يغطيها الجلد كما في سائر الجسد وتعتبر غدة ذات إفراز خارجي وتوجد في قاعدة كل ثدي عضلة صدرية (pectoralis muscle) وتقع الغدة الثديية عند مستوى الضلع الثالث إلى السابع , يحاط الثدي من جميع الجهات بالأنسجة الدهنية (عدا الحلمة) ويختلف شكل الثدي باختلاف توزيع الدهون والأنسجة الغددية وكميتها إذ تحتوي كل جهة من الثدي على الأنسجة الغددية التي تكون موزعة (15 -20) فص وتفصل بين الفصوص الأنسجة الدهنية والرباطية شكل (2- 3) , توفر الأنسجة الرابطة الدعم للثدي ويميل إلى أن يكون أقل فاعلية في النساء الأكبر سنا.

تشريح الثدي من الخارج:

استعراض المراجع

- 1- الحلمة Nipple : وهي الطرف المدبب من الثدي وهي المكان الذي يخرج منه الحليب وتكون أما بارزة أو مسطحة.
 - 2- الهالة Areola : وهي المنطقة الملونة حول الحلمة والتي تكون اما دائرية او بيضوية وتكون بقطر 3-5 سم , عند الحمل قد تصبح داكنة.
- تشريح الثدي من الداخل :

- 1- الحويصلات Alveoli : وتسمى بالاسناخ , والسناخ acini هو الوحدة الوظيفية للثدي وهو مثل الكرة المجوفة ويتلقى تجهيز دموي غزير لكي يعمل على صنع الحليب كذلك لنقل الهرمونات اللازمة لنمو الاسناخ والحويصلات تجمعات تشبه عنقود العنب حيث يتم صنع الحليب وتقع عند قاعدة الثدي ويطلق على تجمع الحويصلات بالفصيصة lobule اما تجمع الفصيصات فتسمى الفص lobe.
- 2- قنات الحليب Milk ductules : هي أنابيب صغيرة أو قنوات والتي بواسطتها ينتقل الحليب من الحويصلات إلى الحلمة وعندما تتجمع القنات مع بعض تسمى بقناة الحليب.
- 3- الجيوب الناقلة للحليب lactiferous sinuses وهي أنابيب اكبر إذ يتجمع عندها الحليب قبل خروجه من الحلمة وتقع تقريبا تحت الهالة وتسمى أيضا مستودعات الحليب Milk Pools أو خزانات الحليب milk reservoirs.



شكل (2-3) يبين تشريح الثدي (Jones & Lopez, 2006)

=A = القنوات , B = الفصوص , C = تمدد جزء من القناة لاحتواء الحليب , D = الحلمة , E = الدهون , F = العضلة الصدرية الكبرى , G = جدار الصدر القفص الصدري , الجزء المكبر A = خلايا القناة , B = الغشاء القاعدي , C = التجويف مركز القناة

2-4-2 نمو الثدي Breast development :

يتميز نسيج الثدي من الأسبوع أحملي السادس ويتطور في الأسابيع الأخيرة والقنوات اللبنية مع التجويف . (Rubin ., 2008), يوجد في الأطفال حديثي الولادة براعم الثدي تستجيب لهرمونات الأم , في الإناث يتطور الثدي أكثر في مرحلة البلوغ استجابة للهرمونات الأنتوية الاستروجين والبروجستيرون النسيج الظهاري يصل إلى الحلمة وهناك يتكون طبقتان من النسيج الظهاري لتكون القنوات التي تنتشعب تباعا إلى أن تصل إلى القنوات النهائية في الفصوص . (Kumar et al ., 2008)

هذه الوحدات الفصية القنوية تتكون من النسيج الظهاري الذي يتميز إلى قنوات داخل فصية وإلى حشو السدى بين الفصوص وفي حالة النساء المرضعات يتميز أيضا إلى عنبيات إفرازية. (Rubin ., 2008)

استعراض المراجع

يزداد عدد وحجم الفصيصات خلال الحمل تدريجياً إلى أن يصل الحمل إلى نهايته فإنّ الثدي أكثره يتكون من الفصيصات ومن ثم فإنّ القنوات والفصيصات تكون مصطفة بجانب بعض وتتمايز إلى نوعين من الخلايا : خلايا جوفية مكونة للحليب وخلايا ظهارية عضلية تنقلص لإفراز الحليب أثناء الرضاعة, بعد التوقف عن الرضاعة فإنّ الثدي يتجدد إذ أنّ الفصيصات تتراجع وحجم الثدي يتقلص بالرغم من أنّ عدد الفصيصات باقى (Russo *et al.* , 2005)

يخضع نسيج الثدي إلى عدة تغييرات من نسيج ليفي أكثر عند النساء الشابات إلى أن يميل ليكون دهني أكثر عند النساء بعد سن اليأس وهذه التغييرات تكون تحت تأثير الهرمونات (Russo *et al.* , 2004) .

3-4-2 تأثير الهرمونات الجنسية على الثدي The effect of sex hormone on the : breast

تولد الإناث مع 250 حويصلة في المبيض وهناك تفاعل بين الهرمونات التي تؤثر على جسم المرأة في عدة مسارات (Arulkumaran *et al.* , 2004)

يعتقد أنّ تحت المهاد تعمل على إفراز هرمون نمو الغدة النخامية pituitary human growth hormone (hGH) يعمل على نمو الغدة النخامية وتحفيزها لبدء الحيض عند الإناث أما لاحقاً فإنّ هذا الهرمون يجمع بواسطة الاستروجين الذي يفرز من المبيض والذي يؤدي بدوره إلى إنتاج هرمون موجه الغدد التناسلية gonadotropin-releasing hormone (GnRH) تحت المهاد للغدة النخامية بعدها تنتج الغدة النخامية الهرمون المحفز للجريب follicle-stimulating hormone (FSH) وهرمون الاباضة luteinising hormone (LH) اللذين يؤثران على المبيض مما يجعل المبيض ينتج هرمون الاستروجين والبروجستيرون بذلك فإنّ هذه الهرمونات تنتظم بواسطة التغذية الاسترجاعية (Oats *et al.* , 2005) .

يعمل هرمون (FSH) على تكوين حويصلات المبيض وحويصلة واحدة تنمو أسرع من البقية التي تعمل على تكوين هرمون الاستروجين والمركبات الأولية لهرمون الاستروجين oestrone, oestradiol و oestriol , مستويات الاستروجين تنخفض في اليوم الثامن من الحيض وفي اليوم الرابع عشر يفرز هرمون (LH) الذي يعمل على تفجير الحويصلة وإحداث الاباضة , بعدها يقوم هرمون (LH) بتكوين الجسم الأصفر وبدوره ينتج هرمون البروجستيرون الذي يبلغ ذروته ما بين اليوم 12-14 من الحيض فإذا لم يحدث إخصاب في تلك المدة فإنّ هرمون

استعراض المراجع

الاستروجين والبروجستيرون ينخفضان في حوالي اليوم الثامن والعشرين وبعدها يحدث النزيف الرحمي والذي يسمى الحيض , أما إذا حدث الإخصاب فأن مستوى هرمون (FSH) ينخفض ولا يرتفع إلا بعد الولادة وكذلك يتم أنتاج هرمون (human chronic gonadotropin (hCG) بالإضافة إلى استمرار أنتاج هرمون الاستروجين والبروجستيرون (Arulkumaran et al ., 2004) .

فيما يخص هرمون الحليب فإنه موجود في جميع الإناث ويزداد أثناء مدة الحمل وأن لكل من هرمون الحليب والاستروجين مستقبلات في الثدي , بعد الولادة فأن هرمون الحليب ترتفع وهرمون الاستروجين ينخفض والحليب يفرز من الغدة النخامية وينظم عن طريق هرمون محرر هرمون الغدة الدرقية (thyroid stimulating hormone (TSH) والدوبامين إذ يعمل هرمون (TSH) على زيادة إفراز هرمون الحليب أما الدوبامين فيعمل على خفض الحليب (Clevenger .,1995) .

ينتج أيضا هرمون آخر وهو هرمون الاوكسيتوسين الذي ينتج من الغدة النخامية والذي يقوم بدور الناقل العصبي ويكون مهما أثناء الولادة إذ يعمل على توسيع الحوض وكذلك العضلات لتسهيل الولادة وله دور مهم في إفراز الحليب وكذلك يحفز هذا الهرمون عن طريق الرضاعة الطبيعية للطفل . (Oats et al ., 2005)

إذن فالهرمونات وعوامل النمو المعينة تلعب دورا مهما في الثدي كما هو موضح أعلاه فأن نسيج الثدي يقع تحت تأثير عدة هرمونات وكذلك إلى عوامل النمو منها epidermal growth factors (EGF) , fibroblast growth factors (FGF) , و insulin-like growth factors (IGF) وقد تكون الخلايا السرطانية أكثر حساسية لهذه الهرمونات والعوامل من الخلايا الطبيعية . (Salma ., 2011) .

5-2 سرطان الثدي Breast cancer :

يشكل سرطان الثدي عبئا كبيرا على صحة المرأة بشكل عام ويعد المسبب الرئيس للوفاة ويختلف معدل الإصابة بسرطان الثدي والوفيات والبقاء على قيد الحياة باختلاف البلدان وقد أشارت الإحصائيات العالمية الأخيرة إلى تزايد الإصابة بسرطان الثدي في البلدان النامية (Jemal,., et al ., 2011 ; Bray ., 2004) .

6-2 أمراضية سرطان الثدي Breast cancer pathogenesis :

استعراض المراجع

معظم حالات السرطان تحدث في البطانة الظهارية المبطنة للفصوص والقنوات النهائية ويكون خاضعا لعدة عوامل ومتغيرات وغالبا ما يوصف بالثالوث الخبيث من حيث النمو , الغزو , والانتقال . (Michael & Harvey ., 2002).

التسرطن هو ناتج عن شبكة من التغيرات المورثة بسبب طفرة في الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA فضلا عن فقدان القدرة لإعادة إصلاح الحامض النووي والطفرات سواء كانت وراثية أو مكتسبة عن طريق المواد الكيميائية والإشعاع والعوامل المساهمة في التسرطن تؤثر على المورثات المنظمة لانقسام الخلايا , تمايزها والتزويد الدموي وتوصف هذه المورثات بالمورثات القامعة oncogenes أو suppressor genes , في حالة السرطان فأن oncogenes تعمل على بدء التسرطن وتكون هي النشطة أما المورثات القامعة فتكون مثبطة ولا تستطيع كبح السرطان . (Per-Ebbe ., 2009)

7-2 وبائية سرطان الثدي : Epidemiology of breast cancer

يعد سرطان الثدي الأكثر وبائية من بين السرطانات في النساء وأن نسبة الإصابة بسرطان الثدي تزداد باستمرار ففي كل سنة 1.1 مليون من النساء في جميع أنحاء العالم يشخصون بالإصابة بسرطان الثدي و 410.000 حالة تموت من هذا المرض ويعتقد أن زيادة الإصابة بسرطان الثدي يعتمد على عدة عوامل منها الشيخوخة , التعرض للأشعة فوق البنفسجية واعتماد سلوكيات قد تسبب السرطان مثل (السمنة , وسوء النظام الغذائي والتدخين واستهلاك الكحول وغيرها) وجدت آخر إحصائية لسرطان الثدي لعامي 2011 و 2012 ففي عام 2011 230000 حالة جديدة وحوالي 241 حالة عند الرجال , أما سنة 2012 (39970) حالة وفاة حدثت في الولايات المتحدة الأمريكية (American cancer society ., 2012).

وفقا لمجلس السرطان العراقي لسنة 2010 وجد أن سرطان الثدي كإن الأكثر حدوثا بين الأمراض بنسبة 19.15 % بعدها يأتي سرطان الرئة بنسبة 8.65 % وسرطان الدم ثالثا بنسبة 7.04 % وقد ازدادت نسبة حدوث سرطان الثدي من 31 % سنة 2005 الى 37 % سنة 2010 جدول (1-2) .

جدول (1-2) السرطانات العشرة الشائعة في العراق لعام 2010 حسب مجلس السرطان في العراق (لكل

100,000 نسمة)

موقع الورم	عدد الحالات	الذكور	الإناث	النسبة المئوية
------------	-------------	--------	--------	----------------

استعراض المراجع

19.15	3464	76	3540	1- سرطان الثدي
8.65	404	1194	1598	2- سرطان الرئة والقصبات
7.04	587	715	1302	3- سرطان الدم
5.96	274	827	1101	4- سرطان المثانة
5.80	479	593	1072	5- الدماغ والجهاز العصبي
5.26	432	541	973	6- سرطان القولون والمستقيم
5.16	412	541	953	7- سرطان لا هودجكن
3.98	331	404	735	8- سرطان الجلد
3.20	251	341	592	9- سرطان المعدة
2.78	223	291	514	10- سرطان هودجكن
66.98	6857	5523	12380	مجموع العشرة الشائعة
100.00	9938	8544	18482	المجموع الكلي

8-2 مراحل سرطان الثدي (American Joint) : Staging of breast cancer

(Committee on Cancer, 2010).

تعتمد مراحل سرطان الثدي على حجم الورم , إذا كان نوع السرطان غازياً , أو منتشرًا إلى العقد اللمفاوية , وكذلك إذا كان منتشر خارج الثدي والغرض من معرفة مراحل السرطان هو لتنظيم مختلف العوامل المؤثرة والصفات الخاصة للسرطان في فئات معينة وذلك لأجل أن يساعد ذلك في : التشخيص , اتخاذ الإجراء المناسب للعلاج (استناداً على التشخيص والتقارير , والوصول لأفضل طريقة لعلاج سرطان الثدي وفهم أفضل للتشخيص وقد أوصت اللجنة الأمريكية للسرطان (AJCC) (2010) the American Joint Committee of Cancer والاتحاد الدولي لمكافحة السرطان Union for International Cancer Control

استعراض المراجع

((UICC)) بإتباع نظام (TNM) (حجم الورم ,إصابة العقد اللمفية , الانتشار) لتنظيم مراحل سرطان الثدي وبعد النظام معتمداً عالمياً من أجل الحصول على العلاج المناسب استناداً إلى درجة المرض (Gabriel., 2004).

1-8-2 المرحلة 0 (stage o) :

هذه المرحلة توصف عندما يكون سرطان الثدي غير منتشر مثل سرطان الاقنية في الموقع (DCIS) ductal carcinoma in situ , أي أنه يبقى في الموضع الذي بدأ منه .

2-8-2 المرحلة الأولى Stage I T1,N0,M0 :

في هذه المرحلة يبدأ سرطان الثدي بالانتشار خارج الثدي إذ يكون حجم الورم 2 سم ولا يوجد دليل على غزو العقد اللمفية إلا أنه ينتشر إلى الأنسجة القريبة إذ لا يتجاوز حجم الخلايا المنتشر فيها الورم سوى 1 ملم.

3-8-2 المرحلة الثانية stage II T1,N1,M0 , T2,N0-1,M0 :

وتقسم هذه المرحلة إلى :

• **لمرحلة الثانية Stage IIA A**

يكون الورم من نوع الغازي وعلى عدة حالات : أما لا يوجد ورم في الثدي ولكن توجد خلايا سرطانية منتشرة في العقد اللمفية (الغدد اللمفاوية تحت الذراع) , أو يكون الورم صغير بحجم 2 سم لكنه أنتشر إلى العقد اللمفية , أو يكون حجم الورم اكبر من 2 سم واصغر من 5 سم ولكنه لم ينتشر إلى العقد اللمفية الابطية .

• **المرحلة الثانية Stage IIB B**

يكون الورم غازياً أيضاً ولكن بحالات مختلفة وهي : أما يكون الورم بحجم 2 سم واصغر من 5 سم ومنتشر للعقد اللمفية , أو يكون بحجم اكبر من 5 سم ولم ينتشر إلى العقد اللمفية.

4-8-2 المرحلة الثالثة stage III any T,N2-3,M0 , 3,anyN,M0 ,

T4,anyN,M0 :وتقسم هذه المرحلة إلى :

• **Stage IIIA**

استعراض المراجع

تصف السرطان الغازي الذي يتميز : أما لا يوجد ورم في الثدي ولكنه موجود في العقد اللمفية الأبعد من العقد الابطية التي تكون قريبة من عظم الصدر , أو يكون موجود وبأي حجم وقد أنتشر إلى العقد اللمفية التي تجمعت مع بعض أو التصقت بتراكيب أخرى .

• Stage IIIB :

يكون السرطان من نوع غازي ويتميز بما يأتي : أما أن يكون بأي حجم وقد أنتشر إلى جدار الصدر أو جلد الثدي , أو يكون أنتشر إلى الغدد اللمفية التي تجمعت مع بعض أو يكون قد أنتشر إلى عظم الصدر ويكون سرطان عظم الصدر الالتهابي أخر مرحلة في Stage IIIB ويتميز : بأن جزءاً كبيراً من جلد الثدي يحمر أكثر من البقية , يتورم الثدي ويصبح دافئاً , وانتشار الورم إلى العقد اللمفية ويكون ذلك واضحاً على الجلد.

• Stage IIIC :

يكون من نوع الغازي ويتميز بما يأتي : بانتشاره إلى جدار الصدر و جلد الثدي بالإضافة إلى الغدد اللمفية فوق وتحت الترقوة وكذلك إلى العقد اللمفية تحت الإبط القريبة من الصدر.

5-8-2 المرحلة الرابعة Stage IV anyT,anyN,M1 :

النوع الغازي الذي ينتشر إلى العقد اللمفية والأعضاء الأخرى كالرئتين والدماغ والكبد والجلد والعظام ويسمى أيضاً بالمرحلة المتقدمة “advanced” و”المنتقلة” “metastatic”.

2-9- درجة سرطان الثدي Grading :

تميز من خلال تطور الخلايا السرطانية تحت المجهر ومقارنتها مع الخلايا الطبيعية وتقسّم كالاتي (Macmillan., 2012) :

• الدرجة الأولى أو المنخفضة (Grade 1 (low-grade) : تبدأ الخلايا السرطانية قريبة من الخلايا الطبيعية وتنمو ببطء شديد.

• الدرجة الثانية المعتدلة أو المتوسطة (Grade 2 (moderate or intermediate grade) : الخلايا السرطانية تبدأ طبيعية لكنها أسرع بالنمو.

استعراض المراجع

- الدرجة الثالثة أو المرتفعة (Grade 3 (high-grade) : تبدو مختلفة بالشكل وتنمو بسرعة.

10-2 أنواع سرطان الثدي : TYPES OF BREAST CANCER

تقسم كل جهة من الثدي إلى 15-20 قسم تدعى بالفصوص وكل فص يقسم إلى أجزاء اصغر تسمى بالفصيصات وترتبط الفصوص والفصيصات بواسطة أنابيب رقيقة تسمى بالقنوات وأن أكثر الأنواع انتشارا يسمى القنوي ductal cancer ويوجد في خلايا القنوات أما السرطان الذي يتكون في الفصوص فيسمى بالفصي lobular cancer (Richie. & Swanson .,2003)

1-10-2 السرطان القنوي Ductal carcinoma

يعد أكثر الأنواع شيوعا ويأتي على شكلين :

- سرطان الاقنية الغازي (invasive ductal carcinoma (IDC) :

ويمثل 55 % من مجموع حالات سرطان الثدي وفقا للإحصائيات في الولايات المتحدة الأمريكية سنة 2008 ويكون من صعب التحري عنه من الناحية الجسدية أي الفحص السريري. (Eheman *et al.*,2009)

- سرطان الاقنية الموضعي (ductal carcinoma in situ (DCIS) :

يكون بنسبة 30 – 40 % من مجموع الحالات ويعد اقل خطورة (Schnitt., 2010).

2-10-2 السرطان الفصي Lobular carcinoma

يمثل نسبة 8-14 % من حالات السرطان وتكون أسباب حدوثه غير معروفة ويزداد عند النساء بعد سن اليأس. (Arpino *et al.*,2004) ويوجد منه نوعان :

- سرطان الثدي الفصي الموضعي (lobular carcinoma in situ (LCIS)
- سرطان الفصي الغازي (infiltrating (invasive) lobular carcinoma

(ILC):

استعراض المراجع

ينتشر إلى أجزاء أخرى خارج الثدي ويكون 1 من أصل عشرة من السرطان الغازي وقد يكون صعبا في التشخيص بواسطة الأشعة لأنه يصعب عليه تكوين الكتلة الورمية (Visvanathan., 2011).

11-2 عوامل الخطورة لسرطان الثدي Risk Factors for Breast Cancer :

1-11-2 عوامل وراثية Genetic factors :

أصبح من الواضح أنّ التاريخ العائلي أهم عوامل الخطورة (McPherson *et al* 2000). ويعتقد أنّ حوالي 10 % من حالات السرطان ناجمة عن عوامل وراثية (The ., 2010). (National Human Genome Research Institute

أنّ المورثات ضرورية في دورة حياة الخلية الطبيعية إذ تكون مسؤولة عن :

- 1- التنظيم المباشر للتكاثر الخلوي (تعزيز أو إعاقة) .
- 2- السيطرة على موت الخلايا المبرمج .
- 3- إصلاح تلف الحامض النووي وتقسيم المورثات إلى فئتين عامتين :

1-1-11-2 المورثات الكابتة للورم (المثبطة للنمو) : tumor suppressor genes (growth inhibitory)

هي المورثات التي تعمل وبشكل طبيعي على التشفير لبروتين p53 يعمل على كبح الورم وأنّ وظيفته المعتادة تعمل على منع تكاثر الخلايا ويعمل بمثابة كبح في الدورة الخلوية وبذلك فإنّ الطفرة في هذه المورثات تعمل على تعطيل وظيفته , أنّ احتواء الخلية على نسخة وظيفية واحدة من المورث تعمل على تكوين البروتين اللازم لكبح الورم لذلك يتطلب تعطيل كل من النسختين للجين حتى يثبط عمله ومن أهم الأمثلة على هذا النوع من المورثات :

1-1-1-11-2 بروتين قاصع الورم الرئيسي p53 a key tumor suppressor :

يقع مورث p53 على الكروموسوم 17 (p13.1) ويعد من أهم المورثات وأكثرها عرضة للتغير المورثي وحدوث الأورام وأنّ أكثر من 50 % من الأورام تحدث بسبب طفرة في هذا المورث لأنه ينتج البروتين المسؤول عن إيقاف نمو الخلايا وإيقاف الورم , عند حدوث طفرة في كل من الاليلين لهذا المورث فإنّ نمو وتكاثر الخلايا يزيد , تعطيل موت الخلايا المبرمج , ونمو وتطور الورم يرتفع وأنّ اللذين يحملون هذه الطفرة يطلق عليهم بالمصابين بمتلازمة Li-

استعراض المراجع

Fraumeni متلازمة الاصابة بالسرطان في اكثر من موقع ويكون لديهم فرصة أكثر 25 مرة للإصابة بالسرطان قبل سن ال50 (Mendelsohn *et al.*, 2008)

2-1-1-11-2 genes (Breast cancer gene 1 and 2) BRCA2 , BRCA1

اكتشفت لأول مرة مورثات سرطان الثدي (BRCA1 & BRCA2) في عام 1980 و 1990 ووجد أيضا أنّ من يحملون طفرات في هذه المورثات تتضاعف نسبة الإصابة بسرطان الثدي من 10-30 مرة أكثر من الذين لا يحملون هذه المورثات ويعد السبب الوراثي الأكثر شيوعا للإصابة بسرطان الثدي (Foulkes *et al.*, 2008).

يقع المورث BRCA1 على الكروموسوم 17(q21) أما المورث BRCA2 فيقع على الكروموسوم 13(q12) هذه المورثات تعتبر من المورثات القائمة للورم المرتبطة بسرطان الثدي والمبيض , ووظيفة هذه المورثات هي المحافظة على سلامة الجينوم من خلال تكوين بروتين نووي يعمل على المحافظة على أَل DNA من الضرر وإصلاحه إذا حدث أضافه إلى هذه الوظيفة فإنّ هذه المورثات تساهم أيضا في دورة الخلية إذ تدخل في بناء الحامض النووي DNA , تنظيم استنساخ المورثات , السيطرة على دورة الخلية , مراقبة تضاعف الجسيم المركزي (Brenton *et al.* 2005).

2-1-11-2 المورثات المسرطنة ONCOGENES (Burstein *et al.*, 2003):

تحتوي الخلايا على جينات طبيعية تعمل على تنظيم النمو والتكاثر الخلوي وتسمى proto-oncogenes أما عند حدوث خلل أو طفرة في هذه المورثات فتسمى المورثات المسرطنة oncogenes وعكس المورثات الكابحة التي تضع حدا لنمو وتكاثر الخلايا فإنّ هذه المورثات تعمل على زيادة التكاثر الخلوي , أنّ الطفرات التي تحول المورث الطبيعي إلى المورث المسرطن تعمل عادة على زيادة فعالية التعبير المورثي الطبيعي أو تشفير البروتين ومن أمثلتها:

• **جين (HER2) Human epidermal gene :**

أكثر من 25% من حالات سرطان الثدي تكون ناتجة عن طفرة في هذا المورث إذ أنّ هذا المورث يشفر tyrosine kinas التي ترتبط ارتباطا وثيقا مع عامل النمو البشري (epidermal growth factor (EGF)) وأنّ آلية الطفرة في هذا المورث هي التضخم المورثي الذي يؤدي إلى تكوين نسخ متعددة من المورث في الخلية .

2-11-2 الهرمونات الداخلية Endogenous hormones :

أن نمو الثدي الطبيعي وكذلك تكون الورم يعتمد بشكل كبير على الهرمونات الستيرويدية وقد لوحظ ارتباط بين الإصابة بسرطان الثدي والهرمونات الأنتوية مثل (oestradiol & oestrone) (Manjer et al ., 2003).

يعد هرمون الحليب أساسيا للثدي وهناك ارتباط بين هذا الهرمون وخطر الإصابة بسرطان الثدي إلا أنه يكون أقل خطورة من الهرمونات الجنسية الستيرويدية (Tworoger & Hankinson ., 2006).

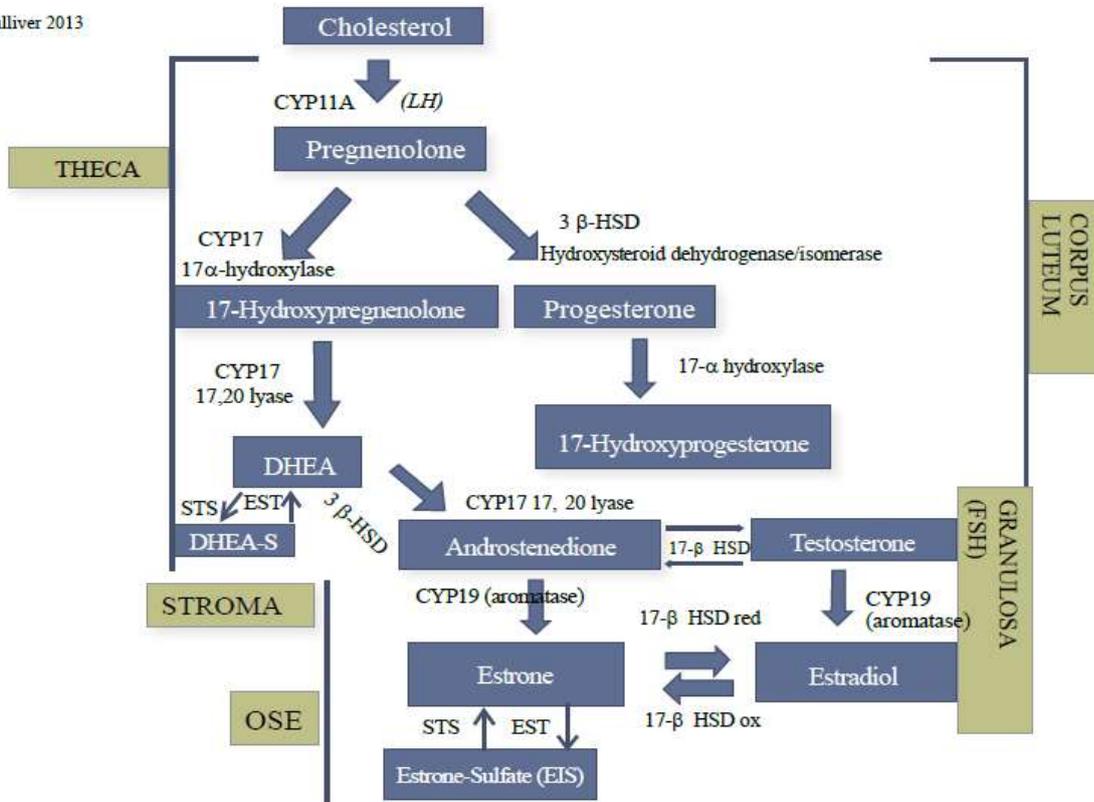
1-2-11-2 هرمون الاستروجين (E2) Estradiol hormone:

الشكل السائد والفعال لهرمون الاستروجين هو الاستراديول (Estradiol(17-beta- estradiol or E2) وهو هرمون ستيرويدي مشتق من الكولسترول ويستهدف مجموعة متنوعة من الأنسجة وينتج في الأعضاء الجنسية , الغدد الثديية , الهيكل العظمي , والقلب والأوعية الدموية (Hall & Couse .,2001).

ويعد هرمون الجنس البشري وهرمون الجنس الأنتوي الأساسي إذ يعمل على تنظيم الدورات الإنجابية والطمث وهو ضروري لتطوير وصيانة الأنسجة الأنتوية (Tivis & Richardson .,2005) يتكون الاستراديول في المبايض وهناك غدد صماء أخرى تنتج مثل الغدة الكظرية وينتج أيضا من أنسجة غير الغدد مثل الأنسجة الدهنية ويتم بناء الاستراديول من هرمون الاستروجين كما في الشكل (4-2) (Gulliver ., 2013).

أن أنسجة الثدي تحتوي على أنزيم السالفاتيز الذي يحول الاسترون إلى استراديول ومن ثمَّ زيادة مستوى الاستراديول وزيادة خطر سرطان الثدي (Santen et al ., 1986).

Gulliver 2013



شكل (2- 4) يبين بناء هرمون الاستروجين وتحويله إلى الاستراديول (Gulliver ., 2013)

Cytochrome P450 family11,subfamily A, = CYP11A ,luteinizing hormone = LH
hydroxysteroid = HSD , Cytochrome P450 family 17 = CYP17 ,polypeptide1
steroid = STS , dehydroepiandrosterone - sulfate = DHEA-S , dehydrogenase enzyme
estrogen sulfotransferase = EST , ovarian surface epithelium = OSE , sulfatase

يعمل الاستراديول على نمو أنسجة الجهاز التناسلي الأنثوي ودعم بطانة المهبل وغدد
عنق الرحم وبطانة الرحم وبطانة قناة فالوب ويعزز نمو عضلات الرحم وكذلك له دور ضروري
في الحفاظ على البويضات في المبيض خلال الدورة الشهرية فأن الاستراديول ينتج بواسطة
الحوصلات النامية ومن ثم فأن محور الغدة النخامية – تحت المهاد يعمل على إفراز هرمون
الاباضة (LH) luteinizing hormone ومن ثم تحدث الاباضة , في مرحلة الجسم الأصفر
فأن الاستراديول بالتزامن مع البروجستيرون يهيئ بطانة الرحم لغرس البويضة المخصبة وفي
حالة حدوث الحمل فأن البروجستيرون ينتج من المشيمة وفي حالة كبحه أو قلة إفرازه فأنه يؤدي
إلى الإجهاض (Carr ., 2004).

استعراض المراجع

أما علاقة الاستراديول بالثدي فيعمل على تمايز وتكاثر خلايا الثدي الظهارية العادية (Goldfien & Monroe,1997).

في سن البلوغ وأثناء النضج الجنسي يتم إفراز هرمون الاستراديول من المبيض أما بعد سن اليأس فإنه يفرز من أنسجة الثدي أي من الخلايا الدهنية في أنسجة الثدي والذي يكون بنسبة قليلة إذ لا يستطيع نسيج الثدي بناء سلائف الأندر وجين ويعتمد على السلائف الموجودة في جهاز الدوران والتحويل الموضعي لهرمون الاستروجين كما يحدث في الثدي (Falandry *et al.*,2009).

2-2-11-2 الاستروجين وسرطان الثدي Estrogen and breast cancer :

معظم أورام الثدي تعتمد على ارتفاع هرمون الاستروجين و أنها تنتج كميات كبيرة من هرمون الاستروجين بشكل موضعي من خلال التعبير العالي لأنزيم الاروماتيز مقارنة مع الخلايا الطبيعية (Bulun *et al.*,2005).

إذ ينشأ هرمون الاستروجين عند النساء بعد سن اليأس من مصدرين : الأول من أعضاء وأنسجة عدا المبيض مثل النسيج الشحمي , الهيكل العظمي , والجلد , وثانيا : ينتج موضعيا من الخلايا السرطانية والذي يؤثر عن طريق ميكانيكية الإفراز الجانبي paracrine أو الإفراز الخارجي intracrine . (Bulun *et al.*,2007).

ويصل تركيزه إلى أكثر 2-3 أضعاف في أنسجة الثدي السرطانية مقارنة بالأنسجة التي تبدو طبيعية (Chetrite *et al.*,2000).

يؤثر هذا الهرمون على الخلايا السرطانية عن طريق مسارين , المسار الأول: على مستقبلات الاستروجين التي تعمل على تنشيط هرمون الاستروجين والذي يؤدي إلى تنشيط التعبير المورثي للهرمون وكذلك تحفيز نمو وانتشار الخلايا السرطانية (Yager and Davidson,2006).

أما المسار الثاني يتضمن تكوين المركبات الايضية الاستروجينية السامة والتي تسبب ضرر في الحامض النووي المنقوص الأوكسجين DNA. (Patel and Bhat,2004).

3-2-11-2 هرمون الحليب Prolactin hormone :

هرمون ببتيدي يفرز من النخامية سمي كذلك لقدرته على تحفيز إنتاج وإفراز الحليب ويؤثر الحليب بشكل طفيف على التغيرات المظهرية للغدد اللبنية في الأجنة والحديثين الولادة وكذلك قبل البلوغ ولكنها تؤثر على الثدي عند حمل المرأة والرضاعة : تعمل على تكوين

استعراض المراجع

الفصوص وزيادة حجمها وتمايزها , إفراز اللبن واكتساب القدرة على تكوين الحليب ,المحافظة على تكوين واستمرار إفراز الحليب , وكذلك توقف تكوين وإفراز الحليب . (Hennighausen & Robinson,2005; Brisken & Rajaram,2006).
أن تأثير الحليب على الثدي يكون مباشر من خلال ارتباطه بمستقبلات الحليب (Binart *et al.*,2000).

4-2-11-2 سرطان الثدي وهرمون الحليب Prolactin and breast cancer :

هرمون الحليب يعد من الهرمونات المهمة التي تعمل على زيادة الغدد اللبنية وإفرازها في المرأة وتبدأ فعاليته عند الحمل وتزداد بعد الولادة ووجد أن مستقبلات هرمون الحليب موجودة في أنسجة الثدي الطبيعية وكذلك في خلايا الورمية الحميدة والخلايا السرطانية ويعتقد أنه احد عوامل الخطورة للإصابة بمرض سرطان الثدي (Perks *et al.*,2004).
ويعتقد أن هرمون الحليب يحث حركة الخلايا ويساعد الخلايا السرطانية على مقاومة العلاج الكيماوي مما يساعد على انتشار السرطان (Clevenger *et al.*,2003) أن التغيير في التعبير المورثي لهرمون الحليب ومستقبلاته يعمل على زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي إذ أن زيادة التعبير لهرمون الحليب يعمل على زيادة التعبير لمستقبلات هرمون الاستروجين في خلايا الثدي السرطانية (Gutzman *et al.*,2005 ; Courtilot *et al.*,2010).
تشير الدراسات الوبائية لسرطان الثدي إلى ارتباط ارتفاع هرمون الحليب مع زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي. (Tworoger & Hankinson,2008).
فقد دعمت الدراسات الوبائية بدراسات تجريبية على الفئران اذ أكدت ارتباط هرمون الحليب بخطر الإصابة بسرطان الثدي عن طريق زيادة تكاثر الخلايا , عدم حدوث الموت المبرمج للخلايا , زيادة الانتشار , وزيادة الاستجابة الخلوية للأستروجين (Gutzman *et al.*,2005) .
ولوحظ زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي بنسبة 30 % عند النساء بعد سن اليأس مع ارتفاع في مستوى الهرمون في الدم و 80% زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي المعتمد على الاستروجين. (Tworoger *et al.*,2007).

5-2-11-2 هرمون الشحمون الخصوي Testosterone Hormone :

تعمل الأندروجينات على بناء الستيرويدات بشكل طبيعي وتأتي أهميتها من خلال توليد الطاقة , الإدامة على الكتلة العظمية , التكوين الجسمي , المزاج , والرغبة الجنسية. (Sherwin.,1998; Davison and Davis,2003) .

استعراض المراجع

يعد هرمون الشحمون الخصوي أهم الأندر وجينات ويعد من الهرمونات الذكرية الستيرويدية وفي النساء يتكون 25% من الغدة الكظرية و25% من المبايض وال 50% المتبقية تتكون من تحويل الطرفي لل proandrogen مع androstenedion والتي تمثل السلائف الرئيسية (Mehta et al.,2008).

أن هرمون الشحمون الخصوي يتحول إلى dehydrotestosterone (DHT) من خلال اختزال α -5 أو يتحول إلى استراديول من خلال أنزيم الاروماتيز وهذا التحويل أو التفاعل يحدث في الأنسجة المستهدفة. (Burger.,2002).

يؤثر هرمون الشحمون الخصوي على بناء الاستروجين من خلال احتوائه على السلائف اللازمة precursor للبناء الحيوي للاستروجين في المبايض وخارج المبيض ويؤثر على مستقبلات الأندروجين بشكل مباشر (Simpson et al.,2000).

أن مستقبلات الأندروجين موجودة في جميع أنسجة الجسم كالثدي , العظام والدماغ مشيراً إلى أهمية الأندورجينات في الحفاظ على توازن الجسم وكذلك قد تكون السبب في حدوث الأمراض مثل سرطان الثدي , هشاشة العظام , الرغبة الجنسية والتدهور المعرفي (Schover.,2008).

6-2-11-2 سرطان الثدي وهرمون الشحمون الخصوي Testosterone and breast cancer

افتراض أن هرمون الشحمون الخصوي يعمل على زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي بصورة مباشرة من خلال زيادة نمو وتمايز الخلايا أو غير مباشر من خلال التحويل إلى استروجين (Liao and Dickson,2002), حيث أشارت دراسة (Tworoger et al (2006) إلى زيادة الأندورجينات الكظرية عند المصابات بسرطان الثدي بعد سن اليأس, إذ أن هرموني الاستروجين والشحمون الخصوي يتعاونان لزيادة الإصابة بمرض سرطان الثدي (Micheli et al.,2004).

3-11-2 هرمونات خارجية Exogenous hormones :

هي الهرمونات التي لا تتكون من قبل الجسم مثل حبوب منع الحمل وكذلك العلاجات بدائل الهرمون (McPherson et al ., 2000).

وقد وجد أن الارتباط بين حبوب منع الحمل وخطر الإصابة بمرض سرطان الثدي اقل من الارتباط بين العلاج الهرموني البديل وخطر الإصابة بسرطان الثدي وبالذات هرموني

استعراض المراجع

الاستروجين والبروجستيرون إذ بعد انقطاع الحيض ودخول المرأة في سن اليأس فإنه يعطى لها كعلاج هرموني بديل (Borgquist et al ., 2007).

4-11-2 عوامل تكاثرية Reproductive factors :

1. كثرة الإنجاب Parity:

لا توجد علاقة مباشرة بين خطر الإصابة بسرطان الثدي وكثرة الإنجاب وذلك لوجود عدة عوامل منها تاريخ الحمل الأول , آخر حمل وولادة , ومدة الرضاعة فقد أثبتت الدراسات أن كثرة الإنجاب من العوامل غير المعتمدة واقتراح أن كل ولادة طفل جديد تعمل على تقليل خطر الإصابة بسرطان الثدي 7% (Parsa & Parsa ., 2009) .

ووجد أيضا عند كل حمل وولادة جديدة تتحول الكثير من الخلايا الجذعية إلى مرحلة تكون فيها أكثر مقاومة لمسببات السرطان (Russo et al ., 2005) وقد لوحظ أن الارتباط بين كثرة الإنجاب والإصابة بسرطان الثدي يزداد بنسبة قليلة بعد الولادة مباشرة ولكن على المدى الطويل لا يشكل خطرا كبيرا (Albrektsen et al ., 2005).

فقد أظهرت دراسة (Daling et al (2002) أن عدم الإنجاب يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي الذي يتطور وبسرعة إلى المرحلة الثالثة .

2. العمر عند الولادة الأولى Age at first childbirth :

أوجدت دراسة (Hinkula et al (2001) أن العلاقة بين الولادة الأولى وخطر الإصابة بسرطان الثدي غير معتمدة , بينما أشارت دراسات أخرى أن خطر الإصابة بسرطان الثدي يزداد عند تأجيل الولادة الأولى لعمر بين 20-30 (Hajian-Tilaki & Kaveh-Ahangar , فقد وجد أن كل سنة يتم فيها تأجيل الحمل الأول يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي بنسبة 5% (Clavel-Chapelon & Gerber. ., 2002).

أشارت دراسة أخرى إلى أن الولادة المبكرة تزيد من الإصابة بمرض سرطان الثدي والنساء الناجيات يكون عددهن قليل (Kroman et al ., 1998) , وأظهرت دراسة لاحقة العكس أن الحمل والولادة المبكر يقلل من خطر الإصابة ويزيد من فرص بقاء النساء على قيد الحياة. (Kroman & Mouridsen ., 2003) , أما دراسة (Althuis et al (2004) أوضحت إن زيادة خطر الإصابة بمرض سرطان الثدي يعتمد على زيادة الاستروجين وتأخير الحمل يقلل من مدة التعرض لهرمون الاستروجين وبالتالي التقليل من خطر الإصابة بمرض سرطان الثدي .

3. الرضاعة breastfeeding:

استعراض المراجع

تم دراسة 47 حالة لكل بلد من 30 بلداً مختلفاً فقد كانت 96973 امرأة مصابة بسرطان الثدي و 50302 غير مصابة من أجل تقييم ما إذا كانت الرضاعة الطبيعية لها تأثير وقائي ضد الإصابة بسرطان الثدي وقد وجدوا أنّ سرطان الثدي أنخفض 4.3% لكل 12 شهراً من الرضاعة الطبيعية فضلاً عن أنّ الرضاعة لمدة قصيرة ممكن أنّ تسبب خطر الإصابة بسرطان الثدي على مرور الوقت (Breast cancer and breastfeeding collaborative ., 2002)

وفي دراسة أخرى لم يجدوا ارتباطاً واضحاً بين التأثير الوقائي للرضاعة الطبيعية وخطر الإصابة بسرطان الثدي . (Yang & Jacobsen. ., 2008)

وقد درست العلاقة بين مدة الرضاعة الطبيعية وخطر الإصابة بسرطان الثدي فقد وجدوا أنّ طول مدة الرضاعة الطبيعية تقلل من الإصابة بمرض سرطان الثدي القنوي وكذلك السرطان المعتمد على هرمون الاستروجين (Phipps et al ., 2008; Ursin et al., 2005).

4. عوامل تكاثرية أخرى other reproductive factors :

أنّ بدء الحيض المبكر وانقطاع الطمث المتأخر يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي ووجد أنّ كل سنة يتأخر فيها الحيض يقل خطر الإصابة بسرطان الثدي 9% أما كل سنة يتأخر فيها انقطاع الطمث يزيد خطر الإصابة بسرطان الثدي بنسبة 3% (McPherson .).

(et al ., 2000)

5-11-2 عوامل نمط الحياة Lifestyle factors :

1. العقم أو حدوث الحمل بسن متأخرة يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي.
2. استخدام حبوب منع الحمل يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي .
3. استخدام العلاج الهرموني بعد انقطاع الطمث : استخدام العلاج الهرموني البديل كالأستروجين والبروجستيرون يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي .
4. استهلاك الكحول يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي.
5. زيادة الوزن أو البدانة أيضاً تعمل على زيادة خطر الإصابة بسرطان الثدي.
6. وجد إن التدخين يرتبط بالإصابة بسرطان الثدي.
7. العمل ليلاً يزيد الإصابة بسرطان الثدي.

استعراض المراجع

8. التعرض للمواد الكيميائية: يوجد دليل واضح على الارتباط بين التعرض للمواد الكيميائية

وخطر الإصابة. (McPherson *et al* ., 2000)

12-2 علاج سرطان الثدي Treatment of breast cancer :

هنالك عدة طرق وخطوات لعلاج مرض سرطان الثدي:

1-12-2 التداخل الجراحي Surgery:

لقد عولج سرطان الثدي قديما في اليونان عن طريق التداخل الجراحي ولكن لصعوبة الإجراء غالبا ما كان يعد مضرًا أكثر من كونه مفيدا ولكن بعد القرن 19th بعد إدخال تقنيات التعقيم والتخدير أصبحت الجراحة الحل الأول والأسلم لعلاج سرطان الثدي وفي عام 1880 قام Halstead لأول مرة بإزالة الثدي جذريا والعقد اللمفية والعضلات الصدرية (Moulin ., 1983).

أن أول موقع يهاجمه السرطان في حالة انتشاره من الثدي هي العقد اللمفية الإبطية أما اليوم فيتم التحقق من العقد اللمفية بواسطة تقنية sentinel node technique وهي التقنية التي تفحص العقدة اللمفية التي تسمى الحارسة التي تعطي دلالة عن انتشار المرض والتي تعتمد على جريان اللمف من الثدي إلى هذه العقد وكذلك عن طريق اخذ خزعة فاذا لم تكن مصابة فأن ذلك دليل على عدم انتشار المرض (Krag *et al* ., 2010)

2-12-2 العلاج الإشعاعي Radiotherapy:

يستخدم العلاج الإشعاعي بعد العملية للقضاء على بقايا الخلايا السرطانية والذي يحد من خطر رجوع المرض بنسبة 50% بعد استخدام الإشعاع (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G ., 2011), فضلا عن فائدته لصالح المرض بغض النظر عن حجم الورم , الانتشار وعمر المريض (Clarke *et al* ., 2005).

وللعلاج الإشعاعي آثار جانبية مثل احمرار الجلد , التهاب رئوي أما الأعراض التي تظهر في وقت لاحق الودمة اللمفية وقد أظهرت دراسات لاحقة حدوث وفيات بسبب أمراض القلب وسرطان الرئة وبرغم هذه الآثار إلا أنه لازال يستخدم لفائدته في قتل بقايا الخلايا السرطانية (Dixon ., 2006 ; Swedish Breast Cancer Group ., 2011).

3-12-2 العلاج الجهازى Systemic treatment :

يشمل العلاج الكيميائي , العلاج الهرموني , والأدوية الهدف مثل الأجسام المضادة الذي يعطى كعلاج مساعد للتخفيف ويعطى بعد العملية لاستئصال النقائل الصغيرة وكذلك الحد من تكرار أو رجوع المرض والعلاج المساعد يقلل من خطر رجوع المرض بنسبة 20-30 %

(Swedish Breast Cancer Group .,2011).

1-3-12-2 العلاج الكيماوي Chemotherapy:

استخدم العلاج الكيماوي لأول مرة سنة 1942 وقد أعطي بجرعات قليلة ومتقطعة وقد أثبتت الدراسات أنّ العلاج الكيماوي المتعدد مع استخدام العلاجات الأخرى المساعدة أفضل من العلاج المنفرد والذي يتيح للعلاج فرصة أكبر ليكون أكثر كثافة (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group., 1992)

أنّ العلاج المساعد مع العلاج الكيماوي يقلل من وفيات السرطان بنسبة الثلث ومقارنة بين العلاجات وجد أنّ استخدام anthracycline أفضل من العلاج وأكثر فاعلية من CMF (Early Breast (cyclophosphamide, methotrexate, fluorouracil) Cancer Trialists' Collaborative G ., 2012)

ويوصى بالعلاج المتعدد لكل الحالات عند انتشار المرض أو عدم انتشاره (Swedish Breast Cancer Group ., 2011).

2-3-12-2 العلاج الهدف Target therapy :

يستخدم مصطلح الأدوية المستهدفة لوصف الأدوية التي تعمل على تعطيل جزيئات محددة كالخلايا السرطانية والتي تساهم في نمو الورم بدلا من تأثيرها على سرعة الانقسام كالعديد من العلاج الكيماوي مثل عقار trastuzumab وهو عقار يستهدف human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) والمرضى الذين لديهم تعبير عالي من (HER2) يكون من الصعب إجراء الفحص وسرعة في الانتشار. (Ryden *et al* ., 2008).

يعد (HER2) هو عامل النمو البشري ويوجد منه أربعة أنواع (EGFR) HER1 , HER2 ,HER3 , و HER4 وال HER يلعب دورا مهما في تكاثر الخلايا , تمايزها , والبقاء (Harari & Yarden .,2000 ; Barros *et al* ., 2010).

وجد أنّ التعبير العالي لل (HER-2) يسبب 90 % من السرطان القنوي و 15_30% من السرطان الغازي ويكون أكثر عدائية وانتشارا وصعب من ناحية التشخيص (Barros *et al* ., 2010 ; Giampaglia *et al* ., 2010).

3-3-12-2 علاج الغدد الصماء Endocrine treatment :

استعراض المراجع

أكثر حالات سرطان الثدي تعتمد على زيادة هرمون الاستروجين حيث اثبت أنّ معظم حالات سرطان الثدي الغازي بنسبة 70-80% معتمدة على الاستروجين , وفي عام 1986 وجد أنّ إزالة المبيض يحدث تقدما في علاج المرض للنساء قبل سن اليأس (Moulin., 1983).

يتم العلاج عبر مسارين ,المسار الأول : عن طريق غلق تثبيط مستقبلات الاستروجين باستخدام (التاموكسيفين) , المسار الثاني عن طريق إزالة منشأ الاستروجين إزالة المبيض أو استخدام الاروماتيز وهو الأتريم الذي يلعب دورا أساسيا للبناء الحيوي لهرمون الاستروجين باستخدام مثبطات الاروماتيز (AIs) , أنّ مثبطات الاروماتيز تعمل على تثبيط الأتريم الذي يعمل على تكوين الاستروجين من الأنسجة والأعضاء ماعدا المبيضين أي أنّه لا يؤثر على المبيضين لذلك هو يستخدم في النساء بعد سن اليأس أما عقار التاموكسيفين فيستخدم لجميع النساء (Clemons & Goss ., 2001).

أنّ مثبطات الاروماتيز , التاموكسيفين وقمع المبايض هي طرق العلاج المستخدمة حاليا وهناك عقار آخر يستخدم بعد الانتهاء من العلاج المضاد للأستروجين في النساء بعد سن اليأس هو fulvestrant (Lonning *et al* ., 2001).

2-3-3-12-2 قمع أو كبح المبيض ovarian expression :

قمع المبيض هي احد الطرق العلاجية المستخدمة عن طريق إزالته جراحيا , بالإشعاع , أو استخدام (luteinizing hormone-releasing hormone) LHRH لقمع وظيفة المبيض وبالتالي عدم انتاجه الاستروجين وقد أظهرت هذه الطريقة فعالية كبيرة في علاج سرطان الثدي (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group ., 1996).

أظهرت الدراسات أنّ استخدام LHRH قلل خطر الإصابة ورجوع المرض بنسبة 12.7% وقلل نسبة الوفيات إلى 13.6% بالإضافة إلى استخدام التاموكسيفين او عقارات أخرى (Cuzick *et al* ., 2007).

2-3-3-12-2 مثبطات الاروماتيز Aromatase inhibitors :

تناولت عدة دراسات المقارنة بين العلاج بواسطة التاموكسيفين لمدة خمس سنوات والعلاج بواسطة مثبطات الاروماتيز AIs فقد كانت المثبطات أكثر فاعلية وأظهرت انخفاض في خطر رجوع المرض بنسبة 2.9% بعد استخدامه لمدة خمس سنوات ووجد أنّ التتابع بالعلاج أي

استعراض المراجع

عند استخدام مثلاً التاموكسيفين أولاً وبعدها AIs أو بالعكس أظهرت هذه الطريقة تحسناً كبيراً في العلاج بنسبة 3.1% (Dowsett *et al.* , 2010).

عند مقارنة بدء العلاج بـ AIs مثل letrozole مع بدء العلاج بالتاموكسيفين لم يلاحظ فروق معنوية بينهما (Regan *et al.* , 2011).

إلا أنّ مثبطات الأروماتيز تكون فعالة أكثر في النساء بعد سن اليأس ولكن يوصى باستخدام هذه الأدوية متتابعة العقار بعد الآخر وقد أوصي باستخدام التاموكسيفين للنساء قبل سن اليأس واستخدام المثبطات بعد سن اليأس (Mamounas *et al.* , 2008).

13-2 مستقبلات الاستروجين والبروجيسترون Estrogen and progesterone receptors:

أنّ التحري عن مستقبلات الاستروجين (ER) تعطي صورة واضحة عن طبيعة الورم واستخدام العلاج المناسب أما مستقبلات البروجستيرون (PR) توفر بعض المعلومات الإضافية عن مستقبلات الاستروجين (Stendahl *et al.* , 2006).

لم تظهر فائدة كبيرة للتحري عن مستقبلات البروجستيرون ('Early Breast Cancer Trialists' Collaborative group , 2011).

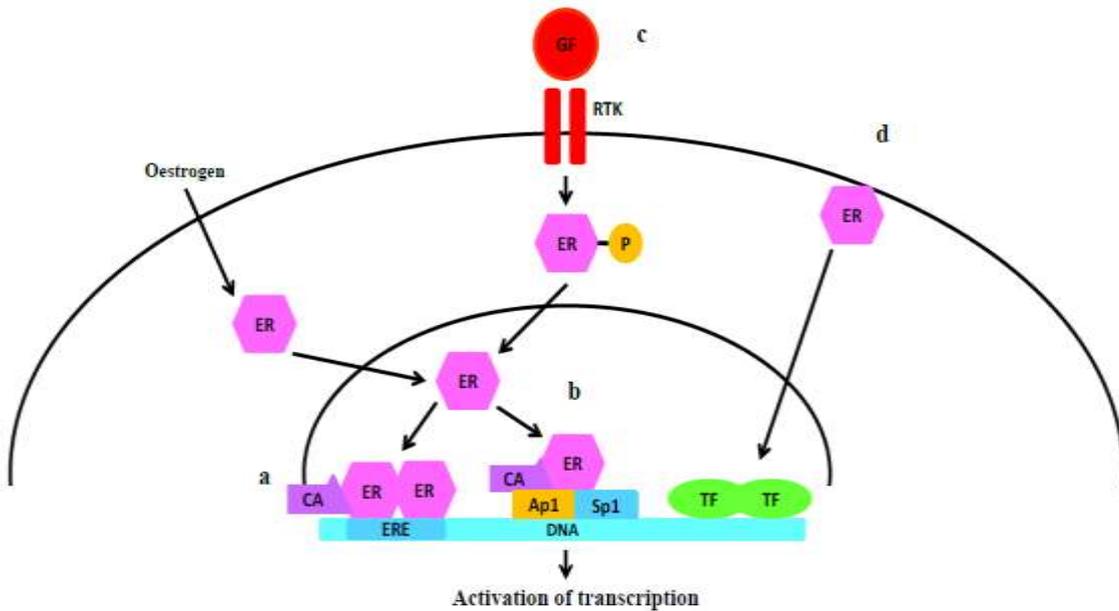
1-13-2 مستقبلات هرمون الاستروجين The estrogen receptor :

أنّ أنسجة الثدي العادية تحتوي 15-25% من الخلايا الظهارية التي تعبر عن مستقبلات الاستروجين وهذه الخلايا ليست لها قابلية كبيرة على الانقسام إلا أنّ احتوائها على مستقبلات الاستروجين فأنّها تحفز الخلايا المجاورة لها عن طريق الإفراز وجد كذلك أنّ 70-80% من حالات سرطان الثدي تعبر عن ER وتعتمد على هرمون الاستروجين للبقاء والتكاثر (Bergh *et al.* , 2007).

تقع مستقبلات الاستروجين داخل الخلية وتندرج ضمن المستقبلات الستيرويدية النووية لعوامل النسخ (Ali & Coombes , 2002) وهذه المستقبلات تحتوي على اثنين من قمم التنشيط : الوظيفة التنشيطية 1 (AF1) activation function والتي تنظم بواسطة الفسفرة ,

استعراض المراجع

والوظيفة التنشيطية 2 (AF2) والتي تنظم بواسطة هرمون الاستروجين AF1 و AF2 يفعلان عملية النسخ سواء بمفردهما أو بالتآزر مع بعض (Hartman *et al.* , 2009).
يقوم هرمون الاستروجين في الحالات الطبيعية بالارتباط بمستقبلات الاستروجين مما يؤدي إلى تغيرات في (AF2) مما يسهل التفاعل مع العوامل المنشطة وإنزيم histone acetyltransferases , ويؤدي التفاعل بين هذه العوامل إلى تنشيط التعبير الجيني على المستوى النووي ويتم ذلك عن طريق ارتباط ثنائي مباشر بين مستقبلات الاستروجين وبين عوامل الاستجابة المحددة لل DNA مما تسمى عناصر استجابة الاستروجين Estrogen receptore element (ERE) شكل (5-2 الخطوة A) (Musgrove & Sutherland ., 2009).



شكل (5-2) عملية تنشيط مستقبلات الاستروجين (Sara ., 2012)

A - الارتباط الثنائي بين مستقبلات الاستروجين مع عوامل استجابة الاستروجين .

B- تفاعل البروتين مع بروتين مثل Ap1 و Sp1 .

c- التنشيط بواسطة RTKs .

D - عوامل غير جينية لمستقبلات الاستروجين وتفعيل الإشارات داخل الخلية و TFs .

الاختصارات : AP1 تنشيط البروتين , CA مساعد التنشيط , ER مستقبلات الاستروجين , ERE عناصر الاستجابة لهرمون الاستروجين , GF عامل النمو , P الفسفرة , RTK مستقبلات tyrosine kinase , SP1 , البروتين الخاص 1 , TF عامل النسخ .

استعراض المراجع

كذلك من خلال التفاعل مع عوامل النسخ الأخرى مثل البروتين الفعال 1 (AP1) مع البروتين الخاص 1 (Sp1) شكل (5-2 الخطوة B) . (McDonnell & Norris ., 2002 ; Hartman *et al* ., 2009).

والمسار الآخر لهرمون الاستروجين إذ يمكن تنشيط مستقبلات الاستروجين من خلال مستقبلات أنزيم tyrosine kinases ومن خلال التنشيط عن طريق عملية الفسفرة مثل شكل (2-5 الخطوة C) والمسار الأخير يتم عن طريق الأحداث غير المورثة من خلال تأثير العوامل البيئية على غشاء الخلية والسيتوبلازم إذ يكون المستقبل على غشاء الخلية ويتم التأثير بشكل مباشر على عملية الاستنساخ على شريط DNA شكل (5-2 الخطوة D) . (Gururaj *et al* ., 2006).

14-2 العلاج ألصمي مع التاموكسيفين Endocrine treatment with Tamoxifen

1-14-2 تعريف التاموكسيفين Tamoxifen :

وهو عقار يستخدم لعلاج سرطان الثدي الناتج عن زيادة في مستوى هرمون الاستروجين وقد عرف هذا العقار منذ عام 1970 م ويعد خط الدفاع الأول للنساء المصابات بسرطان الثدي النقيلي وكذلك يستخدم كعلاج مساعد عند ارتفاع مستوى هرمون الاستروجين عند النساء بعد سن اليأس . (IARC, 1996; Albain, 2004).

يستخدم التاموكسيفين في حالة النساء المصابات بسرطان الثدي بعد إزالة الثدي جراحيا وتسلم العلاج الإشعاعي بعدها يستخدم التاموكسيفين للحد من انتشار السرطان في الثدي وقد استخدم التاموكسيفين أيضا لعلاج سرطان الثدي عند الذكور وفي حالات استخدام لعلاج العقم . (Wolff & Abeloff, 2002).

يستخدم التاموكسيفين بجرعات 20 ملغم / اليوم في حالة علاج سرطان الثدي بعد الجراحة والإشعاع ويوصى باستخدامه لمدة 5 سنوات وكذلك عند استخدامه في حالة تقليل الإصابة بسرطان الثدي أي عندما يكون مستوى هرمون الاستروجين مرتفعا وللحد من خطر الإصابة بسرطان الثدي وقائي أما عند استخدامه في حالة سرطان الثدي المتقدم عند الرجال فيستخدم بجرعة 20 ملغم / اليوم لمدة 1-2 سنة، أما عندما يستخدم في حالة العقم ولتحفيز الإباضة فأنه

استعراض المراجع

يستخدم بجرعة 20 ملغم لليوم 2,3,4 و اليوم الخامس من الدورة الشهرية (2004)
 (AstraZeneca., 2007 ; AstraZeneca.,
 يعد التاموكسيفين عقارا مهما لعلاج النساء من مرض سرطان الثدي والوقاية منه إذ
 يكون العقار الأول لمنع وعلاج سرطان الثدي (American Cancer Society ., 2012).
 يعد التاموكسيفين موجبا لمستقبلات هرمونات الغدد الصم (هرمون الاستروجين)
 ويحتاج العلاج إلى اجتثاث أو قمع المبايض فقد وجد أنّ إزالة المبيض جراحيا أو كبحة بواسطة
 الأدوية يساعد في العلاج وبشكل فعال في النساء ما قبل سن اليأس المصابات بسرطان الثدي
 المعتمد على الهرمون ولكن قد يصاحبه آثار جانبية مثل الهبات الساخنة , التعرق , واضطرابات
 في النوم (National Comprehensive Cancer Network (NCCN)., 2012).

2-14-2 تاريخ العقار History :

اكتشف عقار التاموكسيفين أثناء البحث عن وسائل لمنع الحمل سنة 1960 وبالرغم
 من عدم كفاءته لهذا الغرض إلا أنّه استخدم وبشكل فعال في علاج مرض سرطان الثدي المعتمد
 على هرمون الاستروجين وقد اعتمد من ذلك الحين في علاج سرطان الثدي (Furr ., 1987).

(Miller. ,2002; Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group ., 2011)

3-14-2 آلية عمل العقار Mechanism of action :

ينتمي التاموكسيفين إلى مجموعة مستقبلات الاستروجين الانتقائية المحورة والذي يعد
 من الأدوية التي تحاكي تأثير هرمون الاستروجين في بعض الأنسجة وتعارضه في الأخرى
 وتشمل أدوية مثل raloxifene و toremifene , عندما يرتبط هرمون الاستروجين بمستقبلات
 الاستروجين في منطقة AF2 المنطقة النشطة في المستقبل يعمل ذلك على تغيير في المستقبلات
 نفسها إذ أنّ الحلزون 12 وهو تركيب يشبه شكل الحلزون واهم مكونات المستقبل اذ يتشابه مع
 هرمون الاستروجين ليزيد من الارتباط وفي حال سرطان الثدي واستخدام عقار التاموكسيفين فإن
 العقار يزيح الهرمون ويرتبط بالحلزون بدل الهرمون ويزيد من ارتباطه به (Nilsson &
 Koehler ., 2005 ; Furr .,1987).

4-14-2 الاستخدام السريري للعقار Clinical use:

يعطى عقار التاموكسيفين لمرضى سرطان الثدي الموجب للأستروجين ويستخدم كعقار مساعد يقلل من الخطر النسبي لتكرار المرض بنسبة 50% والوفيات بنسبة 30% والعلاج لمدة 5 سنوات 20 ملغم / اليوم يكون أفضل من سنة أو سنتين ولم يثبت فعاليته عندما يؤخذ لمدة أكثر من 5 سنوات بل إن له ضرر إذ إن التاموكسيفين له تأثير استروجيني على بعض الأعضاء مثل الرحم وكثرة الاستخدام تسبب سرطان الرحم (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G ., 2011 ; 1998 , Collaborative Group).

5-14-2 المقاومة لعقار التاموكسيفين Resistance to tamoxifen treatment:

بالرغم من استخدام عقار التاموكسيفين كعلاج بشكل فعال إلا أنه أحيانا لا يؤدي غرضه وينتهي المريض إلى الوفاة وبذلك يتحول التاموكسيفين من مثبط إلى منشط لمستقبلات الاستروجين (Clarke et al ., 2003).

تقسم المقاومة إلى مقاومة ذاتية أو مقاومة مكتسبة وأن الآلية الأساسية للمقاومة الذاتية هو انعدام التعبير عن مستقبلات الاستروجين وقتلتها أو حدوث طفرة تؤدي إلى انعدامها , أما الآلية الأخرى هي القلة في فعالية أنزيم *CYP2D6* مما يؤدي إلى عدم تحويل عقار التاموكسيفين إلى أندوكسيفين الذي يكون أكثر نشاطا وفعالية وتكون بنسبة 6-10 % من النساء الأوربيات (Hoskins et al ., 2009).

يعد التغير في ايض التاموكسيفين أو التدفق والخروج للمواد الايضية من والى الخلايا من العوامل المهمة في تغير الايض (Ring & Dowsett. , 2004).

أشارت دراسة إلى استخدام عقار (fulvestrant) الذي يعد من مثبطات أنزيم الاروماتيز ويكون ذوا فائدة في حالة مقاومة عقار التاموكسيفين (Osborne & Schiff., 2011)

6-14-2 عملية الايض The metabolism أو إزالة السمية detoxification:

1-6-14-2 ايض الدواء The metabolism of drugs:

استعراض المراجع

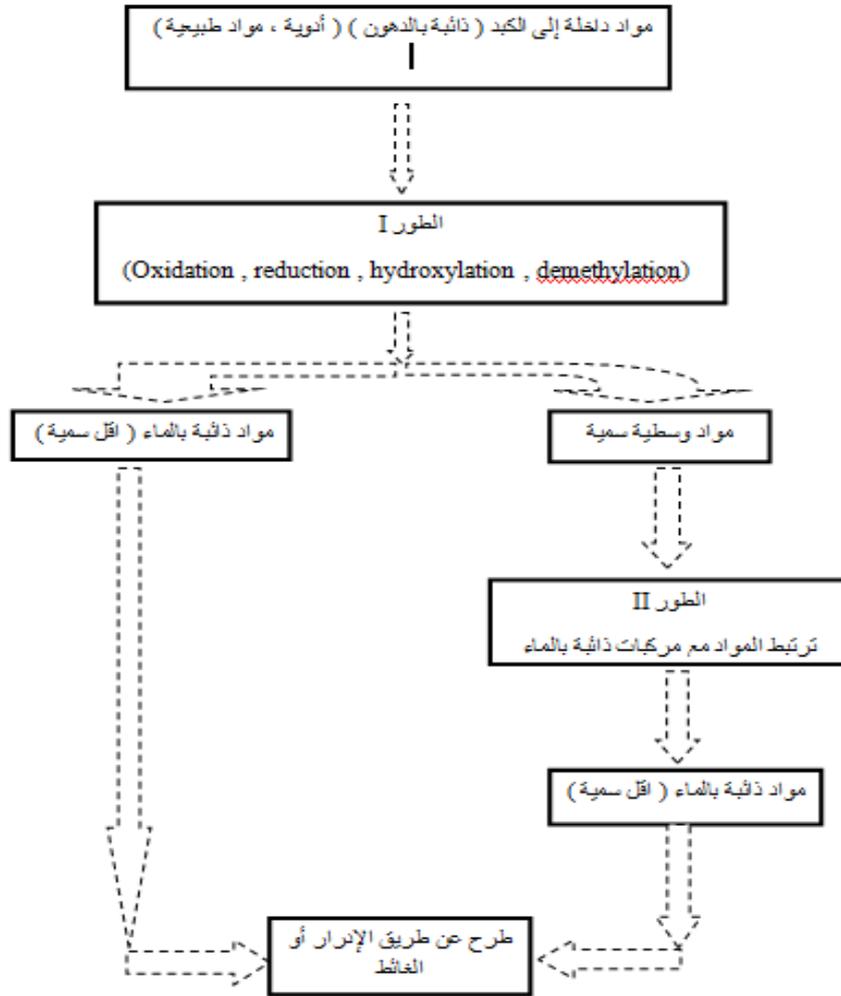
تتم عملية ايض الدواء بشكل عام في المايكرو سوم في خلايا الكبد وتكون على مرحلتين الشكل (2-6) , المرحلة الأولى تتضمن : الأكسدة , الاختزال , الهيدروكسيل , وسحب مجموعة المثيل , ابتدائيا بواسطة النظام الأنزيمي لل Cytochrome P – 450 الموجود في الشبكة الأندوبلازمية وهو أهم نظام أنزيمي في ايض الدواء وهو 450 عبارة عن مجموعة حديد بدائية مرتبطة بعدد من الأنزيمات التي لها وظائف ايضية مختلفة وتنقسم إلى عدة عوائل وتحت عوائل (Rodriguez-Antona & Ingelman-Sundberg., 2006).

تحتوي الشبكة الأندوبلازمية أيضا على NADPH للأكسدة وأنزيم أحادي الأكسدة المحتوي على الفلافين flavin-containing monooxygenases والذي يؤكسد الأمينات ومركبات الكبريت, التفاعل في المرحلة الأولى ينتج مواد وسطية سامة والتي تتحول إلى مواد غير سامة بواسطة تفاعل المرحلة الثانية , تفاعل المرحلة الثانية يتضمن اقتران المواد الكيميائية مع مركبات مائية مثل الكلوكوروناييد ومركبات الكبريت والأحماض الامينية وبذلك تؤدي إلى تكوين مركبات وسطية قابلة للذوبان في الماء وتكون سهلة الطرح (Kedderis ., 1996).

تفاعل آخر يحدث في المرحلة الثانية هو الكلوتاثايون الذي يعمل على ربط المركبات الوسطية تساهميا مع glutathione-Sransferase (Lee ., 1995).

ونتيجة التفاعل هو التخلص من المركبات الوسطية السامة التي قد تسبب تسمم الكبد (Anders et al ., 1988 ; Stogniew & Fenselau ., 1982).

استعراض المراجع



شكل (2-6) يبين عمليات التحول والطرح للمواد الداخلة للجسم (Tostmann ., 2008)

2-6-14-2 أيض التاموكسيفين The metabolism of tamoxifen :

التاموكسيفين عقار أولي يتأیض إلى المركبات الفعالة التي تكون أكثر ألفة وارتباط لمستقبلات الاستروجين مثل N-desmethyl-tamoxifen, 4-hydroxy-N-desmethyl- tamoxifen (endoxifen) و 4-hydroxy-tamoxifen (Johnson et al ., 2004).

يخضع التاموكسيفين إلى عمليات الايض الأولي والثاني بشكل واسع وأن مستوى المركبات الوسيطة الايضية للتاموكسيفين تختلف اختلافا واضحا وقد اظهر المركب 4-hydroxytamoxifen (4-OH tamoxifen) ألفة أكثر من بقية المركبات ب 100 مرة للارتباط بمستقبلات الاستروجين وقد وجد أن المركب الفعال الآخر وهو (الأندوكسيفين) 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen (endoxifen) له خصائص مماثلة لخصائص 4 OH (أي أن له ألفة عالية للارتباط بمستقبلات الاستروجين إذ يكون هرمون الاستروجين خطرا في

استعراض المراجع

حالة الإصابة بسرطان الثدي المعتمد على ارتفاع هرمون الاستروجين ولذلك يكون هذا العقار مناسباً تماماً لهذه الحالات , يكون مستوى تركيز الأندوكسيفين في الدم اعلى من (4 OH) لذلك هو أفضل منه ويعد الشكل الفعال لعقار التاموكسيفين (Lim et al ., 2005 ; Lim et al ., 2006)

أن ايض التاموكسيفين يتم بواسطة عدد من الأنزيمات وأهمها CYP2D6 وأن مستوى الأندوكسيفين يكون متباين وبشكل كبير بين مرضى سرطان الثدي (Stearns et al ., 2003) .

التحويل الحيوي للتاموكسيفين في الكبد كما في الشكل (2-7) يشمل (N-oxidation, N-demethylation, and hydroxylation) وأن تكوين المركب الايضي الرئيسي N-desmethyltamoxifen يتم بواسطة CYP3A4/ 5 مع مساهمة الأنزيمات (CYP2D6, 1A1, 1A2, 2C19, and 2B6) لكن بشكل اقل فاعلية (Coller et al ., 2004) .

أن الحالة الثابتة للمركب N-desmethyltamoxifen بعد تناول 20 ملغم / يوم لمدة ثلاثة أشهر يكون ضعف تركيز المركب الأصلي ويتم تحويل هذا المركب بواسطة عملية hydroxylation إلى المركب الفعال endoxifen بواسطة الأنزيم CYP2D6 (Borges et al ., 2005 ; Jin et al ., 2005 ; Hutson et al ., 2006)

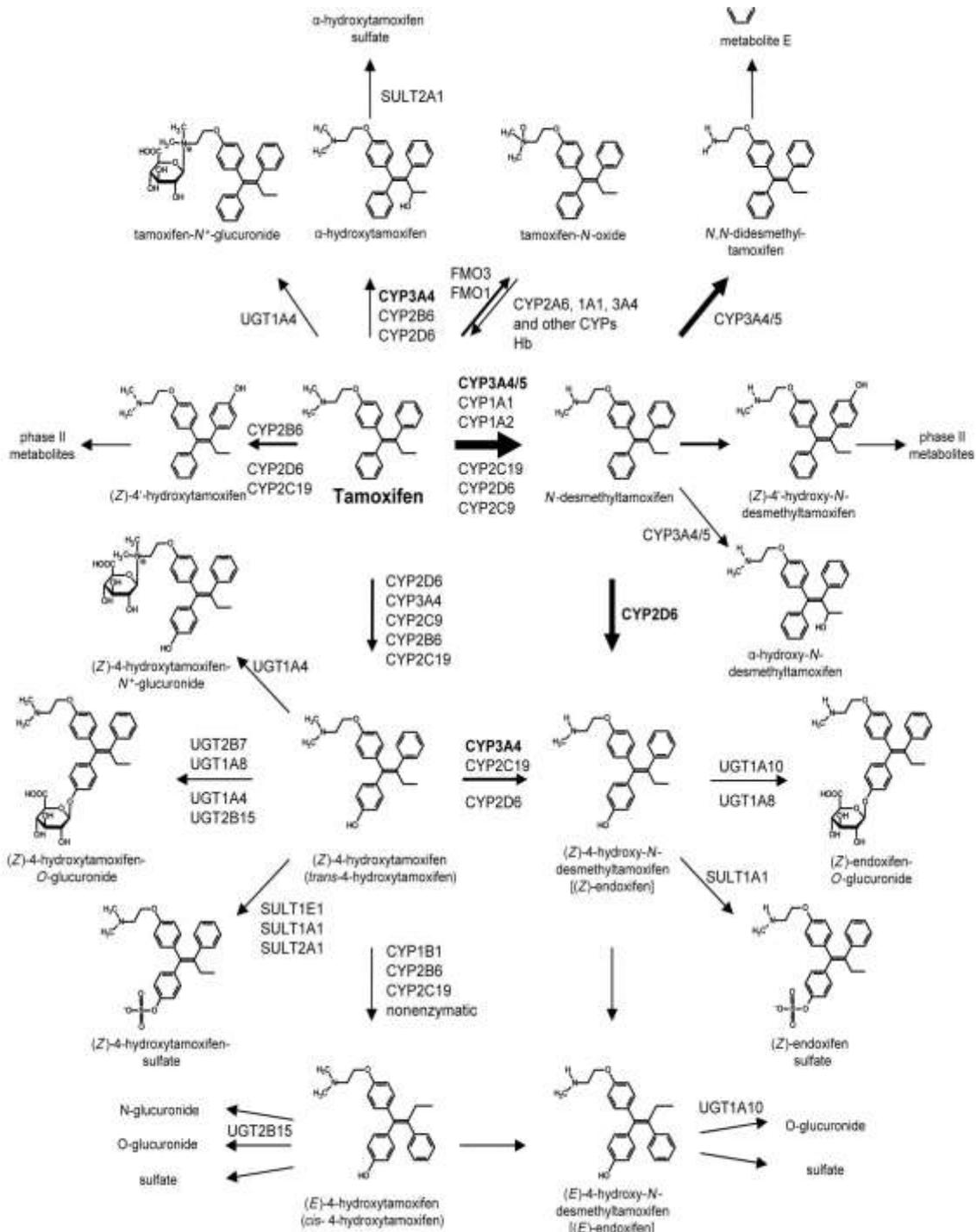
لوحظ في إحدى التجارب أن متوسط مستوى الأندوكسيفين يساوي (8,1 µg/L) (n=51) عند وجود نوعين من الاليلات للجين CYP2D6 الطافر مقارنة مع تركيز (20.7 µg/L) (n=55) عند وجود الاليل البري للجين نفسه (Lim et al ., 2007) .

مركب آخر يعد فعالاً سريريا هو 4-hydroxytamoxifen ويتم بواسطة عملية hydroxylation للتاموكسيفين ويتم بواسطة عدد من الأنزيمات منها (CYP2D6, 3A4, 2C9, 2B6, and 2C19) (Crewe et al ., 2002) ومقارنة مع الأندوكسيفين يعد تركيزه اقل في الدم ومن ثمَّ فعاليته اقل وماعدا 4-hydroxytamoxifen و endoxifen لم يعرف مركبات فعالة أخرى (Stearns et al ., 2003) .

أن إضافة مجموعة OH أي عملية hydroxylation للمركب 4-hydroxytamoxifen بواسطة (CYP3A4 و CYP2D6) يؤدي إلى تكوين مركب 3,4-dihydroxytamoxifen وهذا المركب يرتبط تكافلياً مع البروتين وال DNA ومن ثمَّ يساهم في تراكم التأثيرات السامة في الخلايا (Liu et al ., 2003) .

أما على المستوى الثاني للأيض فتتم عمليات O-glucuronidation للمركب 4-hydroxytamoxifen وتجري بواسطة أنزيم UDP-glucuronosyltransferases (UGTs) (Ogura *et al.* , 2007) UGT1A4, 2B15, 2B7, 1A8, 1A8 و UGT1A10 بواسطة glucuronidated عملية عليه فتتم على الأندوكسيفين فتتم عليه عملية glucuronidated بواسطة UGT1A10 و 1A8 ليكون O-glucuronide , وبالإضافة إلى أنّ المركبات الهيدروكسيلية التي تخضع للطور الثاني في العمليات الأيضية كذلك أنّ التاموكسيفين نفسه يرتبط ب UGT1A4 لتكوين N-glucuronide (Kaku *et al.* , 2004 ; Sun *et al.* , 2006) تتكون الكبريتات للمركبات 4-hydroxytamoxifen و endoxifen بواسطة sulfotransferases (SULTs) SULT1E1, 1A1, and 2A1)) و كلا المركبات تكون ذاتية في الماء و أقل سمية للجسم وقابلة لل طرح (Gjerde *et al.* , 2008)

استعراض المراجع



شكل (7-2) المسار الايضي للتاموكسيفين للتعاونيين لمرضى سرطان الثدي (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG), 2005)

المسارات الايضية والأنتزيمات الرئيسية مؤشر عليها بالأسم ذات اللون الأسود القاتم. Hb. هيموكلوبين , = UGT , sulfotransferase1A1 = SULT , FMO1, flavin-containing monooxygenase uridine diphosphate glucuroyltransferase

استعراض المراجع

وبذلك فإن عقار التاموكسيفين يتأبض في الكبد ويمر بالمرحلة الأولى ليصبح بشكل المركب الفعال ايندوكسيفين ويحتاج بذلك إلى أنزيمات cytochrome P-450 وأهمها (Singh et al.2011) (CYP2D6,CYP3A4/5)

7-14-2 التأثير المورثي على أيض التاموكسيفين The genetic influences on tamoxifen metabolism

1-7-14-2 الساييتوكروم P450 : Cytochrome P450

1-1 - 7 - 14 - 2 تعريف الساييتوكروم P450 : Cytochrome P450

الساييتوكروم P450 هو اسم عام يطلق على عائلة كبيرة من الأنزيمات التي تعمل على أيض معظم الأدوية وعدد لا يحصى من المواد الكيميائية ذات سمية للجسم وبالإضافة لذلك تلعب دورا مهما ومحوريا في بعض العمليات الفسيولوجية بما في ذلك الستيرويد والكوليستيرول والتمثيل الغذائي للأحماض الدهنية .

أن حدوث طفرة في جينات CYP450 تؤدي إلى نقص في إنتاج الأنزيمات ومن ثم تؤثر على وظيفة الأنزيم (McKinnon et al ., 2008) .

2-1-7-14-2 تاريخ وتسمية cytochrome P450 :

أطلق على هذه المجموعة باسم ساييتوكروم P450 عام 1960 كاسم مؤقت عندما لاحظوا تكون صبغة في الخلايا وأن هذه الصبغة عندما ارتبطت بأول اوكسيد الكربون أنتجت صباغ كانت ذروة امتصاصه على الطول الموجي 450 نانوميتر (Omura & Sato., 1962). وفي البداية كأن يعتقد بأن الساييتوكروم ينتج أنزيم واحد ولكن الآن قد تم اكتشاف ما يقارب 50 نوع من الأنزيمات.

3-1-7-14-2 التعدد الوراثي ل cytochrome P450 :

أنزيم P450 عبارة عن بروتين موجود في خلايا الكبد وقد يوجد أيضا في الأمعاء الدقيقة , الرنتين , الكلى , والدماغ والعائلة الرئيسية المسؤولة أيض الأدوية والمواد الكيميائية هي (CYP1, CYP2 , CYP3) وهناك عدة الأشكال المتماثلة isoform للساييتوكروم P450 (والأشكال المتماثلة هي تنوع للأنزيم CYP لكنه ينتج من جين واحد) والتي تصنف حسب تشابه تتابع الأحماض الامينية المكونة لها (Shimada et al 2004) كما في الجدول (1-5).

جدول (2-2) يبين التعدد الوراثي لcytochrome P450

Human P450 families	Functional members	Main functions
<i>CYP1 (3 subfamilies)</i>	1A1, 1A2, 1B1	Drug/xenobiotic metabolism
<i>CYP2 (13 subfamilies)</i>	2A6, 2A7, 2A13, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D7, 2E1, 2F1, 2J2, 2R1, 2S1, 2U1, 2W1	Drug/xenobiotic and steroid metabolism
<i>CYP3 (1 subfamily)</i>	3A4, 3A5, 3A7, 3A43	Drug/xenobiotic metabolism
<i>CYP4 (6 subfamilies)</i>	4A11, 4A22, 4B1, 4F2, 4F3, 4F8, 4F11, 4F12, 4F22, 4V2, 4X1, 4Z1	Arachadonic acid and fatty acid metabolism
<i>CYP5 (1 subfamily)</i>	5A1	Thromboxane A2 synthesis
<i>CYP7 (2 subfamilies)</i>	7A1, 7B1	Rate-limiting step of bile acid biosynthesis (cholesterol elimination)
<i>CYP8 (2 subfamilies)</i>	8A1, 8B1	Prostacyclin and bile acid biosynthesis
<i>CYP11 (2 subfamilies)</i>	11A1, 11B1, 11B2	Key steps in steroid biosynthesis
<i>CYP17 (1 subfamily)</i>	17A1	Testosterone and estrogen biosynthesis

استعراض المراجع

<i>CYP19 (1 subfamily)</i>	19A1	Estrogen biosynthesis (aromatase)
<i>CYP20 (1 subfamily)</i>	20A1	Unknown
<i>CYP21 (1 subfamily)</i>	21A2	Steroid biosynthesis
<i>CYP24 (1 subfamily)</i>	24A1	Vitamin D metabolism/inactivation
<i>CYP26 (3 subfamilies)</i>	26A1, 26B1, 26C1	Retinoic acid metabolism/inactivation
<i>CYP27 (3 subfamilies)</i>	27A1, 27B1, 27C1	Bile acid biosynthesis, vitamin D activation
<i>CYP39 (1 subfamily)</i>	39A1	Cholesterol metabolism
<i>CYP46 (1 subfamily)</i>	46A1	Cholesterol metabolism
<i>CYP51 (1 subfamily)</i>	51A1	Cholesterol biosynthesis

(Cytochrome P450 Standardised Nomenclature Committee)

أنّ التنوع الوراثي في CYP يؤدي إلى التنوع المظهري والذي يقسم إلى :

- ضعيفة أو فقيرة التأييض Poor Metabolizer : تتميز اثنين من الاليات المعابة أو التي بها خلل معين مثل حذف أو تعطيل احد المورثات .
- متغيرة متوسطة التأييض intermediate Metabolizer : وتقع بين فقيرة الأيض والمرتفعة الأيض .
- مرتفعة الأيض extensive metaboliser : ويتميز بحمل اثنين من الاليات الطبيعية والتي تعطي الصفة الطبيعية للأنزيم وتسمى أيضا الاليل (*1) .
- مرتفعة جدا في الأيض ultrarapid metaboliser : وعادة يحمل الاليل جين مضاعف وبذلك يعطي فعالية عالية للأنزيم ويكون بنسبة 10 – 16 % .

(Evans & Relling ., 1999 ; Bertz & Granneman ., 1997)

استعراض المراجع

أن حدوث طفرة وراثية في المورثات المسؤولة عن تكوين أنزيمات cytochrome P450 تؤثر على تكوين الأنزيم ومن ثم على وظيفته.

جدول (2-3) يبين توزيع اكثر الأنواع المهمة للجينات المسؤولة عن ايض الادوية وترددتها في بعض الأعراق.(Ingelman-Sundberg., 2001)

Enzyme	Major variant	Mutation	Consequence	Allele frequency (%)	
				Caucasians	Oriental
CYP2A6	CYP2A6*2	L160H	Inactive enzyme	1-3	0
	CYP2A6*3	2A6/2A7	Not known	0	0
	CYP2A6*4	Gene deletion	No enzyme	1	15
	CYP2A6*5	G479L	Defect enzyme	0	1
CYP2C9	CYP2C9*2	R144C	Reduced affinity for p450 reductase	8-13	0
	CYP2C9*3	I359L	Altered substrate specificity	7-9	2-3
CYP2C19	CYP2C19*2	Altered splicing site	Inactive enzyme	13	23-32
	CYP2C19*3	Stop codon	Inactive enzyme	0	6-10
CYP2D6	CYP2D6*2xn	Gene duplicate	Increased activity	1-5	0-2
	CYP2D6*4	Defective splicing	Inactive enzyme	12-21	1
	CYP2D6*5	Gene deletion	No enzyme	4-6	6
	CYP2D6*10	P34S, S486T	Unstable enzyme	1-2	50
	CYP2D6*17	T107I, R296C, S486T	Reduced affinity for substrates	0	In Blacks, 34% allele frequency
CYP2E1	CYP2E1*2	R76H	Less enzyme expressed	0	1
	CYP2E1*3	V389I	No effects	<1	0
	CYP2E1*4	V179I	No effects	<1	N.D.
CYP3A4	CYP3A4*2	S222P	Higher K_m for substrate	3	0
	CYP3A4*3	M445T	Unknown	0	<1
	CYP3A4*4	I118V	Decreased	0	<1
	CYP3A4*5	P218R	Decreased	0	<1
	CYP3A4*6	831 insA	Decreased	0	<1

كما ذكر في الجدول أعلاه وجود العديد من العوائل وتحت العوائل التي تشارك في ايض التاموكسيفين والتي تكون متعددة الطرز :

2-7-14-2 المورثات المسؤولة عن ايض عقار التاموكسيفين metabolic gene of tamoxifen

: Cytochrome P 450 2 D 6 (CYP 2D6) 1-2-7-14-2

يقع المورث *CYP2D6* على الذراع الطويلة للكروموسوم 22 و 24 ويتكون من عدة أليلات ويختلف تردد هذه أليلات باختلاف الأعراق إذ تكون *CYP2D6*2* , *CYP2D6*3* , *CYP2D6*4* , *CYP2D6*5* , *CYP2D6*6* , *CYP2D6*10* و *CYP2D6*41* متواجدة أكثر في القوقازيين أما *CYP2D6*2* و *CYP2D6*17* توجد أكثر في الأفارقة *CYP2D6*10* يوجد في الآسيويين (Bradford ., 2002).

وينتمي إلى

cytochrome P450, family 2, subfamily D,) *CYP2D7P1*
CYP2D7P2 (cytochrome P450 family 2, (7pseudogene 1 polypeptide
 ,subfamily D, polypeptide 7 pseudogene 2)
CYP2D8P1 (cytochrome P450, ,subfamily D Polypeptide
 family 2, 8 pseudogene 1
CYP2D8P2 (cytochrome P450, family 2, subfamily D,
 polypeptide 8 pseudogene 2)
 والتي تسمى بشكل عام بالمورثات الكاذبة *CYP2D7* و *CYP2D8* (Zanger ., 2008).

وجد أن الطرز المورثة *CYP2D6*3* , *CYP2D6*4* , *CYP2D6*5* , *CYP2D6*6* تؤدي إلى عدم وجود الأنزيم الوظيفي أما *CYP2D6*9* , *CYP2D6*10* , *CYP2D6*17* و *CYP2D6*41* فينتج انخفاض في فعالية الأنزيم (Zanger et al ., 2004).

يتكون جين *CYP2D6* من 9 اكسون و 8 أنترون ويحتوي على تعدد شكلي واسع وقد اكتشف الطرز المظهري قبل 30 عام وقد قسم إلى , poor metabolizer (pm) , intermediate metapolizer (Im) , extensive metabolizer (EM) , ultrarapid metabolizer (UM) وأن الأليل 4 للجين *CYP2D6* ينتشر بشكل كبير عند القوقازيين إذ أن معظم القوقازيين (7-10%) عبارة عن PMs و (10-15%) IMs وأكثر من (10-15%) عبارة عن Ums (Raimundo et al ., 2004).

PMs فسر على أساس أكثر من 99% من المورث يحتوي على 2 من الأليلات غير الوظيفية وأكثر من 20 أليل تكون غير مفيدة (Zanger ., 2008)

ومن ثم فمن الممكن التنبؤ بالنمط المظهري لل PM أي عدم وجود وظيفة تحفيزية للأنزيم من خلال النمط الوراثي المورثي للمريض (Marez et al ., 1997)

استعراض المراجع

EM يتناسب هذا المظهر الوراثي مع وجود 1 أو 2 من الاليلات البرية مثل *2, *1 من الاليلات الوظيفية وهذا الطراز المظهري يمكن أن يفصل جينياً إلى متماثلة homozygous ومتباينة heterozygous اعتماداً على إذا ما كانت تحمل 1 أو 2 من الاليلات الوظيفية, بسبب ترافق النوع المتباين الذي يحمل *1 أو *2 من الاليلات الوظيفية مع ال PM فإن ذلك يؤثر على إنتاج ووظيفة الأنزيم وقد أطلق نوعاً مظهرياً يسمى IMs مع ملاحظة أن الطراز المظهري والوراثي له متميز عن الطراز المورثي المتباين لل Ems والذي ينطوي على ضعف التعبير المورثي ومن ثمّ وظيفة الأنزيم وهذه المتغيرات تشمل (*10, *9, *41) أو المتغيرات غير الوظيفية (Raimundo et al ., 2004 ; Zanger et al ., 2001).

أجريت دراسة على 80 امرأة مشخصة بالإصابة بسرطان الثدي ويتناولن عقار التاموكسيفين وقد تم دراسة النمط المورثي وتركيز عقار التاموكسيفين في البلازما فقد وجد أن النساء اللاتي يحملن أليلات متماثلة التلقيح homozygous لضعيفة الايض كأنّ تركيز الأندوكسيفين هو 26% مع المورث البري المتماثل الزايجوت أما اللواتي يحملن المتباين الزايجوت heterozygotes (النوع البري / PM) كأنّ التركيز 55% (Goetz et al ., 2005).

اكتشف إلى الآن ما يقارب 100 نوع من أليلات و 15 من تلك الاليلات تعتبر غير وظيفية ومن ثمّ جين غير فعال ناتج عن ربط شاذ , حدوث طفرة في قاعدة معينة , حذف أو إدخال صغير أو حذف كبير أي حذف كروموسوم كامل للجين CYP2D6 أو جينات هجينة CYP2D6/CYP2D7 أو طفرات تسبب نقص الحديد (Algeciras-Schimmich et al ., 2008).

: Cytochrome P 450 2 B 6 (CYP 2B 6) -2-2-7-14-2

تم العثور على العديد من الطرز الوراثة للجين CYP 2B 6 التي تتلاءم مع استقلاب العديد من الأدوية (Rotger et al ., 2005).

فقد أظهرت الدراسات الحديثة وجود دور محدود لهذا المورث في ايض التاموكسيفين

(Coller et al ., 2002).

: Cytochrome P 450 CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 3-2- 7-14-2

تعتبر هذه الأنزيمات من أهم الأنزيمات في استقلاب الدواء حيث أن 40% من الأدوية

تأيض باشتراك هذه الأنزيمات (Zanger et al ., 2008).

وجد أن مواقع هذه المورثات تكون قريبة من بعضها على الكروموسوم 7 للذراع

(sata et al ., 2000) q21.1.

استعراض المراجع

يعد *CYP3A4* من الأنزيمات المهمة في ايض التاموكسيفين إذ أنّ له دورا مهما في تحويل التاموكسيفين إلى *N-desmethyl-tamoxifen* و *hydroxy-tamoxifen-4* إلى *endoxifen* (Desta et al., 2004).

يصنف *CYP3A4* من ضمن عائلة السايوكروم 450 , العائلة 3 , تحت العائلة A , للبيتيد 4 ويعدمن أهم الأنزيمات إذ يكون مسؤول عن ايض 40 % من الأدوية (Zanger et al., 2008).

يحتوي *CYP3A4*1B* على *single nucleated polymorphism SNP* موجود على الموقع *-A290G promoter region* والذي يبدو أنه يعطي فعالية أنزيمية في المختبر اظهر أنّها تنشط الفعالية بشكل مضاعف مقارنة بالنمط المورثي البري *CYP3A4*1A* (Amiramini et al., 2000) إلا أنّه لم تظهر الدراسات ارتباط *CYP3A4*1B* بفعالية الأنزيم العالية داخل الجسم الحي (Wandel. et al., 2000)

يعد *CYP3A4* من الأنزيمات الأكثر وفرة في الكبد وهو يتوسط تحويل التاموكسيفين إلى *N-desmethyltamoxifen (N-DMT)* و *4-hydroxytamoxifen (4-OHT)* وقد يساهم هذا الأنزيم في التحويلات الثانوية لتلك المركبات الابتدائية (Coller., et al., 2004). توجد أدلة قليلة على ارتباط التعدد المظهري بوظيفة الأنزيم مع وجود حالات نادرة تدل على أنّ الطفرة في جين *CYP3A4* تكون مسؤولة عن التراكمات السمية للخلايا (Westlind-Johnsson et al., 2006)

على العكس من المورث *CYP3A5* إذ يكون متعدد الشكل ويقع ضمن السايوكروم 450 , العائلة 3 , تحت العائلة A , للبيتيد 5 وتشير الأدلة على أنّ هذا المورث يكون غير فعال بنسبة (85 - 95 %) في القوقازيين مقارنة في الشعوب من أصل إفريقي مما يسبب قلة في إنتاج البروتين ومن ثمّ الأنزيم في القوقازيين مقارنة بالأفارقة بالأخص الاليات *7 , *CYP3A5*6* (Anglicheau et al., 2007).

أنّ النمط *CYP3A5*3* يوجد في الأنترون 3 *intron* والذي ينتج شكلا آخر في الاكسون 3B والذي يسبب توقف في التفسير ومن ثمّ يؤدي إلى ترجمة أنزيم غير وظيفي (Kuehl. et al., 2001)

من الصعب أنّ تحدد دور كل من المورثين *CYP3A4* و *CYP3A5* والتفريق بينهما في مساهمتهما في التمثيل الدوائي وذلك لتشابه كل من التركيب البروتيني لهما وفي الواقع أنّ احد هذه الأنزيمات قد تعوض فقدان الآخر (Brauch et al., 2009).

استعراض المراجع

وجد في بعض الدراسات أنّ الطراز الوراثي $CYP3A5*3$ يرتبط مع انخفاض فعالية الأنزيم (Kuehl et al., 2001).

أما الدراسات الأخيرة لم تجد أي ارتباط بين $CYP3A5*3$ وبين انتكاسة المرض (مرض سرطان الثدي). معدل البقاء أو معدل الخلو من المرض (Goetz et al., 2005).

بينما أظهرت دراسات أخرى أنّ الطرز الوراثية للجين $CYP3A5$ غير مرتبطة مع مستويات المركبات الايضية للتاموكسيفين في مصل الدم (AN et al., 2005).

وفي الدراسات الأخيرة لم يلاحظ أي فائدة أو ميزة سريرية لتحديد النمط الوراثي لجين $CYP3A$ للنساء المصابات بسرطان الثدي اللاتي يستلمن عقار التاموكسيفين ولا توجد أي دراسات منشورة على دور المورث $CYP3A7$ في ايض التاموكسيفين (William et al., 2007).

:Cytochrome P450 CYP2C19, CYP2C9 4-2-7-14-2

$CYP2C19$ له دور في تحويل التاموكسيفين إلى مركباته الايضية الفعالة (Crewe et al., 2002) ولهذا المورث العديد من الطرز الوراثية ومنها ما هو مرتبط مع ضعف في فعالية الأنزيم مثل ($CYP2C19*2, *3, *4, *5, *6, *7, *8$) (Desta et al., 2002).

أما النمط المورثي $CYP2C19*17$ فهو مرتبط مع النمط المظهري ما فوق الفعال وعند دراسة النمط الوراثي لـ 621 امرأة مصابة بسرطان الثدي والتي تعالج باستخدام عقار التاموكسيفين لوحظ علاقة بين النجاة من المرض مع النمط $CYP2C19*17$ أكثر وأفضل من النساء اللاتي يحملن الطرز $*1, *2, *3$ (Schroth et al., 2007).

في اليابان أظهرت دراسة لـ 173 امرأة مصابة بسرطان الثدي و تعالجن بالتاموكسيفين وجد أنّ الطرز $CYP2C19*2/*2$ و $CYP2C19*3/*3$ مرتبطة مع النقص في فعالية الأنزيم ولم تشكل أي فرق في البقاء على قيد الحياة أو عدم رجوع المرض مقارنة مع النوع البري (Okishiro et al., 2009).

$CYP2C9$ ينتمي إلى عائلة السايوكروم (cytochrome P450, family2)

(Subfamily C, polypeptide 9) يحتوي هذا المورث على أكثر من 30 أليل متنوع إذ وجد أنّ الأليل $*2$ و $*3$ مرتبطة بقلة فعالية الأنزيم (Lee et al., 2002).

وجد أنّ كل من الليلين موجود بنسبة 35% في القوقازيين ويوجد بنسبة اقل في كل من الأفارقة والأسويين ولم يجد له أهمية كبيرة في ايض التاموكسيفين (Garcia-Martin et al., 2006).

الفصل الثالث

المواد وطرق
العمل

MATERIALS AND METHODS

المواد وطرق العمل

MATERIALES AND METHODS

: Materials and Instrument 1-3 الأجهزة و المواد

:Instrument 1-1-3 الأجهزة

المنشأ	الشركة	الأجهزة والمعدات	التسلسل
Japan	Thermo scientific	Centrifuge	.1
UK	Biotek	ELISA	.2
Korea	Bioneer	Exispin centrifuge	.3
UK	Shandod Scientific	Gel electrophoresis	.4
German	Mammert	Incubator	.5
Belgium	CYAN	Micropipettes 5-50, 0.5-10, 100-000µl	.6
Korea	Samsung	mobile camera	.7
Germany	Mammert	Oven	.8
USA	Roche	reflotron	.9
Lebanon	Concord	Refrigerator	.10
Germany	Sartorius	Sensitive Balance	.11
Korea	Bioneer	Thermocycler PCR	.12
Japan	ATTO	UV Transilluminator	.13
Belgium	CYAN	Vortex	.14
Germany	Mammert	Water Bath	.15

2-1-3 المواد الكيماوية Chemical materials

المنشأ	الشركة	المواد الكيماوية	التسلسل
Korea	Bioneer	AccuPower™ PCR PreMix	.1
		Taq DNA polymerase dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) Tris-HCl pH 9.0 KCl MgCl ₂ Stabilizer and Tracking dye	.2
France	biolabo SA	albumin kit	.3
France	biolabo SA	bilirubin by	.4
USA	monobind	Estradiol hormone kit	.5
France	biolabo SA	fibrinogen kit	.6
Thailand	geneaid	Genomic DNA Mini Kit (Blood) GT buffer GB buffer W1 buffer Wash buffer Elution buffer GD column Collection tube 2ml	.7
USA	linear chemical S.L	LDH kit	.8
France	biolabo SA	LDL-CHOLESTEROL kit	.9

USA	monobind	Progesterone hormone kit	.10
USA	Monobind	Prolactin hormone kit	.11
New England	Biolabs	Restriction enzyme (<i>BstNI</i>) (<i>BspCNI</i>)	.12
USA	Promega	Restriction enzyme (<i>MboII</i>)	.13
USA	monobind	Testosterone hormone kit	.14
France	biolabo SA	Total cholesterol	.15
France	biolabo SA	total protein kit	.16

2-3 تصميم الدراسة : Study Design

صممت الدراسة الحالية لقياس بعض المعايير الهرمونية و الكيموحيوية ودراسة النمط الوراثي لبعض جينات الايض لمريضات سرطان الثدي اللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين مقارنة مع عينة من النساء الطبيعيات وتشمل المعايير الآتية :

- 1- قياس هرمون الاستراديول.
- 2- قياس هرمون الحليب.
- 3- قياس هرمون الشحمون الخصوي.
- 4- قياس بعض إنزيمات الكبد منها (ALP , GOT , GPT , Y-GT , LDH).
- 5- قياس بعض المعايير الكيموحيوية الأخرى منها (Albumin , Globulin , Fibrinogen , HDL , LDL , Total cholesterol)
- 6- دراسة النمط الوراثي لبعض الجينات المسؤولة عن ايض التاموكسيفين (*CYP3A4/5* و *CYP2D6*) باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism PCR (RFLP PCR)

3-3 مجموعتي الدراسة : Study Groups

1-3-3 مجموعة المرضى : 100 عينة من مريضات السرطان يتناولن عقار التاموكسيفين 20 ملغم / اليوم وتتراوح أعمارهن بين 20-80.

2-3-3 مجموعة الأصحاء : 30 عينة من النساء الطبيعيات وبنفس أعمار مجموعة المرضى.

جمعت معلومات التاريخ المرضي والحالة الاجتماعية وغيرها من المعلومات التي تناسب حالة الدراسة وفق استمارة مخصصة لهذا الغرض (ملحق أ).

4-3 طرائق العمل Methods :

1-4-3 جمع عينات الدم :Collection of blood samples

جمعت عينات الدم بصورة عشوائية (100 عينة) من نساء مصابات بسرطان الثدي اللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين 20 ملغم / اليوم ويراجعن معهد الإشعاع الذري في بغداد للمدة من نيسان ولغاية تموز 2013 بالإضافة إلى (30 عينة) من نساء سليمات قد راجعن مركز الكشف المبكر لسرطان الثدي وقد تم التأكد من عدم إصابتهن بالمرض .

جمع 5 مل من الدم وقد قسم الدم إلى قسمين 2 مل وضع في أنابيب تحتوي مادة EDTA لمنع تخثر الدم حفظت في الثلجة لحين استخلاص DNA في اليوم التالي و3 مل وضع في أنابيب لا تحتوي هذه المادة ووضع في درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة بعدها تم إجراء عملية الطرد المركزي للدم 3000 دورة / 15 دقيقة وفصل المصل ووضع في أنابيب ابندروف معقمة وقد علمت الأنابيب وحفظت في درجة -20 لغرض الدراسة الوظيفية (Dorgan *et al.*,2010).

2-4-3 الدراسة الوظيفية Physiological study

جمعت عينات دم من النساء المصابات والسليمات على حد سواء وقد اخذ 3 مل من مجموع الدم للدراسة الوظيفية وقد أجريت في مختبر خاص:

1-2-4-3 قياس هرمون الاستراديول Measurement of Estaradiol E2 hormone

استخدم العدة الجاهزة Kit من USA ,Monobind

الكواشف REAGENTS:

أ- Estradiol Calibrators: قارورة 1 ml : يوزع مصل الدم على 7 قارورات وبتركيز: (A) 0 و (B) 20, (C) 100, (D) 250, (E) 500, (F) 1500 و (G) 3000 pg/ml حفظت تحت درجة حرارة من 2-8 درجة مئوية .

المواد وطرق العمل

ب- يضاف إنزيم كاشف الاسترادايول (HRP) horseradish peroxides والذي يرتبط مع البروتين ويعطي اللون الأحمر ويحفظ بدرجة حرارة 2-8 درجة مئوية.

ت- يضاف 0.6 ml استرادايول بيوتين الكاشف Estradiol Biotin Reagent ويحتوي هذا الكاشف على الصبغة الخضراء بعدما يضاف الكاشف للأيقونات يحفظ في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية.

ث- تؤخذ لوحة تحتوي على 96 حفرة مغطاة ويوضع في كل حفرة 1 µg/ml من Streptavidin وتغلف بورق ألمنيوم ويحفظ في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية.

ج- يضاف محلول غسيل 20 ml لكل أيقونة يحفظ في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية.

ح- يضاف 12 ml من الكاشف المركز الذي هو عبارة عن tetramethylbenzidine (TMB) و hydrogen peroxide (H₂O₂) يحفظ في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية.

خ- إضافة 8 ml لكل قارورة من محلول إيقاف المحلول .

طريقة العمل (حسب طريقة عمل الشركة المصنعة للمعدة الجاهزة) :

قبل الشروع بطريقة العمل تستخرج جميع الكواشف والمصل والمحفوظة بدرجة (4 م°) وتوضع في درجة حرارة الغرفة (25 م°)

- 1- تعلم الحفر في اللوحة لكل من المرضى والصحاء .
- 2- وضع 25 µL من المصل في كل حفرة.
- 3- إضافة 150 µL من كاشف البيوتين لكل حفرة .
- 4- مزج محتويات الصفيحة لمدة 20-30 ثانية بواسطة جهاز Vortex .
- 5- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.
- 6- إضافة 150 µL من إنزيم الاسترادايول الكاشف.
- 7- مزج محتويات الصفيحة لمدة 20-30 ثانية بواسطة جهاز Vortex .

المواد وطرق العمل

- 8- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة.
- 9- تخلص من العالق عن طريق ترسيب المحتويات في اللوحة.
- 10- إضافة 350µl من محلول الغسل لكل حفرة وتركها لحين الترسيب وبعدها تخلص من العالق وتكرر العملية 2-3 مرات.
- 11- إضافة 100µl من محلول المركز substrate solution لكل حفرة ولا ترج اللوحة.
- 12- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة.
- 13- إضافة 50µl من محلول الموقف stop solution بعدها ترج اللوحة برقة لمدة 15-30 ثانية .
- 14- قراءة النتيجة لكل حفرة على طول موجي nm450 وينبغي قراءة النتيجة خلال 30 دقيقة من إضافة المحلول الموقف.

2-2-4-3 قياس هرمون الحليب Measurement of prolactin hormone:

استخدم العدة الجاهزة Kit من USA , Monobind

الكواشف REAGENTS:

- أ- prolactin Calibrators : قارورة 1 ml : يوزع مصل الدم على 6 قارورات وبتراكيز: 0(A),5(B),10(C),25(D),50(E) و 100(F) ng/ml
- ب- يضاف 13 ml من إنزيم كاشف الهرمون horseradish peroxides (HRP) والذي يرتبط مع البروتين ويعطي لون معين.
- ت- تؤخذ لوحة تحتوي على 96 حفرة مغطاة ويوضع في كل حفرة 1 µg/ml من Streptavidin وتغلف بورق ألمنيوم مع وضع عامل مجفف.
- ث- يضاف محلول غسيل 20 ml لكل أيقونة وكذلك يحتوي على مواد حافظة.
- ج- يضاف 7 ml من الكاشف المركز A الذي هو عبارة عن tetramethylbenzidine (TMB)
- ح- يضاف 7 ml من الكاشف المركز B الذي هو عبارة عن hydrogen peroxide (H₂O₂).

المواد وطرق العمل

خ- إضافة 8 ml لكل قارورة من محلول إيقاف المحلول الذي يحتوي حامض قوي (1N HCL).

طريقة العمل (حسب طريقة عمل الشركة المصنعة للعدة الجاهزة) :

- 1- تعلم الحفر في اللوحة لكل من المرضى والصحاء .
- 2- وضع 25 µL من المصل في كل حفرة.
- 3- إضافة 100µl من كاشف الهرمون (البيوتين) لكل حفرة .
- 4- مزج محتويات الصفيحة لمدة 20-30 ثانية بواسطة جهاز Vortex .
- 5- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 60 دقيقة.
- 6- تخلص من العالق عن طريق ترسيب المحتويات في اللوحة.
- 7- إضافة 300µl من محلول الغسل لكل حفرة وتركها لحين الترسيب وبعدها تخلص من العالق وتكرر العملية 2-3 مرات.
- 8- إضافة 100µl من محلول المركز substrate solution لكل حفرة ولا ترج اللوحة.
- 9- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة.
- 10- إضافة 50µl من محلول الموقف stop solution بعدها ترج اللوحة برقة لمدة 15-30 ثانية.
- 11- قراءة النتيجة لكل حفرة على طول موجي nm450 وينبغي قراءة النتيجة خلال 30 دقيقة من إضافة المحلول الموقف.

3-2-4-3 قياس هرمون الشحمون الخصوي Measurement of testosterone hormone

استخدم العدة الجاهزة Kit من USA ,Monobind

الكواشف REAGENTS:

أ- يوزع المصل على القوارير: قارورة 1 ml : يوزع مصل الدم على 7 قارورات وبتراكيز 0 (A) ,0.1 (B),0.5 (C) ,1(D), 2.5 (E),5(F), 12(G) in .ng/ml

المواد وطرق العمل

- ب- يضاف إنزيم كاشف الهرمون (HRP) horseradish peroxides والذي يرتبط مع البروتين ويعطي اللون الأزرق.
- ت- تحضير محلول عازل الهرمون : 7 ml لكل قارورة ويحتوي هذا المحلول على محلول بفر, صبغة حمراء, ومواد حافظة .
- ث- يضاف 7 ml من كاشف الهرمون (بيوتين) ويحتوي هذا الكاشف على الصبغة الصفراء .
- ج- تؤخذ لوحة تحتوي على 96 حفرة مغطاة ويوضع في كل حفرة 1 µg/ml من Streptavidin وتغلف بورق ألومنيوم بوجود عامل مجفف.
- ح- يضاف محلول غسيل 20 ml لكل أيقونة وكذلك يحتوي على مواد حافظة.
- خ- يضاف 7 ml من الكاشف المركز A الذي هو عبارة عن tetramethylbenzidine (TMB)
- د- يضاف 7 ml من الكاشف المركز B الذي هو عبارة عن hydrogen peroxide (H₂O₂).
- ذ- إضافة 8 ml لكل قارورة من محلول إيقاف المحلول الذي يحتوي حامض قوي (1N HCL).

طريقة العمل (حسب طريقة عمل الشركة المصنعة للعدة الجاهزة) :

- 1- تعلم الحفر في اللوحة لكل من المرضى والصحاء .
- 2- وضع 10 µL من المصل في كل حفرة.
- 3- إضافة 150 µL من كاشف الهرمون البيوتين لكل حفرة .
- 4- مزج محتويات الصفيحة لمدة 20-30 ثانية بواسطة جهاز Vortex .
- 5- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 60 دقيقة.
- 6- تخلص من العالق عن طريق ترسيب المحتويات في اللوحة.
- 7- إضافة 300 µL من محلول الغسل لكل حفرة وتركها لحين الترسيب وبعدها تخلص من العالق وتكرر العملية 2-3 مرات.
- 8- إضافة 100 µL من محلول المركز substrate solution لكل حفرة ولا ترج اللوحة.

المواد وطرق العمل

- 9- بعدها تترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 15 دقيقة.
- 10- إضافة 50µl من محلول الموقوف stop solution بعدها ترح اللوحة برقة لمدة 15-30 ثانية.
- 11- قراءة النتيجة لكل حفرة على طول موجي nm450 وينبغي قراءة النتيجة خلال 30 دقيقة من إضافة المحلول الموقوف.

4-2-4-3 قياس مستوى الألبومين Measurement of albumin:

استخدم عدة جاهزة من France , biolabo SA

الكواشف :

القارورة Bromocresol Green R1:

83 mmol/L حامض السكسينك

167µmol/L صبغة البروموكريسول الخضراء (BCG)

50 mmol/L هيدروكسيد الصوديوم

1.00 g/L Polyoxyethylene monolauryl ether

القارورة R2: محلول قياسي

5.0 g/dL (725 µmol/L) ألبومين بقري

طريقة العمل :

Assay	Standard	Blank	أنابيب معلمة
2.5 mL	2.5 mL	2.5 mL	الكواشف

المواد وطرق العمل

		5 µL	مياه مسحوية المعادن
5 µL			العينة
	5 µL		المحلول القياسي
تمزج جيدا ويتم القياس على طول موجي 630 nm (620-640) خلال 3 دقائق.			

ويتم حساب النتيجة كآتي :

Abs (assay)

Standard concentration × _____ = النتيجة

Abs (standard)

3-2-4-5 قياس الفايبرينوجين Measurement of fibrinogen

استخدم عدة جاهزة من France , biolabo SA

الكواشف :

الكاشف الأول : lyophilized titrated calcium thrombin والذي يحتوي على

مادة خاصة مانعة للهيبارين (والذي يمنع تخثر الدم) وبذلك يسمح بتجمع الفايبرينوجين .

الكاشف الثاني : جاهز للاستخدام .

طريقة العمل :

1- يتم فحص البلازما في أنابيب اختبار معقمة ويضاف الكاشف الثاني بتركيز 1:10

(1 بلازما + 9 محلول بفر) ويلاحظ وقت التخثر بين 8-25 ثانية ويمكن قراءة

النتيجة مباشرة من جدول مرفق مع العدة.

2- إذا كان الفايبرينوجين مرتفعا فان زمن التخثر يكون اقل من 8 ثوان أما إذا كان

منخفضا فزمن التخثر يكون أكثر من 25 ثانية.

3-2-4-6 قياس مستوى الكلوبولين Measurement of globulin

المواد وطرق العمل

ويتم قياسه حسب المعادلة :

كلوبيولين = البروتين الكلي - ألبومين .

ويقاس البروتين الكلي حسب العدة الجاهزة من France , biolabo SA :

القارورة biuret reagent R1

370 mmol/L

هيدروكسيد الصوديوم

10 mmol/L

ترنترات الصوديوم-بوتاسيوم

3mmol/L

يوديد البوتاسيوم

3mmol/L

كبريتيد النحاس II

القارورة R2: محلول قياسي

6 g/dL (725 µmol/L)

ألبومين:

طريقة العمل :

Assay	Standard	Blank	أنابيب معلمة
1 mL	1 mL	1 mL	الكواشف
		20 µL	مياه مسحوبة المعادن
20 µL			العينة
	20 µL		المحلول القياسي
تمزج جيدا ويتم القياس على طول موجي 550 nm خلال 10 دقائق مقابل المحلول Blank .			

Abs (assay)

Standard concentration × _____ = النتيجة

Abs (standard)

المواد وطرق العمل

7-2-4-3 قياس الكوليستيرول الكلي : Mesurment of total cholesterol

استخدم العدة الجاهزة من France , biolabo SA

الكواشف

القارورة 1

100 mmol/L

محلول بفر فوسفات

5 mmol/L

4 كلورو-فينول

2.3 mmol/L

كوليت الصوديوم

1.5 mmol/L

Triton x 100

القارورة 2 الإنزيمات :

100 IU/L <

او كسيديز الكولسترول (CO)

170 IU/L <

استريت الكولسترول (CE)

1200 IU/L <

إنزيم بيرو كسيد (POD)

0.25 mmol/L

4 - Amino – antipyrine (PAP)

167 µmol/L

PEG 6000

القارورة 3

200 mg/dL (5.17 mmol/L)

كولسترول

طريقة العمل :

Assay	Standard	Blank	أنابيب معلمة
1 mL	1 mL	1 mL	الكواشف
		10 µL	مياه مسحوبة المعادن
10 µL			العينة
	10 µL		المحلول القياسي
تمزج جيدا ويترك لمدة 5 دقائق ويتم القياس على طول موجي (480-520) nm 550 nm خلال ساعة دقائق مقابل المحلول Blank .			

Abs (assay)

Standard concentration × _____ = النتيجة

Abs (standard)

8-2-4-3 قياس البروتين الدهني منخفض الكفاءة Measuring of low density lipoprotien LDL

استخدم عدة جاهزة من France , biolabo SA

تحضير الكواشف حسب الطريقة المذكورة في العدة الجاهزة :

القارورة R1

محلول بفر pH 6.3 MES

اوكسيديز الكولسترول

حامض الاسكوريك

استريز الكولسترول

4-amino-antipyrine

منصف 1

بيروكسيديز

مواد حافظة

القارورة R2

DSBmT

محلول بفر pH 6.3 MES

منظف 2

مواد حافظة

MES : morpholino-ethane-sulfonic acid

DSBmT : N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

طريقة العمل:

Assay	Calibrator	Blank	تجهيز الماصة الشعيرية
300 µL	300 µL	300 µL	الكاشف R1
		300 µL	التدريج Calibrator
300 µL			العينة

المواد وطرق العمل

امزج بقوة وبعدها اتركه لمدة 5 دقائق في درجة حرارة 37 C وتسجيل قراءة R1 الامتصاص على درجة 546 nm وقراءته مقابل blank			
Assay	Calibrator	Blank	بالإضافة
100 µ L	100 µ L	100 µ L	الكاشف R2
امزج بقوة وبعدها اتركه لمدة 5 دقائق في درجة حرارة 37 C وتسجيل قراءة R1 الامتصاص على درجة 546 nm وقراءته مقابل blank			

وتحسب النتيجة كالآتي :

$$\text{Abs. Assay} \times \frac{\text{Calibrator concentration}}{\text{Abs. Calibrator}} = \text{LDL-C}$$

9-2-4-3 قياس البروتين الدهني عالي الكثافة Measurement of high density lepoprotien HDL

تم قياس ال HDL بواسطة جهاز ال reflatron حسب الطريقة المذكورة مع الجهاز وجهاز Reflotron® يشبه جهاز الفوتوميتر ويقوم بكل الوظائف مثل المعايرة التلقائية تنفيذ وتقييم وحساب النتيجة.

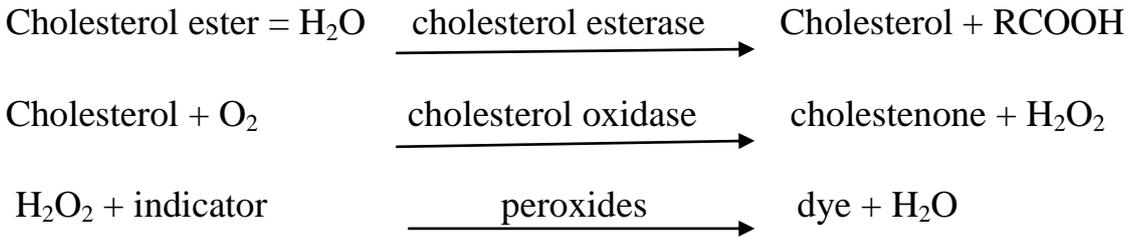
ويستخدم فيه أشربة كاشفة وخاصة لكل قياس ويستخدم مبادئ الكيمياء الحياتية ويستخدم الدم الكامل , المصل , البلازما وكذلك البول. ويستخدم الخطوات التالية في العمل:

- تجهيز (30 µL) من عينة الدم إلى الشريط الخاص لكل معيار.
- ادخل الشريط في الجهاز.
- قراءة النتيجة بعد 3 دقائق.

المواد وطرق العمل

وتتكون طبقة كاشفة لكل معيار يختلف عن الآخر ويستخدم المصل لقياس HDL ويعتمد على المبدأ التالي:

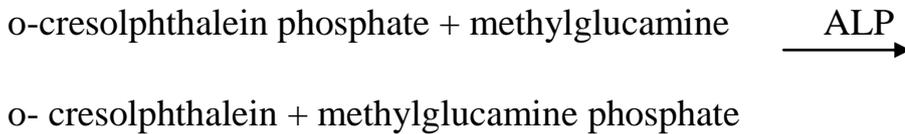
- 1- Precipitation of chylomicrons , VLDL and LDL with dextran sulphate / Mg²⁺
- 2- Determination of HDL cholesterol



Indicator : 4-(4- dimethylaminophenyl)-5-methyl-2-(3,5-dimethoxy-4-hydroxyphenyl) imidazole dihydrochloride

10-2-4-3 قياس إنزيم (ALP) Measurement alkaline phosphate :

وقد استخدم جهاز reflotron وقد اعتمد الاختبار على المبدأ حسب الطريقة المذكورة مع الجهاز:



مع طول موجي 567 nm

11-2-4-3 قياس إنزيم (GGT) Measurement of gamma glutamyltransferase or Y GT

المواد وطرق العمل

وقد استخدم جهاز reflotron وقد اعتمد الاختبار على المبدأ حسب الطريقة المذكورة

مع الجهاز:

Glycylglycin + Y-glutamyl-3-carboxy-1,4-phenylene diamine

$\xrightarrow{\text{Y GT}}$ Y-glutamylglycyl-glycine + 3-carboxy-1,4-phenylene diamine

3-carboxy-1,4-phenylene diamine + N-methylantranilic acid + 6

$(\text{Fe}(\text{CN})_6)^{3-} \longrightarrow \text{dye} + 6 (\text{Fe}(\text{CN})_6)^{4-}$

على طول موجي 642 nm

12-2-4-3 قياس إنزيم (AST) Measurement of Aspartate transaminase (AST)

وقد استخدم جهاز reflotron وقد اعتمد الاختبار على المبدأ حسب الطريقة المذكورة مع الجهاز:

A-ketoglutarate + alanine sulphinate $\xrightarrow{\text{AST}}$ glutamate + pyruvate + SO_3^{2-}

Pyruvate + PO_4^{3-} + O_2 + H_2O $\xrightarrow{\text{Pyruvate oxidase}}$ acetylphosphate + H_2O_2 + CO_2

H_2O_2 + indicator $\xrightarrow{\text{peroxides}}$ dye + H_2O

Indicator : 4-(4-dimethylaminophenyl)-5-methyl-2-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) imidazole dihydrochloride

على طول موجي 567 nm

13-2-4-3 قياس إنزيم (ALT) Measurement of Alanine aminotransferase (ALT)

وقد استخدم جهاز reflotron وقد اعتمد الاختبار على المبدأ حسب الطريقة المذكورة مع الجهاز:

A-ketoglutarate + alanine $\xrightarrow{\text{ALT}}$ glutamate + pyruvate

Pyruvate + PO_4^{3-} + O_2 + H_2O $\xrightarrow{\text{Pyruvate oxidase}}$ acetylphosphate + H_2O_2 + CO_2

H_2O_2 + indicator $\xrightarrow{\text{peroxides}}$ dye + H_2O

المواد وطرق العمل

Indicator : 4-(4- dimethylaminophenyl)-5-methyl-2-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) imidazole dihydrochloride

على طول موجي 567 nm

14-2-4-3 قياس إنزيم (LDH) Measurement of lactate dehydrogenase

اعتمد على العدة الجاهزة **linear chemical S.L** ,

الكواشف حسب الطريقة المذكورة مع العدة الجاهزة :

الكاشف R1 : : المادة LDH:

محلول بفر 100 mmol /L . PH 7.5

بايروفيت 2.75 mmol/L

كلوريد الصوديوم 222mmol/L

الكاشف R2 الإنزيم المساعد LDH

قاعدة NADH 1.55 mmol/L

تحضير الكواشف يمزج 4 mL من R1 + 1 mL من R2.

طريقة العمل:

- 1- تحضن الكواشف قبل العمل في درجة حرارة 30/37°C.
- 2- ضبط الفوتوميتر على 0 بواسطة الماء المعقم.
- 3- تحضر الأنابيب ويضاف 20 µL من العينة والصحاء و إضافة 1.0 mL من الكاشف.
- 4- امزج الأنابيب مع محتواها.
- 5- تحضن لمدة 30 ثانية مع ملاحظة أول قراءة واعد القراءة بعد 1,2 و3 دقائق.
- 6- احسب الاختلاف بين القراءتين.
- 7- احسب متوسط نتيجة القراءة لملاحظة معدل التغيير في القراءة على الدقيقة (ΔA/min).

$$\Delta A/\text{min} \times 8095 = \text{U/L}$$

3-4-3 الدراسة الجزيئية : Molecular study

جمع 2 مل من الدم في أنابيب تحتوي مادة مانعة التخثر EDTA من 100 مريضة مصابة بسرطان الثدي يتناولن عقار التاموكسيفين 20 ملغم / اليوم ومن 30 عينة من نساء سليمات قد راجعن مركز الكشف المبكر لسرطان الثدي وقد تم التأكد من عدم إصابتهن بالمرض .

وقد تم إجراء جزء من العمل الوراثي في مختبرات مركز DNA العدلي للبحث والتدريب/ جامعة النهريين وقسم آخر في مختبر خاص .

1-3-4-3 عزل الحامض النووي منقوص الأوكسجين :Isolation of genomic DNA

استخلص أَل DNA من الدم باستخدام العدة الجاهزة Genomic DNA Mini Kit (Blood) , geneaid, Thailand وحسب تعليمات الشركة المصنعة:

مكونات العدة الجاهزة:

اسم المادة	GB004	GB100	GB300
RBC lysis buffer	6 ml	135 ml	405 ml
GT buffer	1.5 ml	30 ml	75 ml
GB buffer	2 ml	40 ml	100 ml
W1 buffer	2 ml	45 ml	130 ml
Wash buffer (add ethanol)	1 ml (4 ml)	25 ml (100 ml)	50ml (200ml)
Elution buffer	1 ml	30 ml	75 ml
GD Column	4 pcs	100 pcs	300 pcs
2 ml collection tube	8 pcs	200 pcs	600 pcs

1- وضع 200µl في أنابيب معقمة سعة 1.5ml .

2- يضاف 3 X (أي 3 مرات من حجم العينة) من حجم العينة من مادة تحلل خلايا الدم الحمر RBC lysis buffer ويقلب الأنبوب أكثر من مرة للمزج.

3- يترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.

المواد وطرق العمل

- 4- توضع العينة في جهاز الطرد المركزي 3000 X لمدة 5 دقائق بعدها يرمى المادة الطافية.
- 5- إضافة 100 µl من مادة تحلل خلايا الدم الحمر RBC lysis buffer لتحليل بقايا الخلايا أكثر.
- 6- إضافة 200 µl من محلول GB buffer وتترك في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق ويقلب الأنبوب كل 3 دقائق.
- 7- في مرحلة ارتباط ال DNA يضاف الايثانول المطلق وترج لمدة 10 ثوان مباشرة.
- 8- يوضع أنبوب GD في أنبوب 2 ml بعدها تنتقل العينه التي حلت إلى العمود بعدها توضع في جهاز الطرد المركزي على درجة 14000-16000 دورة لمدة 5 دقائق.
- 9- يهمل الأنبوب السابق مع محتواه.
- 10- في مرحلة الغسل يضاف 400 µl من محلول الغسل W1 إلى العمود بعدها توضع في جهاز الطرد المركزي بقوة 14000-16000 دورة لمدة 30 ثانية.
- 11- يهمل الأنبوب ويوضع العمود في أنبوب جديد.
- 12- يضاف 600 µl من محلول الغسل بعدها توضع في جهاز الطرد المركزي بقوة 14000-16000 دورة لمدة 30 ثانية.
- 13- يهمل الأنبوب ويوضع العمود في أنبوب جديد و يوضع في جهاز الطرد المركزي بقوة 14000-16000 دورة لمدة 3 دقائق لكي يجف.
- 14- مرحلة شطف elution ال DNA ينقل العمود إلى أنبوب سعة 1.5 ml جديد ويضاف 50 µl من محلول Elution buffer أو TE المسبق التسخين على درجة 70 c في حمام مائي إلى مركز العمود وتترك لمدة 3-5 دقائق.
- 15- يوضع في جهاز الطرد المركزي بقوة 14000-16000 دورة / ثانية وبذلك نحصل على DNA نقي.

ملاحظة : يضاف الايثانول المطلق إلى محلول الغسل حسب الحجم المذكور على العبوة.

2-3-4-3 تقدير أو قياس DNA :Estimation of DNA concentration

يتم قياس وتقدير آل DNA بواسطة جهاز آل nanodrop (THERMO. USA) الذي يقيس تركيز ونقاوة آل DNA : $A_{260}/A_{280} = 1.8-2.0$.
وكالاتي:

- 1- بعد فتح برنامج Nanodrop يختار التطبيق (Nucleic acid, DNA).
- 2- تحضير قطعة جافة للمسح وتحضير أنبوبة ماصة وقياس $\mu l 1$ من محلول TE وتصفير الجهاز.
- 3- بعدها يضاف $\mu l 1$ من آل DNA وبذلك يتم القياس.

3-3-4-3 الترحيل الكهربائي Agarose gel electrophoresis

1- المواد :

- مسحوق الاكاروز
 - 1 X TBE buffer
 - معلم لل DNA (DNA Ladder)
 - Ethidium bromide
- 2- البروتوكول : تم إعداد هلام الاكاروز اعتمادا على طريقة (Sambrook *et al.*, 1989):
- إضافة 60 أو 80 ml من محلول 1 X TBE (PH 8.0) في قارورة.
 - إضافة 0.9 أو 1.4 غرام من مسحوق الاكاروز إلى محلول بفر.
 - يسخن المحلول في جهاز المايكروفر.
 - يترك المحلول ليبرد اقل من 50-60 c .
 - يسكب الاكاروز في لوح الصب ووضع المشط في احد النهايتين ويترك في درجة حرارة الغرفة لمدة نصف ساعة إلى أن يجمد بعدها يزال المشط ويوضع الهلام في جهاز الترحيل.
 - يملأ الجهاز بمحلول TBE حتى يصل إلى مستوى 3-5 mm فوق الهلام.

3- تحميل عينة أَل DNA في الهلام Loading and running DNA in agarose gel:

- يخلط عينة أَل DNA مع محلول التحميل بنسبة (3:1) في حفر الهلام.
- يوضع 5 µl من أَل (100bp) Ladder في حفرة واحده.
- توصيل القطب السالب بالجانب المناسب وتوصيل الموجب بالجانب الآخر.
- تشغيل الجهاز على فولتية 70 و امبيرية 50 حتى تهاجر صبغة التحميل إلى مسافة مناسبة وغالبا لمدة ساعة.
- ملاحظة أَل DNA عن طريق إضافة 3µl من الصبغة ethidium bromide للهلام وعرضها في جهاز وملاحظة العينة باستخدام الأشعة فوق البنفسجية.

3-4-3-4 تحضير مزيج PCR master mix preparation:

حظر المزيج حسب العدة الجاهزة من (AccuPower PCR PreMix Kit) وتم تحضيره اعتمادا على تعليمات الشركة وكالتالي :

- إضافة 2.5 مايكروليتر من البادئ الأمامي (Forward primer) (10pmol).
- إضافة 2.5 مايكروليتر من البادئ الرجعي (Reveres primer) (10pmol).
- إضافة 40 مايكروليتر من ماء PCR water.

المصادر	تسلسل البادئ	اسم المورث
Brown <i>et al.</i> , 2000	5-GGT GTT CCT CGC GCG CTA TG-3	F
	5-CTC GGT CTC TCG CTC CGC AC-3	R
	5'- GGAATGAGGACAGCCATAGAGACA	F

Cavalla <i>et al</i> ., 2001	AGGGGA-3'		
	5'- CCTTTCAGCTCTGTGTTGCTCTTTGC TG -3'	R	
Lee and Goldstein ., 2005	5'- CTTTAAAGAGCTCTTTTGTCTCTCA- 3'	F	CYP3A5
	5'- GAAGCCAGACTTTGATCATTATGTT ATG-3'	R	

تمزج المكونات وتوزع على الأنابيب المرفقة مع العدة الجاهزة والتي تحتوي على بقية المكونات (Taq DNA polymerase, dNTPs, Tris-HCl pH: 9.0, KCl, منها بعدها تنقل DNA بعدد 5 µl من ألى بعدها يوزع MgCl₂, stabilizer, and tracking dye) إلى جهاز الطرد المركزي بقوة 3000 دورة لمدة 3 دقائق بعدها يوضع في جهاز ألى thermo cycler.

وتكون ظروف الجهاز حسب الطريقة المذكورة في المصدر للجينات *CYP3A4*, *CYP2D6*, و *CYP3A5* :

التكرار	الوقت	درجة الحرارة	خطوات عمل البلمرة التسلسلية PCR:
دورة واحدة	5 min	95C	Initial Denaturation
30 دورة	1min.	95C	Denaturation

المواد وطرق العمل

	1min	60C	Annealing
	1min	72C	Extension
دورة واحدة	10min	72C	Final extension
-	-	4C	Hold

وكانت نفس درجة آل Annealing (60 م) للجينات الثلاثة حسب المصادر المذكورة.

بعدها يرحد الناتج على هلام الاكاروز بتركيز 1% ويرحل μl 10 من ناتج آل PCR وبنفس الطريقة السابقة.

3-4-3-5 تقنية (RFLP) Restriction fragment length polymorphism :

3-4-3-5-1 المورث CYP2D6 gene:

تم تحضير RFLP PCR حسب العدة الجاهزة وباستخدام إنزيم التقيد (*BstNI*) *Bacillus stearothermophilus N* على محلول الناتج من آل PCR 421 bp والذي هضم إلى 77 bp و 344 bp كنتاج لمتماثل الزايجوت و 77 bp , 161 bp , 183 bp , و 344 bp كمتغاير الزايجوت بالإضافة إلى أنواع لم تهضم كجين بري. وكما يأتي:

الحجم	RFLP-PCR Master mix
μl 20	ناتج آل PCR
μl 5	Restriction enzyme buffer 10X
μl 1	Restriction enzyme (10 unit)
μl 24	Free nuclease water
μl 50	الحجم النهائي

يوضع في جهاز الطرد المركزي بقوة 3000 دورة لمدة دقيقتين بعدها نقل إلى الحاضنة على درجة حرارة 60 م ولمدة 30 دقيقة بعدها رحل كهربائيا على هلام الاكاروز بتركيز 3% كما في الطريقة السابقة.

2-5-3-4-3 المورث *CYP3A4* gene:

تم تحضير RFLP PCR حسب العدة الجاهزة وباستخدام إنزيم التقيد (*MboII*) *Moraxella bovic* والذي هضم ناتج أل PCR (385bp) إلى 175bp و 169bp كمتماثل الزايجوت Homozygote و إلى 175bp, 210bp, و 169bp كمتغاير الزايجوت بالإضافة إلى أنواع لم تهضم كنوع بري وقد تمت الطريقة حسب العدة الجاهزة:

الحجم	RFLP-PCR Master mix
10µl	ناتج أل PCR
2 µl	Restriction enzyme buffer 10X
0.2 µl	BSA
0.5 µl	Restriction enzyme (10 unit)
7.3 µl	Free nuclease water
20µl	الحجم النهائي

وضع الناتج في جهاز الطرد المركزي بقوة 3000 دورة لمدة دقيقتين بعدها نقل إلى الحاضنة على درجة حرارة 25 م ولمدة ساعتين بعدها رحل كهربائياً على هلام الاكاروز بتركيز 2% كما في الطريقة السابقة.

3-5-3-4-3 المورث *CYP2A5* gene:

تم تحضير RFLP PCR حسب العدة الجاهزة وباستخدام إنزيم التقيد (*BspCNI*) *Bacillus species* (*c. nkenfou*) الذي هضم ناتج أل PCR 197bp إلى 162bp و 35bp كمتماثل الزايجوت والى 162bp, 197bp, و 35bp كمتغاير الزايجوت وأنواع لم تهضم كجين بري.

الحجم	RFLP-PCR Master mix
20µl	ناتج أل PCR
5 µl	Restriction enzyme buffer 10X

المواد وطرق العمل

μl1	SAM
μl 1	Restriction enzyme (10 unit)
μl 24	Free nuclease water
μl 50	الحجم النهائي

وضع الناتج في جهاز الطرد المركزي بقوة 3000 دورة لمدة دقيقتين بعدها نقل إلى الحاضنة على درجة حرارة 25 م ولمدة 30 دقيقة بعدها رحل كهربائيا على هلام الاكاروز بتركيز 3% كما في الطريقة السابقة.

5-3 التحليل الإحصائي Statistical analysis:

استخدم برنامج SPSS (version 14) للدراسة الوظيفية وتم استخراج الوسط الحسابي , الخطأ القياسي , و significant واستخرج للدراسة الوراثية Odd ratio و confidence interval بواسطة برنامج Epi . info.

الفصل الرابع النتائج

RESULTS

النتائج

Results

1-4 أمراضية سرطان الثدي : pathogenesis of breast cancer

درست أمراضية سرطان الثدي في محافظة بغداد من خلال تحليل الأسئلة الواردة في استمارة الاستبيان والتي طرحت على مجموعتي المرضى 100 امرأة مصابة بسرطان الثدي و 30 امرأة سليمة وتضمن هذه الأسئلة العمر منطقة السكن الحالة الاجتماعية التاريخ العائلي تناول حبوب منع الحمل وغيرها من الأسئلة (ملحق رقم 1).

1-1-4 العمر Age :

يبين الجدول (1-4) أعداد مجموعتي المرضى والأصحاء حسب الفئات العمرية وقد بينت النتائج إن أعلى نسبة مئوية للإصابة بمرض سرطان الثدي في الفئة العمرية (41-60) وبنسبة 58% وتليها الفئة (20-40) وبنسبة 32% أما الفئة (61-80) فهي الأخيرة وتكون بنسبة 10% أما مجموعة الأصحاء فقد كانت أيضا الفئة العمرية (41-60) (50%) وتليها الفئة (20-40) وبنسبة (26.6%) وقد كانت الفئة (61-80) هي الأقل وبنسبة (23.4%) ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين مجموعتي المرضى والأصحاء .

جدول (1-4) يبين التوزيع لمجموعي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب

الفئات العمرية

Significant	Significant	80-61	60-41	40-20	n	العينة
بين مجموعة المرضى والأصحاء	بين الفئات للمرضى	10	58	32	100	المرضى
0.646	Significant	%10	%58	%32		النسبة المئوية
	بين الفئات للأصحاء	7	15	8	30	الأصحاء
	0.000	%23.4	%50	%26.6		النسبة المئوية

$p \leq 0.05$

2-1-4 تاريخ بدء الدورة الشهرية (البلوغ) : Age at menarche

أظهرت النتائج إن أكبر عدد من النساء للمرضى ومجموعة الأصحاء تبدأ الدورة الشهرية لديهن بعمر (10 – 13 سنة) وبنسبة 68% للمرضى و 63.33% للأصحاء بينما وجد إن 32% من المرضى و 36.66% من الأصحاء تبدأ الدورة الشهرية لهن بعمر (14 - 17 سنة) ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء كما موضح في الجدول (2-4)

جدول (2-4) يبين توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب البلوغ

Significant	Significant	البلوغ		n	العينة
بين مجموعة المرضى والأصحاء	بين الفئات للمرضى	17-14 سنة	13 – 10 سنة		
0.599	0.000	32	68	100	المرضى
		% 32	% 68		النسبة المئوية
	Significant	11	19	30	الأصحاء
	بين الفئات للأصحاء				
	0.000	%36.66	%63.33		النسبة المئوية

p ≤ 0.05

3-1-4 الحالة الاجتماعية : Marital Status

أظهرت نتائج الاستبيان لمجموعة المرضى إن 88% من النساء هن متزوجات ولمجموعة الأصحاء 53.3% بينما وجد إن 12% لمجموعة المرضى و 7.46% غير متزوجات ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء كما هو موضح في الجدول (3-4)

النتائج

جدول (3-4) يبين توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب الحالة الاجتماعية

Significant	غير متزوجة	متزوجة	n	العينة
0.633	12	88	100	المرضى
	%12	%88		النسبة المئوية
	14	16	30	الأصحاء
	%46.7	%53.3		النسبة المئوية

$p \leq 0.05$

4-1-4 : The age of marriage عمر الزواج

أظهرت النتائج إن 51.13% من المرضى كان عمر الزواج ضمن الفئة 10 – 20 سنة و35.22% كان ضمن 21 – 30 أما الفئة 31 – 40 تضمنت 13.63%.

أما مجموعة الأصحاء فأن الفئة 21- 30 تضمنت أعلى نسبة 56.25% أما الفئة 10 – 20 تضمنت نسبة 25% , أما نسبة 18.75% فكانت ضمن الفئة 31-40 سنة ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء كما هو موضح في الجدول (4-4)

الجدول (4-4) يبين توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب عمر

الزواج

Significant بين مجموعة المرضى والأصحاء	Significant بين الفئات للمرضى	عمر الزواج			n	العينة
		40 – 31 سنة	30 – 21 سنة	20- 10 سنة		
0.820	0.000	12	31	45	88	المرضى
	Significant	%13.63	%35.22	% 51.13		
	بين الفئات للأصحاء					
	0.01	3	9	4	16	الأصحاء
		%18.75	%56.25	% 25		النسبة المئوية

$p \leq 0.05$

1-4- 5- نوع الرضاعة Type of lactation :

أظهرت النتائج إن 88.6% و 50% من مجموعتي المرضى والأصحاء على التوالي يرضعن أولادهم رضاعة طبيعية بينما 9% و 37.5% من المريضات ومجموعة الأصحاء يرضعن أولادهم رضاعة صناعية أما نسبة 2.27 لمجموعة المرضى و 12.5% لمجموعة الأصحاء يرضعن أولادهم رضاعة طبيعية وصناعية (مختلط) وقد أظهرت النتائج فروقا معنوية بين الفئات وكذلك بين مجموعة المرضى والأصحاء. الجدول (4-5)

الجدول (4- 5) يبين توزيع مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء حسب نوع الرضاعة

Significant	Significant	رضاعة مختلطة	رضاعة صناعية	رضاعة طبيعية	n	العينة
Significant بين مجموعة المرضى والأصحاء	Significant بين الفئات للمرضى	2	8	78	88	المرضى
		% 2.27	%9	%88.6		النسبة المئوية
	Significant بين الفئات للأصحاء	2	6	8	16	الأصحاء
	0.000	%12.5	%5. 37	%50		النسبة المئوية

$p \leq 0.05$

6-1-4 التاريخ العائلي Family history :

أظهرت النتائج إن نسبة 32% من مجموعة المرضى ممن يمتلكون تاريخاً عائلياً للإصابة بمرض سرطان الثدي بينما 68% من الذين لا يمتلكون تاريخاً عائلياً أما مجموعة الأصحاء فأن 26.6% الذين يمتلكون تاريخاً عائلياً للإصابة علماً إن الذين ليس لهم تاريخ عائلي للإصابة بمرض سرطان الثدي كانت بنسبة 73.4% ولم تظهر النتائج أي فروق معنوية بين مجموعة المرضى والأصحاء كما هو موضح في الجدول (4 - 7)

النتائج

الجدول (4-6) يبين توزيع مجموعتي المرضى والأصحاء حسب التاريخ العائلي للإصابة بمرض سرطان الثدي

Significant	لا يوجد	يوجد	n	العينة
0.743	68	32	100	المرضى
	%68	%32		النسبة المئوية
	22	8	30	الأصحاء
	%73.4	%26.6		النسبة المئوية

$p \leq 0.05$

2-4 الدراسة الفسيولوجية : Physiological Study

1-2-4 هرمون الاستراديول (E_2) : Estradiol hormone

أظهرت النتائج كما في الجدول (4-7) فروقا معنوية بين مجموعة المرضى المصابات بسرطان الثدي واللاتي يتناولن علاج tamoxifen وبين مجموعة الأصحاء إذ بينت النتائج انخفاض عالي المعنوية في هرمون الاستراديول عند مستوى دلالة معنوية 0.01 لمجموعة المرضى مقارنة بمجموعة الأصحاء . كما في الجدول(4-7)

جدول (4-7) يبين مستوى هرمون الاستراديول (E_2) (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء

Significant	Mean \pm Std . error		
.000	37.3634 \pm 4.5	مجموعة المرضى	هرمون
	93.3700 \pm 5.1	مجموعة الأصحاء	الاستراديول E_2

$p \leq 0.01$ (تساوي أو أقل)

2-2-4 هرمون الحليب PRL Prolactin hormone :

لم تظهر النتائج المبينة في الجدول (4-8) أي فروقا معنوية بين مجموعة المرضى المصابات بسرطان الثدي واللاتي يتناولن علاج tamoxifen وبين مجموعة الأصحاء

جدول (4-8) يبين مستوى هرمون الحليب Prolactin (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		
0.07	9.45±7.22	مجموعة المرضى	هرمون الحليب Prolactin
	10.50±6.13	مجموعة الأصحاء	

$p \leq 0.01$

3-2-4 هرمون الشحمون الخصوي Testosterone hormone :

يبين الجدول (4-9) نتائج هرمون الشحمون الخصوي بعدم وجود فروق معنوية بين مجموعة المرضى 57 ± 34 ومجموعة الأصحاء 68 ± 35 . إذ ظهرت نتيجة المعنوية 0.141 عند $P \leq 0.01$

جدول (4-9) يبين مستوى هرمون الشحمون الخصوي

Testosterone (pg/ml) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		
.141	.57±.34	مجموعة المرضى	هرمون الشحمون الخصوي Testosterone
	.68 ±.35	مجموعة الأصحاء	

$P \leq 0.01$

النتائج

Alanine إنزيم , Aspartate aminotransferase (AST), إنزيمات الكبد , 4-2-4
 Gamma-glutamyl transpeptidase إنزيم , aminotransferase (ALT)
 lactate dehydrogenase إنزيم , (Alkaline Phosphate ALP) , إنزيم (GGT)
 : (LDH-5)

لم تظهر النتائج أي فروق معنوية في إنزيمات الكبد بين مجموعة المرضى ومجموعة الأصحاء كما في الجدول (4- 10) .

جدول (4- 10) يبين مستوى إنزيمات الكبد U/l بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء

Significant	Mean ± Std . error	إنزيمات الكبد	
0.296	24.18±15.6	مجموعة المرضى	إنزيم AST
	27.21±3.6	مجموعة الأصحاء	
0.554	34.7±26.9	مجموعة المرضى	إنزيم ALT
	31.75 ± 7.5	مجموعة الأصحاء	
0.084	17.4 ± 10.1	مجموعة المرضى	إنزيم GGT
	18.17±3.9	مجموعة الأصحاء	
0.620	89.64±67.2	مجموعة المرضى	إنزيم ALP
	68.42±22.1	مجموعة الأصحاء	
0.654	164.91± 38.6	مجموعة المرضى	إنزيم LDH -5
	168.53± 39.2	مجموعة الأصحاء	

$P \leq 0.01$

Albumin: 5-2-4 الألبومين

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الألبومين بين مجموعة المرضى

3.86± .457 ومجموعة الأصحاء 3.70± .53 بمعنوية 0.097 عند $P \leq 0.01$ كما في الجدول

(11-4) .

الجدول (11-4) يبين مستوى Albumin (g/dl) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		Total Billirubin
.097	3.86± 0.457	مجموعة المرضى	
	3.7± 0.53	مجموعة الأصحاء	

$P \leq 0.01$

6-2-4 الكلوبولين Globulin :

يبين الجدول (4-12) عدم وجود فروق معنوية بمستوى الكلوبولين بين مجموعة

المرضى 2.58± 4.4 ومجموعة الأصحاء 2.75± .43 إذ ظهرت الفروق بمعنوية 0.069.

الجدول (4-12) يبين مستوى Globulin (g/dl) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		Globulin
.069	2.58± .44	مجموعة المرضى	
	2.75± .43	مجموعة الأصحاء	

$P \leq 0.01$

7-2-4 الفايبرينوجين Fibrinogen :

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الألبومين بين مجموعة المرضى

.65 ± 3.1 ومجموعة الأصحاء 2.9 ± 0.62 بمعنوية 0.326. كما في الجدول (4-13).

الجدول (4-13) يبين مستوى Fibrinogen (g/l) بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء .

Significant	Mean ± Std . error		Fibrinogen
.326	3.1 ± 0.65	مجموعة المرضى	
	2.9 ± 2.6	مجموعة الأصحاء	

P ≤ 0.01

8-2-4 الكوليستيرول الكلي Total cholesterol :

أظهرت النتائج ارتفاع مستوى الكوليستيرول الكلي في الدم للنساء المصابات بسرطان

الثدي 192.15 ± 53.2 عن مستواه في الأصحاء 156.4 ± 34.48 كما في الجدول (4-14).

جدول (4-14) يبين مستوى الكوليستيرول الكلي mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي والأصحاء .

Significant	Mean ± Std . error		الكوليستيرول الكلي
.001	192.15 ± 53.2	مجموعة المرضى	
	156.4 ± 34.48	مجموعة الأصحاء	

P ≤ 0.01

9-2-4 البروتين الدهني منخفض الكثافة LDL Low density lipoprotein

أظهرت النتائج ارتفاع مستوى LDL في الدم للنساء المصابات بسرطان الثدي

118.54± 42.60 عن مستواه في الأصحاء 87.40±19.63. كما في الجدول (4-15).

جدول (4-15) يبين مستوى LDL mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة الأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		
0.000	87.40±19.63	مجموعة المرضى	LDL
	118.54±42.60	مجموعة الاصحاء	

P ≤ 0.01

10-2-4 البروتين الدهني مرتفع الكثافة HDL High density lipoprotein

أظهرت النتائج انخفاض مستوى الكوليسترول المنخفض الكثافة في النساء المصابات

بسرطان الثدي 37.35 ± 14.97 مقارنة بمجموعة الأصحاء 75.4 ± 14.39 كما في الجدول

(4-16)

جدول (4-16) يبين مستوى HDL mg/dl بين مجموعة مرضى سرطان الثدي ومجموعة

الأصحاء

Significant	Mean ± Std . error		
0.000	37.35 ± 14.97	مجموعة المرضى	HDL
	75.4 ± 14.39	مجموعة الاصحاء	

P ≤ 0.01

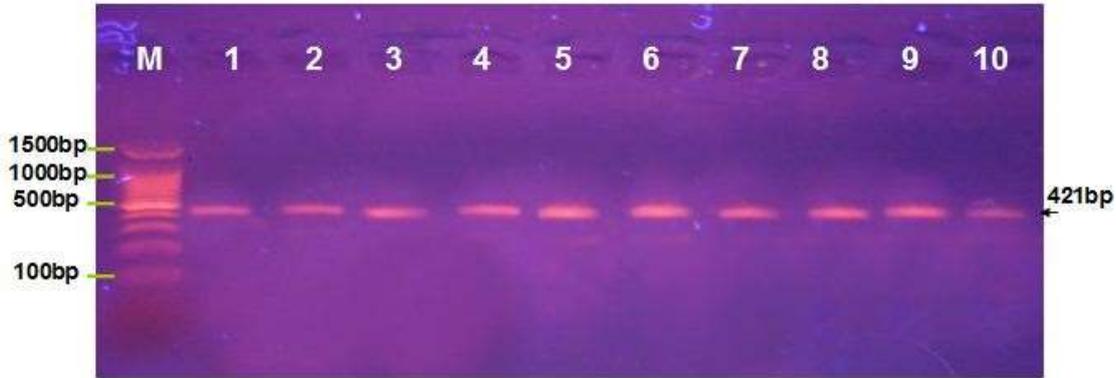
3-4 الدراسة الجزيئية : Molecular study

استخلص الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA من عينات دم مجموعة المرضى ومجموعة الأصحاء بواسطة العدة الجاهزة (Genaid Kit) , وقد تحقق من أل DNA بواسطة تقنية Nanodrop spectrophotometer وقد تراوح قيمة تركيز الحامض النووي بين (30 ng/ uL – 180) أما النقاوة فتراوحت بين (1.7 – 2) وبتقنية الترحيل الكهربائي

1-3-4 دراسة التمييز الوراثي للمورث (*CYP2D6*4*) Cytochrome P 450 2 D6 :

1-1-3-4 تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) Polymerase chain reaction :

أجريت عملية تكثير الحامض النووي باستخدام تقنية البلمرة المتسلسل وباستخدام بادئ خاص للمورث *CYP2D6*4* وكان حجم المورث 421 bp كما في الشكل (2-4)



شكل (1-4) صورة الترحيل الكهربائي لنتائج البلمرة المتسلسل من 1-5 عينات مجموعة الأصحاء ومن 6-10 عينات مجموعة المرضى للمورث *CYP2D6*4* على هلام الأكاروز بتركيز 1% M . أل DNA القياسي (فولتية= 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعة) (100 bp

2-1-3-4 تحليل ناتج البلمرة المتسلسل باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism (RFLP) للمورث *CYP2D6*4* :

بعد أن تم مضاعفة المورث المطلوب هضم الناتج بواسطة إنزيم التقيد *BstNI* وقسم الناتج إلى ثلاث فئات : 1- متجانس الزيغوت النوع البري homozygote wild type (extensive metabolism EM *1*1) وتعرف بواسطة وجود ثلاث قطع بحجم (161 , 77 و

النتائج

heterozygote intermediate metabolism IM *1*4) 2- متباين الزيجوت (bp 183)
وتعرف بواسطة وجود 4 قطع بحجم (77, 161, 183 و 344 bp) 3- متجانس الزيجوت
(homozygote (poor metabolism PM *4*4) وتعرف بوجود حزميتين (77 , 344 bp)
وكذلك لم يحدث هضم لمعظم العينات أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس
الزيجوت (qq) بنسبة طفيفة والذي يكون مسؤولاً عن إنتاج الإنزيم الأيضي ضعيف الفعالية في
ايض عقار التاموكسيفين (OR = 1) كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة الأصحاء
ومجموعة المرضى كما في الجدول (4-16) والشكل (4-3) :

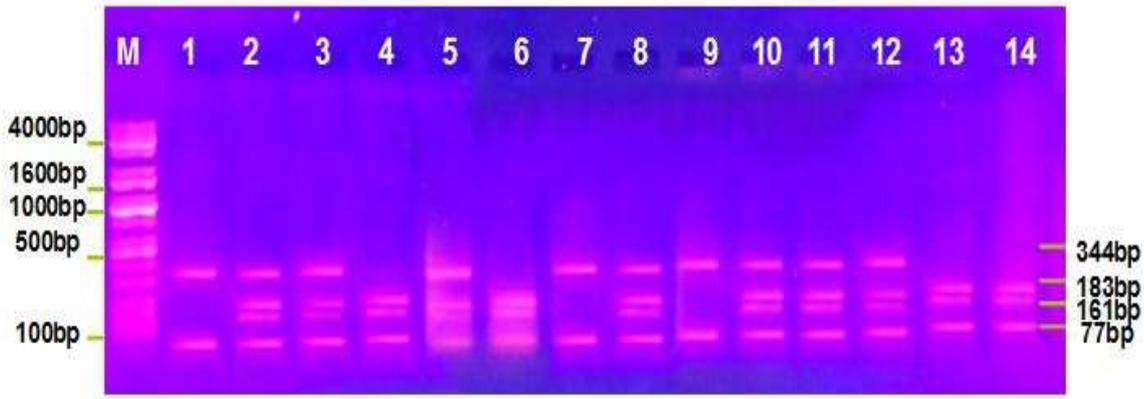
جدول (4-16) يبين توزيع النمط الوراثي للمورث *4CYP2D6 لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء.

95% CI	Odds ratio OR	مجموعة الأصحاء N=11	مجموعة المرضى N= 44	النمط الوراثي للجين CYP2D6*4
0.07– 1.51	0.35	6(54.5%)	13(29%)	متجانس الزيجوت النوع البري (EM) (PP)
0.1- 2.1	0.68	4	11(25%)	متباين الزيجوت (IM) (Pq)
0.22 – 4.55	1	5(45.5%)	20(45%)	متجانس الزيجوت PM) (qq)

p < 0.05

95% CI= confidence interval فاصل الثقة

النتائج

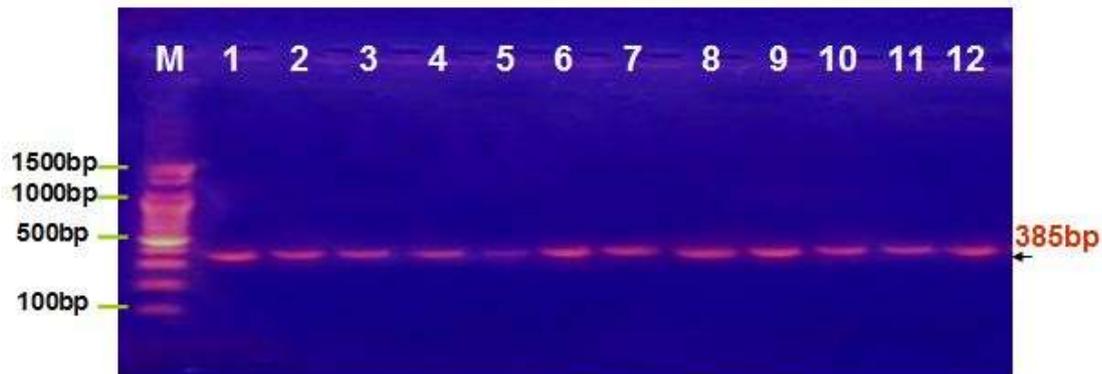


شكل (2-4) تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث *CYP2D6*4* بواسطة إنزيم التقييد *BstNI* لمجموعتي المرضى والأصحاء من 7-1 مجموعة الأصحاء ومن 8-14 مجموعة المرضى M أل DNA القياسي 100bp بتركيز 2% , (فولتية= 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعتين)

2-3-4 دراسة التنميط الوراثي للمورث (*CYP3A4*1B*) Cytochrome P 450 3A4 :

1-2-3-4 تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسل (PCR) Polymerase chain reaction :

بعد إن استخلص أل DNA من عينات الدم وتحقق منه بواسطة الترحيل الكهربائي وبعد حساب تركيز DNA بواسطة جهاز nanodrope بعدها تم مضاعفة المورث *CYP3A4*1B* باستخدام البادئ المناسب ليتم مضاعفة المورث المطلوب وكان حجم المورث 385 bp كما في الشكل (4-4)



شكل (3-4) صورة الترحيل الكهربائي لناتج البلمرة المتسلسل من 1-6 عينات مجموعة الأصحاء ومن 7-12 عينات مجموعة المرضى للمورث *CYP 3A4*1B* على هلام الأكاروز بتركيز 1% M أل DNA القياسي (100 bp) , (فولتية= 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعة)

2-2-3-4 تحليل ناتج البلمرة المتسلسل باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphism (RFLP) للمورث *CYP3A4*1B* :

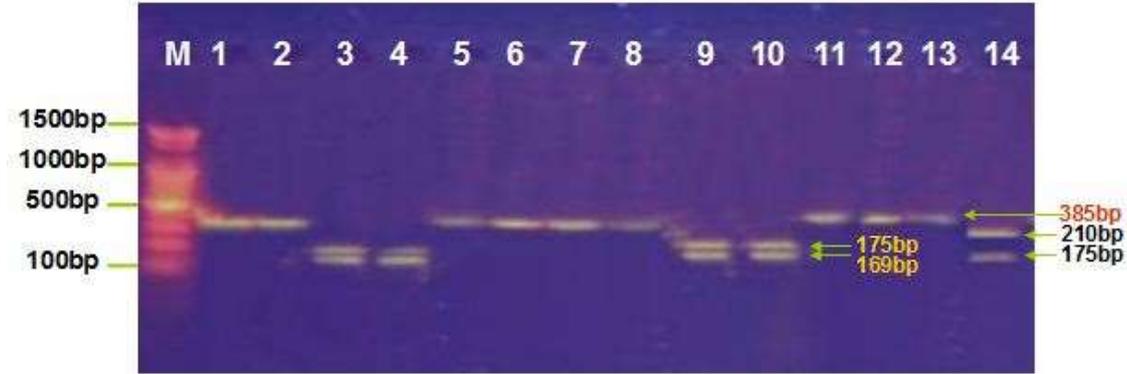
بعد أن تم مضاعفة المورث المطلوب بواسطة تقنية PCR تم هضم ناتج أل PCR بواسطة إنزيم التقيد *MboII* وقسم الناتج إلى ثلاث فئات : 1- متجانس الزيجوت النوع البري homozygote (*1*1*) wild type وتعرف بواسطة وجود قطعتين بحجم (175 و 169 bp) ، 2- متباين الزيجوت (*1*1B* heterozygote) وتعرف بواسطة وجود ثلاث قطع بحجم (210, 175) و 3- متجانس الزيجوت (*1B*1B* homozygote polymorphic) وتعرف بوجود حزمتين، (175 , 210 bp)، وكذلك لم يحدث هضم لمعظم العينات أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (qq) $OR=1.43$ كما في الجدول (4 - 17) والشكل (4 - 5).

جدول (4-17) يبين توزيع النمط الوراثي للمورث *CYP3A4*1B* لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء.

95% CI	Odds ratio OR	مجموعة الأصحاء N=18	مجموعة المرضى N= 18	النمط الوراثي للجين <i>CYP3A4*1B</i>
0.24 – 7.88	1.35	13(72.2%)	14(77.7%)	متجانس الزيجوت النوع البري (PP)
0.00082-4.24	o.1862	2(11%)	0	متباين الزيجوت (Pq)
o.23-6.62	1.238	3(16.8%)	4(12.3%)	متجانس الزيجوت (qq)

$p < 0.05$

95% CI= confidence interval

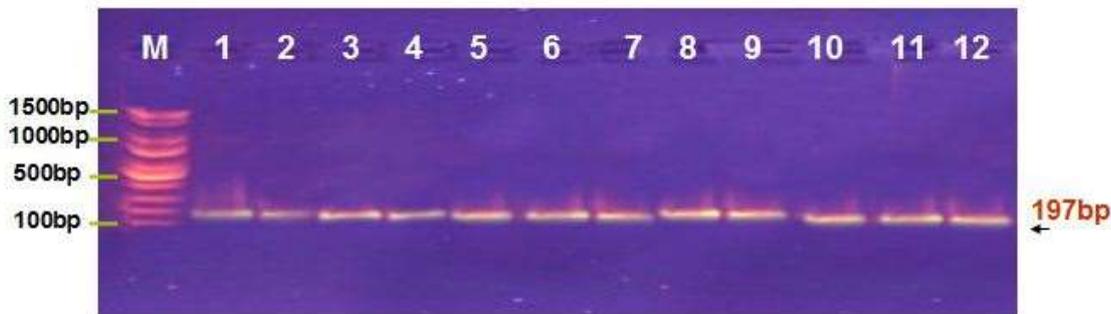


شكل (4-4) تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث *CYP3A4*1B* بواسطة إنزيم التقويد *MboII* لمجموعتي المرضى والأصحاء من 7-1 مجموعة الأصحاء ومن 14-8 مجموعة المرضى M أل DNA القياسي 100bp بتركيز 2% , (فولتية= 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعتين).

3-3-4 دراسة التنميط الوراثي للمورث (*CYP3A5*3*) Cytochrome P 450 3A4 :

1-3-3-4 تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسل (PCR) Polymerase chain reaction :

بعد إن استخلص أل DNA من عينات الدم وتحقق منه بواسطة الترحيل الكهربائي وبعد حساب تركيز DNA بواسطة جهاز nanodrop بعدها تم مضاعفة المورث *CYP3A5*3* باستخدام البادئ المناسب ليتم مضاعفة المورث المطلوب وكان حجم المورث 197 bp شكل (4-6).



شكل (4-5) صورة الترحيل الكهربائي لناتج البلمرة المتسلسل من 1-6 عينات مجموعة الأصحاء ومن 7-12 عينات مجموعة المرضى للجين *CYP3A5*3* على هلام الأكاروز بتركيز 1% M أل DNA القياسي (100 bp) , (فولتية= 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعة)

2-3-3-4 تحليل ناتج البلمرة التسلسلية باستخدام تقنية restriction fragment length polymorphisim (RFLP) للمورث $CYP3A5*3$:

بعد أن تم مضاعفة المورث المطلوب هضم الناتج بواسطة إنزيم التقطيد *BseMII* وقسم الناتج إلى ثلاث فئات : 1- متجانس الزيغوت النوع البري ($1*1$) homozygote wild type وتعرف بواسطة وجود قطعة بحجم (197 bp), 2- متباين الزيغوت ($1*3$) heterozygote (وتعرف بواسطة وجود ثلاث قطع بحجم (197, 162, 35 bp) 3- متجانس الزيغوت homozygote ($3*/3$) polymorphic وتعرف بوجود قطعتين (35, 162 bp), العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيغوت (pp) $OR=0.53$ ويليه نوع متجانس الزيغوت (qq) $OR=2.17$, مع عدم وجود فروق معنوية بين الأنواع كما في الجدول (4- 17) والشكل (4- 5).

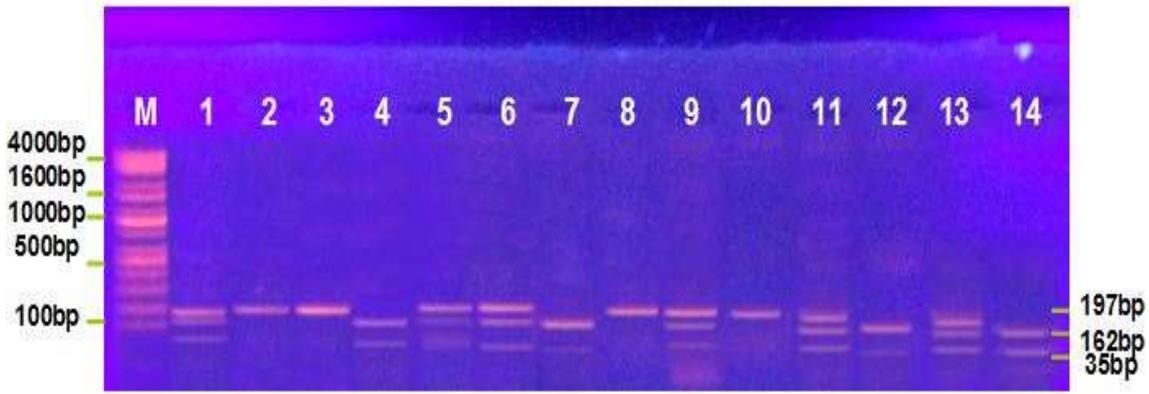
جدول (4- 18) يبين توزيع النمط الوراثي للمورث $CYP3A5*3$ لعينات مجموعتي مرضى سرطان الثدي والأصحاء.

95% CI	Odds ratio OR	مجموعة الأصحاء N=30	مجموعة المرضى N= 100	النمط الوراثي للجين $CYP3A5*3$
0.18 – 2.4	0.84	23(76.6%)	63(63%)	متجانس الزيغوت النوع البري ((PP)
0.37 – 5.64	1.46	3(10%)	12(12%)	متباين الزيغوت (Pq)
0.716 – 7.26	2.28	4(13.4%)	25(25%)	متجانس الزيغوت (qq)

$p < 0.05$

95% CI= confidence interval

النتائج



شكل (4-6) تحليل ناتج البلمرة المتسلسل للمورث *CYP3A5*3* بواسطة إنزيم التقييد *BseMII* لمجموعتي المرضى والأصحاء من 1-7 مجموعة الأصحاء ومن 8-14 مجموعة المرضى M ال DNA القياسي 100bp بتركيز 2% , (فولتية = 70 . امبيرية = 50 , وقت = ساعتان ونصف).

الفصل
الخامس
المناقشة

DISCUSSION

المناقشة

Discussion

1_5 أمراضية سرطان الثدي :Pathogenesis of breast cancer

يعد سرطان الثدي أكثر أنواع السرطانات شيوعاً لدى النساء في جميع أنحاء العالم ففي عام 2008 قدر بـ 1.4 مليون حالة وقد ازدادت المعدلات مؤخراً وهناك دلائل على أنها سوف تواصل الازدياد في العقود المقبلة (Ferlay *et al.*, 2010).

ويعد سرطان الثدي أحد الأسباب الرئيسية للوفاة بالذات عند النساء إذ يشكل نسبة (23%) من مجموع حالات السرطان و (4%) من الحالات المميتة (WHO, 2011 ; jema *et al.*, 2010).

وقد ازدادت حالات الإصابة بمرض سرطان الثدي وذلك نتيجة لميول نمط الحياة إلى الجانب العملي أكثر والذي يتميز بنظام غذائي عالي السعرات , غني بالدهون, وتكرير الكاربوهيدرات والبروتين الحيواني بالإضافة إلى قلة الحركة والذي ينتج عن عدم توازن في الطاقة وخاصة في النساء ما بعد سن اليأس (WHO 2003; Cuzick *et al.*, 2010).

1-1-5 Age : العمر

أحد عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي هو العمر وقد أظهرت الدراسة الحالية إن متوسط العمر للإصابة بسرطان الثدي كان 50 بينما أظهرت دراسة (Runnak *et al.* 2009) في شمال العراق إن معدل العمر للإصابة 47.4 سنة إلا إن التردد الأكبر كان ضمن الفئة العمرية (36-45) سنة , كما أظهرت دراسة طعمه (2011) إن معدل الإصابة هو 47,9 وان التردد الأكبر كان في الفئة (42 – 51) , أما دراسة جواد (2012) أظهرت إن أعلى نسبة الإصابة بسرطان الثدي كان ضمن الفئة العمرية (30 – 40) سنة إذ بلغت 14 حالة (35 %) , وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (Abdualkareem 2012) إذ أظهرت الدراسة إن أعلى معدل للإصابة هو بين الفئات العمرية (41 – 50) 12 حالة و(51 – 60) 11 حالة على التوالي وكان متوسط العمر 49.1 وقد اتفقت الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة في العراق (Waheda, 1998 ; Madhoor, 2002).

في دراسة أخرى (American Cancer Society (2013) في الولايات المتحدة وجد إن النسبة الأكبر للإصابة بسرطان الثدي 20% هي قبل عمر 50 سنة وتأتي بعدها فئة أقل من 40 سنة بنسبة 4% وقد توافقت مع الدراسة الحالية ولوحظ إن الإصابة بأمراض سرطان الثدي أثناء العقد الثالث (Howlader et al., 2013).

وجد إن أعلى ارتفاع للذروة بالإصابة بسرطان الثدي للنساء المصابات قبل سن اليأس مباشر كانت عند النساء اللاتي بدأ الحيض عندهن بسن مبكرة وارتفاع الإصابة بسرطان الثدي للنساء بعد انقطاع الطمث يرجع سبب ذلك إلى العوامل السلوكية مثل النشاط البدني والنظام الغذائي المرتفع السعرات الحرارية والملء بالدهون و الكاربوهيدرات (Berkey et al., 1999; Page et al., 2004).

تلعب العوامل الهرمونية دورا كبيرا في نسب الإصابة بسرطان الثدي في الفئات العمرية المختلفة فبلوغ المرأة مبكرا أي قبل 12 سنة وانقطاع الطمث لديها متأخرا إلى ما بعد 55 سنة يزيد خطر الإصابة بسرطان الثدي إذ يزداد التعرض لمستويات عالية من هرمون الاستروجين (Daling et al., 2001; Phipps et al., 2008).

2-1-5 تاريخ بدء الحيض (البلوغ) : Age at menarche

تشير نتائج الدراسة الحالية إلى إن العدد الأكبر من النساء لمجموعتي والمرضى الأصحاء يبدأ لديهن الحيض بعمر (10 – 13) وقد اتفقت الدراسة الحالية مع طعمه (2011) إذ وجد إن العدد الأكبر من النساء لمجموعتي الأصحاء والمرضى يبدأ لديهن الحيض بعمر (10 – 13) بنسب 67.3% و62% لمجموعة المرضى والأصحاء على التوالي.

في حين وجد (Darweesh (2009) إن 66.4% من المرضى يبدأ لديهن الحيض في عمر 13 سنة أو أقل مقارنة ب 24.55 من مجموعة الأصحاء بينما كان هناك 33.6% و 57.5% من مجموعتي المرضى والأصحاء على التوالي يبدأ لديهن الحيض بعمر أكبر من 13 سنة.

إن العلاقة بين خطر الإصابة بسرطان الثدي وبدء الحيض بعمر مبكر تستند على فرضية النشاط الانقسامي للثدي نتيجة ازدياد تركيز الاستروجين في الدم إذ يفرز من الجسم

المناقشة

الأصفر من الدورة الشهرية ومن ثمّ زيادة التعرض لخطورة الإصابة بسرطان الثدي نتيجة زيادة الاستروجين فعندما يبدأ الحيض بعمر مبكر يزداد التعرض لمستويات الاستروجين

(Kocabas , 2002 ; Pike et al.,1993).

اختلفت الدراسة الحالية مع دراسة (Abdualkareem (2012 إذ لم تظهر الدراسة أهمية العمر عند بدء الحيض كعامل خطر لزيادة انتشار سرطان الثدي إذ وجد إن 20 % فقط من النساء من مجموعة المرضى بدأ عندهم الحيض قبل 12 عام .

كذلك أظهرت دراسة (Barnett et al (2008) ; Chang-Claude et al (2007) أنه لا يوجد ارتباط بين خطر الإصابة بسرطان الثدي والعمر عند بدء الحيض.

3-1-5- الحالة الاجتماعية Marital Status :

أظهرت نتائج الاستبيان لمجموعة المرضى والأصحاء إن العدد الأكبر كن من النساء المتزوجات وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة جواد (2012) إذ تبين إن أعلى نسبة للإصابة بسرطان الثدي كانت لدى النساء المتزوجات وبنسبة 86.20 % وقلها في العازبات وبنسبة 13.79 % .

كذلك اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة طعمه (2011) إذ وجد إن نسبة الإصابة للنساء المتزوجات بلغت 96% بينما كانت 4% للعازبات .

وهذا ما ظهر في نتائج أخرى لدراسات أجريت في العراق إذ وجد Akram., (2009) إن 80% من المرضى المتزوجات و20 % من غير المتزوجات وكذلك أشارت الدراسة التي أجراها (Norsaadah , et al (2005) إن 93,2% من المرضى متزوجات و6,8% من غير المتزوجات .

وقد ظهر أيضا في دراسة (Norsa'adah et al (2005) إن هناك زيادة في متوسط عمر النساء عند الزواج الأول من 23.5% إلى 24.7% من سنة 1980 إلى سنة 1991 وقد تبين أيضا إن النساء اللاتي ولدن الطفل الأول في سن مبكرة تميل إلى إنجاب المزيد من الأطفال وبذلك استنتجت الدراسة سوف تكون من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي .

المناقشة

وفي دراسة (Mandana et al (2002) لمرضى سرطان الثدي في إيران قد أظهرت إلى إن المرضى من الشباب نسبيا كذلك اشارت إلى إن الحالة الزوجية والتاريخ العائلي يعد من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي في إيران .

أما في دراسة (Fioretti et al (1999) لم يجد تأثيرا للحالة الاجتماعية , العمر بالحمل الأول , الرضاعة للإصابة بسرطان الثدي .

ويعتقد إن سبب زيادة الخطورة في حالة النساء المتزوجات يرجع إلى حالات الحمل والولادة عند تلك النساء إذ يرتفع هرمون البروجستيرون اثناء حمل المرأة وذلك للحفاظ على حالة الجنين وكبح هرمون المحفز للحويصلات (FSH) Follicle Stimulating Hormone حتى لا يحدث تبويض اثناء مدة الحمل ويعد هرمون البروجستيرون من الهرمونات المهمة للحفاظ وتهيئة الرحم للحمل وبذلك فإن النساء اثناء الحمل يتعرضن إلى مستويات عالية من هرمون البروجستيرون اثناء مدة حياتهن أكثر من النساء غير المتزوجات ويعتقد ان هرمون البروجستيرون من عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي وبدلا من زيادة الخطر بسرطان الثدي وجد إن النساء العقيمات قد كان لهن نوعا من الحماية من الإصابة بسرطان الثدي وذلك بسبب انخفاض عدد دورات التبويض مما أدى ذلك إلى قلة التعرض لهرمون الاستروجين والذي يعد السبب الرئيسي لحدوث المرض (American Cancer Society ., 2014; Brisken., 2013 ; Garland et al .,1998) .

4-1-5 عمر الزواج : The age of marriage

أظهرت نتائج المرضى إن أعلى نسبة عمر الزواج ضمن الفئة 10 – 20 سنة أما مجموعة الأصحاء فإن الفئة 21- 30 تضمنت أعلى نسبة وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة طعمه (2011) إذ وجد إن النسبة الأكبر 62,5% من المرضى كان عمر الزواج لديهم 10-20 سنة بينما كانت النسب 27,08% و 10,4% للفئات العمرية 21-30 و 31-40 على التوالي .

بينما وجد (Lotfi et al ., (2008) إن أعلى نسبة للإصابة بمرض سرطان الثدي كانت ضمن الفئة 19-22 سنة إذ بلغت 28% مع 20% كان عمر الزواج لديهم اقل , وأكدت دراسة أخرى إن خطر الإصابة بمرض سرطان الثدي يزداد إلى مرة ونصف عندما يكون الزواج اقل من 18 سنة (Jaakko., 2004) اضافة إلى ذلك وجد ., Gajalakshmi and shanta (1991) إن هذا الخطر يزداد إلى 1.9 مرة عند النساء المتزوجات في عمر 18 – 20

وأكدت دراسة أخرى إلى إن الزواج المبكر يؤدي إلى حمل مبكر ومن ثم إلى عدم توازن في الهرمونات في الجسم مما يؤدي إلى زيادة الخطر في الإصابة بسرطان الثدي وبذلك استنتجت الدراسة بأن الزواج في عمر مبكر وكذلك قبل انقطاع الطمث أكثر عرضة للإصابة بسرطان الثدي (Singh et al ., 2011).

5-1-5 نوع الرضاعة Type of lactation :

أكدت النتائج إن أكبر عدد من النساء لمجموعتي المرضى والأصحاء يرضعن أولادهن رضاعة طبيعية وقد اتفقت النتائج الحالية مع ما توصل إليه (2006) Al-Shaipani إذ وجد إن 61% من مجموعة المرضى و 72 % من مجموعة الأصحاء يستخدمون الرضاعة الطبيعية بينما 39% و 28% من مجموعتي المرضى والأصحاء يستخدمون الرضاعة الاصطناعية . اختلفت الدراسة مع (2008) Al-Hassani في محافظة البصرة إذ لم يظهر أي ارتباط بين الرضاعة الطبيعية ومرض سرطان الثدي .

وقد تم استنتاج إلى إن الرضاعة الطبيعية تعمل على تخفيض خطر الإصابة بسرطان الثدي (Tryggvadottir et al.,2001) وذلك عن طريق تقليل عدد دورات الإباضة ومن ثم تقلل من هرمون الاستروجين الذي يعد من الأسباب الرئيسية للإصابة بسرطان الثدي (Lodha et al.,2011).

ومن جانب آخر وجد إن لهرمون الحليب دورا في عوامل الخطورة للإصابة بسرطان الثدي وان له دورا مهما في تطوير نسيج الثدي الطبيعي ونموه وتكوين وإفراز الحليب إلا انه مؤخرا وجد إن لهرمون الحليب Prolactin دورا في زيادة الإصابة بسرطان الثدي (Faupe- Badger et al.,2010) وقد أيدت هذه الدراسة دراسة (2008) Tworoger and Hankinson إذ وجد إن الارتفاع بمستوى هرمون الحليب prolactin يزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي

6-1-5 التاريخ العائلي Family history :

أظهرت النتائج إن النسبة الأكبر من مجموعتي المرضى والأصحاء لا يمتلكون تاريخا عائليا للإصابة بالمرض وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (2008) Al- Hassani الذي أشار إلى عدم وجود علاقة بين الإصابة بسرطان الثدي والتاريخ العائلي إذ إن نسبة المرضى الذين يمتلكون تاريخ الإصابة 4.25% بينما 95.7% لا يمتلكون تاريخ إصابة, كما وجد Huiyan

(2006) إن 16.7% من المرضى لديهم تاريخ للإصابة مقارنة مع 79.9% ليس لديهم تاريخ عائلي، فضلا عن ذلك أظهرت دراسة أخرى إن 39.2% من المرضى لهم قرابة من الدرجة الأولى و 60.7% لا يمتلكون هذه القرابة (Darweesh , 2009) .

من جانب آخر هناك العديد من الدراسات الوبائية تبين العلاقة بين التاريخ العائلي وخطر الإصابة بسرطان الثدي ومن هذه الدراسات (Lodha et al.,2011) الذي أوضح إن التاريخ العائلي يزيد من مخاطر الإصابة بسرطان الثدي ودعمت دراسته بدراسات أخرى منها (Fakri et al.,2006 ; Okobia et al.,2006; Abdualkareem 2012) الذين سلطوا الضوء على وجود علاقة ايجابية معنوية بين الإصابة بسرطان الثدي والتاريخ العائلي , وقد أوضحت آليات الفسيولوجية المرضية هو لوجود المورث *BRCA* (ألمورثات الكابتة للمرض) التي تتفعل تحت ظروف معينة وكذلك الطفرات الجسدية في جينات أخرى مثل الطفرة في مورث *CHEK-2* و *P53* وبرغم وجود هذا التفسير على أساس وجود هذه المورثات إلا انه يظل من غير الواضح وجود حالات لا ترتبط بالتاريخ العائلي وقد يعود هذا الاختلاف في النتائج إلى تداخل العديد من العوامل البيئية والهرمونية لا سيما إن السرطان من الأمراض المتعددة الأسباب التي ترتبط بالبيئة والهرمونات. (Lester,2004).

2-5- الدراسة الفسيولوجية : Physiological study

1-2-5 هرمون الاستراديول (E_2) Estradiol hormone :

أظهرت النتائج انخفاضا معنويا في هرمون الاستروجين لمجموعة المرضى وقد اتفقت هذه الدراسة مع دراسة 2003 , Robertson , 2000; Nystedt , 1996 ; , EBCTCG إذ ظهر انخفاض في مستوى الاستروجين عند النساء المصابات بسرطان الثدي عند استخدام ابر لقمع المبيض وهي عبارة عن نظير الهرمون *luteinizing hormone releasing hormone (LHRH)* والذي يسمى عادة *goserelin* أو *leuprolide* و يعطى على هيئة حقن كل شهر عادة التي ترتبط بمستقبلات خلايا هرمون *LHRH* في الغدة النخامية مما يؤدي إلى زيادة هرمونات الاباضة *LH* والهرمونات الجنسية *estrogen* , *testosterone* ولكن هذا الارتفاع يكون لمدة قصيرة و بعد 3-4 أسابيع يحدث انخفاض شديد في هذه الهرمونات (2012) , (Ásgerður) ومن ثم تعمل على كبح المبايض حتى يتوقف إفراز هرمون الاستروجين .

المناقشة

ظهر في الدراسة الحالية إن حوالي 70 % من النساء قد تم كبح المبايض لديهن بواسطة نظير الهرمون (LHRH) للحد من تأثير هرمون الاستروجين وذلك عند تشخيصهن بمرض سرطان الثدي وبذلك تدخل المرأة مرحلة سن اليأس الذي يرافقه تغيرات هرمونية .

من الجهة البيولوجية فإن لهرمون الاستروجين مستقبلات في أنسجة الثدي لذلك فإن المستقبلات تعد مهمة في تنظيم هرمون الاستروجين (Habel & Stanford ,1993) .

وتتمثل مضار الاستروجين على مسارين المسار الأول ينطوي على تنشيط مستقبلات الاستروجين من أثناء الاستروجين نفسه والذي يؤدي إلى التعبير المورثي لتحفيز نمو الخلايا السرطانية في الثدي وانتشارها (Yager & Davidson,2006) , المسار الثاني يعمل على توليد نواتج اىضية سامة للمركبات الايضية الاستروجينية والتي تعمل على إصابة DNA بالضرر (Patel & Bhat,2004). إن للاستروجين خطورة كبيرة لإصابة النساء بسرطان الثدي وعند حدوث المرض وجب إزالة المبيض او كبحه (Jennifer et al ., 2013 ; et al ., 2002 ; Shanafelt) .

وقد اتفقت الدراسة مع (Forward et al 2004) إذ وجد إن إعطاء علاج التاموكسيفين مع إعطاء هرمون (LHRH) يؤدي إلى نقص هرمون الاستروجين بشكل ملحوظ . وان التاموكسيفين هو علاج تنافسي مع هرمون الاستروجين على مستقبلات الاستروجين في أنسجة الثدي (Marian et al 2011) .

واتفقت الدراسة الحالية أيضا مع الدراسات (Pritchard; ., 2000 ; 1995 ; Jonat et al ., 2000 ; Klijn et al ., 2004 ; Tatiana & Nancy ., 2004) إذ اجروا اختبار وجدوا فيه إن ارتباط العلاج بواسطة التاموكسيفين ونظائر الهرمون LHRH أدى إلى انخفاض في معدل الوفيات بنسبة 22% , ومعدل تقدم المرض بنسبة 30% , ومعدل الاستجابة السريرية 39% اثناء 19 شهرا وقد أوضحوا إن ارتباط العلاج بين التاموكسيفين وبين نظائر هرمون LHRH يكون ذا فائدة اكبر من استخدام التاموكسيفين وحده أو نظائر الهرمون وحدها بالنسبة للنساء المصابات بسرطان الثدي ما قبل سن اليأس .

وفي دراسة أخرى أكدوا إن إعطاء التاموكسيفين لوحده للنساء المصابات بسرطان الثدي ما قبل سن اليأس يعمل على زيادة تركيز الاستروجين 2-3 مرات مقارنة بالنساء اللاتي لم

يستلمن التاموكسيفين (Sherman ., 1979) وفي دراسة (Jordan et al ., 1987) اظهر إن التاموكسيفين لا يسبب زيادة في تركيز هرمون الاستروجين للنساء المصابات بعد سن اليأس .

2-2-5 هرمون الحليب Prolactin hormone :

في الدراسة الحالية وجد إن هرمون الحليب لم يتغير وكان ضمن المستوى الطبيعي وتوافقت هذه الدراسة مع دراسة (Voogt et al ., 1970) إذ لاحظوا إن ارتفاع هرمون الاستروجين يعمل على حث هرمون الحليب ومن ثمّ زيادته عن مستواه الطبيعي وفي الدراسة الحالية وجد إن هرمون الاستروجين كان منخفض فلم يتأثر هرمون الحليب .

وقد توافقت الدراسة الحالية أيضا مع دراسة (Jordan et al ., 1987 & Groom et al ., 1976) فقد وجدوا إن لعقار التاموكسيفين بعض التأثير الاستروجيني على بعض المعايير إلا انه لم يؤثر على هرمون الحليب ومن ثمّ ظل ضمن مستواه الطبيعي .

واتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (Kostoglou et al.,1997) إذ لاحظ وجود فروق معنوية $P \leq 0.008$ في مستوى هرمون الحليب بين المصابات بسرطان الثدي قبل العملية وبين المصابات بسرطان الثدي بعد العملية إذ لوحظ زيادة هرمون الحليب قبل العملية وانخفاض هذا الارتفاع بشكل ملحوظ بعد العملية وقد أضاف إلى إن استخدام عقار التاموكسيفين بعد العملية أدى إلى خفض هرمون الحليب بشكل ملحوظ.

ولوحظ إن الخلايا الورمية السرطانية في الثدي قد تؤدي إلى إفراز هرمون الحليب لذلك عند رفع الورم أدى ذلك إلى خفض هرمون الحليب (Ginsburg and Vonderhaar,1995).

3-2-5 هرمون الشحمون الخصوي Testosterone hormone :

في الدراسة الحالية وجد إن هرمون الشحمون الخصوي لم يتغير وكان ضمن المستوى الطبيعي في النساء تعد الاندروجينات ضرورية لصحة الجسم وتصنع في المبايض وفي الغدة الكظرية (Traish et al.,2009).

إن مصدر التستوستيرون في النساء من المبايض , الغدة الكظرية أو من سلائف الهرمونات مثل androstenedione أو dehydroepiandrosterone وقد يؤثر هرمون التستوستيرون مباشرة في سرطان الثدي أو بشكل غير مباشر بواسطة تصنيعه للأستروجين وقد تم تحديد مستقبلات الاندروجين في خلايا سرطان الثدي على الرغم من إن تفعيل مستقبلات الاندروجين خارج جسم الكائن الحي في المختبر يميل إلى قمع الخلايا السرطانية.

(MacIndoe & Etre ., 1981).

وقد اتفقت الدراسة الحالية مع (Danforth *et al.*, 2010) إذ أجرى تحاليل على 646 من النساء بعد سن اليأس و تم تقييم ارتباط مستوى الاندروجين مع خطر الإصابة بسرطان الثدي ولم يجد ارتباط بين مستوى هذه الهرمونات وخطر الإصابة بسرطان الثدي.

في دراسة أخرى على حالة النساء المصابات قبل سن اليأس لم يجدوا ارتباطا بين مستوى هرمون الشحمون الخصوي وخطر الإصابة بسرطان الثدي (Page *et al.*, 2004). أظهرت دراسات أخرى إن زيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوي لا علاقة له بالإصابة بمرض سرطان الثدي عند النساء بعد انقطاع الطمث (Thomas *et al.*, 1997; Micheli *et al.*, 2004; Eliassen *et al.*, 2006).

أظهرت دراسة (Missmer *et al* (2004) ارتباط ارتفاع تركيز هرمون الشحمون الخصوي مع زيادة الخطر للإصابة بسرطان الثدي بعد انقطاع الطمث ولكن هذا الخطر تناقص مع استخدام عقار التاموكسيفين .

في دراسة (Franco ., 2005)، اخذ عدد من الحالات التي تابعها أثناء 5.5 سنة وجد إن ارتفاع هرمون الشحمون الخصوي مرتبطا مع زيادة الخطر للأصابة بسرطان الثدي.

وفي دراسة أخرى لم يظهر وضوح ارتباط ارتفاع هرمون الشحمون الخصوي مع الإصابة بسرطان الثدي وعن دوره في تعزيز انتشار خلايا سرطان الثدي (Siteri ., 1988). ومن جهة أخرى إن علاج حالات سرطان الثدي بواسطة نظائر LHRH يعمل على زيادة الاندروجينات من ضمنهم هرمون الشحمون الخصوي لمدة 2-4 أسبوع وبعدها يحدث انخفاض شديد في هذه الهرمونات إلى الحد الطبيعي أو اقل من ذلك (Silfen., 1999)

وقد أوضحت دراسة كل من (Davison & ; Lillie *et al* ., 2003) عدم وجود علاقة بين مستويات هرمون الشحمون الخصوي ومع الإصابة بمرض سرطان الثدي وقد لاحظوا إن تضارب النتائج والارتباط بين الهرمون وسرطان الثدي يرجع إلى الاستخدام غير الدقيق لفحص مستويات الهرمون.

أوضحت دراسة أخرى على عدد من النساء عدم ارتباط هرمون الشحمون الخصوي مع الإصابة بمرض سرطان الثدي إلا إن الخطر الناتج عن ارتفاع هرمون الاستراديول يعالج بواسطة عقار التاموكسيفين (Mary *et al* ., 2006).

4-2-5 إنزيمات الكبد : Aspartate aminotransferase (AST) , إنزيم
 Alanine aminotransferase (ALT) , إنزيم Gamma-glutamyl
 transpeptidase (GGT) , إنزيم Alkaline Phosphate (ALP) , إنزيم lactate
 : dehydrogenase (LDH-5)

في الدراسة الحالية قيست إنزيمات الكبد للتحري عن صحة الكبد وكانت نتائج الدراسة
 عدم وجود أي فروق معنوية في إنزيمات الكبد وكانت المريضات قد خضعن لعملية إزالة الثدي
 ,حقن نظائر الهرمون LHRH لتنشيط المبيض ,الإشعاع ,العلاج الكيماوي وكان علاج
 التاموكسيفين آخر مرحلة ويعطى بجرعة 20 ملغم / يوم و التاموكسيفين هو علاج يستخدم بعد
 الجراحة ويعمل بصورة تنافسية مع الاستروجين على مستقبلات الاستروجين و يتموضع فيها
 وبذلك يمنع الاستروجين من إظهار تأثيره في الخلايا السرطانية للثدي (Early Breast Cancer
 Trialists Collaborative Group ., 1992)

توافقت الدراسة الحالية مع دراسة (Degregorio ., 1989) إذ أوضح إن الجرعة
 العالية للتاموكسيفين 20 ملغم تعطى مرتين يوميا أحدثت أضرارا في الكبد إذ ارتفع مستوى إنزيم
 ALT , ALP , AST وكذلك البيليروبين الكلي وانسداد بالصفراوية أما , LDH , GGT لم
 يظهر أي تغير عند استخدام جرعات عالية ولكن عندما خفضت الجرعة إلى 20 ملغم / يوم
 انخفضت معايير الإنزيمات والبيليروبين الكلي إلا إن الدراسة الحالية كانت الجرعة المعطاة 20
 ملغم/يوم ولفترات مختلفة .

وقد أظهرت دراسة أخرى إن استخدام عقار التاموكسيفين بجرعته المعتادة وهي 10
 ملغم مرتين باليوم لم تؤثر على وظيفة الكبد إلا بعض الآثار الجانبية كالغثيان والوار (Floren *et al* ., 1998)

وفي دراسة (Miyai *et al* (1991) وجد إن الجرعة اليومية المعتادة لعقار
 التاموكسيفين هي 10 ملغم مرتين يوميا إذ قاموا بقياس تركيز التاموكسيفين وعناصره الفعالة بالدم
 وكان 100-150 نانوغرام / مل وقد اظهر فعاليته على الخلايا السرطانية في الثدي ولم يظهر تأثير
 على الكبد وقد اثبتوا ذلك أثناء فحص إنزيمات الكبد.

وفي دراسة (Maruyama *et al* (1995) سجل حالتين لمريضتين يتناولن عقار
 التاموكسيفين وعقار آخر يسمى تيكافور tegafur وهو عقار أخر لمنع نمو الخلايا السرطانية احد
 المرضى حدث لديه التهاب كبد مزمن بعد تناول العقارين لمدة 3 أشهر والمريضة الأخرى حدث

المناقشة

لها تليف للكبد بعد تناول العقارين لمدة 8 أشهر وقد حلت مشاكل المريضتين بعد ما قطعوا عقار تيكافور .

أما دراسة (2009) El-Beshbishya ., أظهرت إن الجرعة الزائدة من التاموكسيفين تعد سامة وتسبب تسمم بالكبد فقد أجرى دراسته على الجرذان وأظهرت ارتفاع معنوي في كل من sGOT, sGPT, sLDH, sALP and s GGT لكن هذا غير مثبت على البشر .

وفي دراسة (1993) Hirsimaki *et al.*, لاحظ بأن معاملة الفئران بالتاموكسيفين بجرعة 45 mg/kg لمدة أسبوعين يسبب تحلل لخلايا الكبد في الفئران مقارنة مع دراسة (2002) Kasahara *et al.*, الذي لاحظ عدم حدوث أي تغيرات مرضية لكبد الفئران المعاملات بمادة التاموكسيفين بجرعة 20 mg/kg لمدة أسبوعين .

وفي دراسة (2003) Sharma *et al.* , 2002 ; Jakesz ; *et al.* , (Jan 2000) أكدوا إن علاج النساء المصابات بمرض السرطان بواسطة تاموكسيفين 10 ملغم مرتين في اليوم و نظائر LHRH analogue لا يؤثر على الكبد.

5-2-5 الألبومين Albumin :

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الألبومين بين مجموعتي المرضى والأصحاء وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (1989) Richard. *et al.* , إذ عمد على قياس تأثير التاموكسيفين في النساء المصابات بسرطان الثدي على الألبومين ومعايير أخرى إذ استنتج على عدم وجود علاقة بين علاج التاموكسيفين والألبومين أي إن مستوى الألبومين لم يتغير وهذا شيء طبيعي إذ انه يصنع في الكبد وان عقار التاموكسيفين لم يؤثر في الكبد عند إعطائه بالجرعة الاعتيادية وكذلك لاحظ إن الألبومين بروتين مهم لنقل المواد الوسطية الناتجة من التاموكسيفين إلى الأنسجة الهدف .

وفي دراسة أخرى للتداخل الارتباطي بين الألبومين ونقله للعقاقير ومن ضمنها التاموكسيفين وجد انه احدهما لا يؤثر على الآخر بوصف الألبومين بروتين يصنع في الكبد ويعد بروتين جدا مهم لنقل المركبات الناتجة من ايض العقاقير إلى الأنسجة الهدف (Feng Yang *et al.* , 2014).

وفي دراسات أخرى متناقضة ففي دراسة (1997) GREY *et al.* , لاحظ إن النساء المصابات بسرطان الثدي اللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين ينخفض لديهن الألبومين بعد

المناقشة

قياس الألبومين ومعايير أخرى للنساء بعد 6 أشهر وبعد سنتين , أما دراسة (Prince . , 1995)
et al) فلاحظ زيادة في مستوى الألبومين للنساء المصابات بعد سن اليأس.
 الألبومين هو عبارة عن بروتين متعدد الوظائف ويصنع الألبومين في الكبد بكمية (10- 15 غم / يوم) ويكون حوالي 10 % من مجموع بروتينات الكبد وحوالي 30- 40 % من الألبومين يطلق إلى الأوعية الدموية والباقي يخزن في الكبد والأنسجة الأخرى وقد يحدث تسرب للبروتين خارج الأوعية الدموية إلا انه يرجع لجهاز الدوران عن طريق الأوعية اللمفية واهم وظائفه الارتباط بالمواد الداخلة للبلازما مثل الأحماض الدهنية , ايونات المعادن , الأدوية وكذلك الارتباط ونقل العقاقير إلى الأنسجة الهدف , إزالة السموم و مضاد للأكسدة (Peters., 1996).

6-2-5 الكلوبولين Globulin :

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الكلوبولين بين مجموعتي المرضى والأصحاء وقد اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة (Al-Hammamy ., 2008) إذ لم يلاحظ أي تغير في مستوى الكلوبولين في مرضى سرطان الثدي بعد العلاج .
 في دراسة أخرى لوحظ انخفاض مستوى الكلوبولين قبل العلاج من سرطان الثدي أي أثناء الإصابة بالمرض أما بعد العلاج فرجع مستوى الكلوبولين إلى طبيعته (Al-Deleemy, 2005).

أما دراسة (Sara & Giles ., 1972) قد تم من اثناءها إعطاء مجموعة من الفئران هرمون الاستروجين بتركيز (2.5 g/kg/day) وقد لاحظوا عند زيادة هرمون الاستروجين ازداد تركيز الكلوبولين في دم الفئران إذ قاموا بقياس جميع أنواع الكلوبولين الف1, ألفا 2, بيتا و كاما .

ويعد الكلوبولين البروتين الثاني بعد الألبومين ويصنع أيضا في الكبد إذ يكون مجموع البروتينات في الدم (6- 8 g/dl) ويكون الألبومين نسبة (3.5-5 g/dl) والباقي للكلوبولين ويساعد الكلوبولين على نقل المواد في الدم بالإضافة الى دوره في تكوين الاجسام المضادة (Berne & Levy ., 1984 ; WHO ., 1991).

7-2-5 الفايبرينوجين Fibrinogen :

أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية في مستوى الفايبرينوجين بين مجموعتي المرضى والأصحاء و الفايبرينوجين (العامل I) وهو بروتين موجود في بلازما الدم ويصنع في الكبد ويعد مهم جدا في عملية تخثر الدم والتي تشترك بها عدة عوامل التي تكون الثرومبين , والثرومبين يعمل على تحويل الفايبرينوجين إلى فايبرين والذي يعد أهم بروتين في عملية التخثر بالإضافة إلى انه يعد من العناصر المحددة للزوجة الدم وان زيادة مستويات الفايبرينوجين تزيد من خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية أما نقص الفايبرينوجين فيؤدي إلى حدوث مشاكل في عملية التجلط وكذلك النزف (Amesse et al ., 2001).

أظهرت دراسة (Balleisen et al ., 1985 & WHO ., 1991) إن تناول حبوب منع الحمل والتي هي بطبيعتها تعمل على رفع هرمون الاستروجين والذي بدوره يؤثر على الفايبرينوجين إذ ينخفض مستوى الفايبرينوجين في الدم عند ارتفاع الاستروجين وفي الدراسة الحالية وجد إن مستوى هرمون الاستروجين منخفض ومن ثم فإن الفايبرينوجين لم يتأثر .

وفي دراسة أخرى لوحظ إن استخدام عقار التاموكسيفين للنساء المصابات بسرطان الثدي سبب في انخفاض في الفايبرينوجين لكن بنسبة 14 % (Chang et al ., 1996).

وفي دراسة (Gebara ., 1995 ; Koh KK et al ., 1997 ; et al 1995 ; Salomaa ., 1993 ; Nabulsi et al ., 1993) وجدوا إن ارتفاع مستوى الاستروجين يؤدي إلى الانخفاض في مستوى الفايبرينوجين وكذلك فإن الزيادة في هرمون الاستروجين تؤدي إلى انحلال الفايبرينوجين .

وقد تناولت دراسة تأثير عقار التاموكسيفين على عدة معايير ومن ضمنها الفايبرينوجين ووجد إن عقار التاموكسيفين يعمل على خفض الفايبرينوجين ومن ثم يقلل من خطر الإصابة بالجلطة إلا انه في الدراسة الحالية لم يظهر أي تأثير على الفايبرينوجين (Joseph et al ., 1997).

5- 2- 8 الكوليستيرول الكلي , البروتين الدهني منخفض الكثافة , البروتين الدهني عالي الكثافة , Total cholesterol , High density lipoprotein LDL , Low density lipoprotein HDL : lipoprotein HDL

المناقشة

بينت النتائج ارتفاع عالي المعنوية بالنسبة للكوليسترول الكلي و البروتين الدهني المنخفض الكثافة وانخفاض عالي المعنوية للبروتين الدهني عالي الكثافة عند النساء المصابات بسرطان الثدي مقارنة مع مجموعة الأصحاء , إن الزيادة في خطر ارتفاع الدهون المضرة وانخفاض الدهون المفيدة في الدم ومن ثم ارتفاع خطر الإصابة بأمراض القلب والتي تتناسب مع انقطاع الطمث عند النساء وذلك لحدوث نقص في هرمون الاستروجين الذي يؤثر بشكل كبير على توازن الدهون في الدم (Oliver & Boyd ., 1961).

أشارت العديد من الدراسات إلى أهمية هرمونات الغدد التناسلية وتأثيرها على الدهون واحد هذه الهرمونات هرمون الاستروجين الذي له الأهمية في الحماية من أمراض القلب وارتفاع الدهون (Silfen SL *et al* ., 1999) إذ إن للأستروجين أهمية كبرى في عملية أيض الدهون وعند حدوث نقص في هرمون الاستروجين يحدث خلل في مستوى الدهون في الدم , وقد تطابقت الدراسة الحالية مع ما ذكر إذا إن في هذه الدراسة وجد إن مستوى هرمون الاستروجين منخفض ولذلك اثر على مستوى الدهون في الدم وقد توافقت النتائج مع (Siteri *et al* (1988) إذ اكتشف وجود علاقة طردية بين هرمون الاستروجين وبين البروتين الدهني عالي الكثافة الذي يعد مهما جدا في أيض الكوليسترول إذ انه يعمل على سحب الكوليسترول من الأنسجة المحيطة إلى الكبد للتهديم ومن ثم الإفراز وهذه العملية تعرف ب reverse cholesterol transport.

واتفقت أيضا مع دراسة (Allaupovic P. *et al* ., (1963) إذ وجد إن عدد مستقبلات البروتين الدهني عالي الكثافة تزداد في الكبد بزيادة هرمون الاستروجين إذ لاحظ وجود مستقبلات لهرمون الاستروجين في الكبد مما يشير إلى فائدته في التمثيل الغذائي للدهون ومن ثم يحث الكبد على زيادة البروتين الدهني عالي الكثافة.

واتفقت الدراسة الحالية أيضا مع (Swarnalatha & Ebrahim ., (2012) إذ قارن مستوى الدهون بين النساء قبل سن اليأس وبعد سن اليأس ووجد انخفاض معنوي في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة لدى النساء بعد سن اليأس مقارنة مع النساء قبل سن اليأس وارجع السبب إلى نقص في هرمون الاستروجين بعد سن اليأس.

وقد أظهرت دراسة أخرى أيضا ارتفاع في مستوى الكوليستيرول الكلي و البروتين الدهني منخفض الكثافة بين النساء ما بعد سن اليأس مقارنة مع النساء قبل سن اليأس وارجع السبب

المناقشة

الرئيسي إلى الخلل والنقص في هرمون الاستروجين أما مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة فلم يتغير (Madhavi. *et al* ., 2014).

وأظهرت دراسة (Zhou *et al* ., 2010) ; Berg *et al* ., (2004) أيضا ارتفاع في مستوى الكوليسترول الكلي و البروتين الدهني منخفض الكثافة وعدم تغير في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة في النساء بعد سن اليأس مقارنة مع النساء قبل سن اليأس.

وقد أظهرت دراسة على النساء الكوريات عدم تغير في مستوى البروتين الدهني عالي الكثافة, ووزن الجسم وارتفاع في مستوى الكوليسترول الكلي و البروتين الدهني منخفض الكثافة للنساء بعد سن اليأس مقارنة مع النساء قبل سن اليأس (Eun Jeung Cho *et al* ., 2011).

وقد اختلفت الدراسة مع (Fex *et al* ., 1981 ; Bush *et al* ., 1988 ;

Takeshi Tominaga *et al* ., 2010) إذ تناولت هذه الدراسة النساء المصابات بسرطان الثدي اللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين وقياس مستوى الدهون ومقارنتها مع مجموعة سيطرة إذ لاحظوا تحسنا في مستوى الدهون بالدم بعد تناول عقار التاموكسيفين إذ يعد علاج لمرض سرطان الثدي وله تأثير استروجيني على بعض الأعضاء والمعايير.

إن ميكانيكية تأثير التاموكسيفين على الدهون غير واضحة بالضبط إلا انه يظن انه يؤثر تأثير استروجيني على الكبد إذ يؤثر على البروتينات الدهنية : 1- زيادة في بناء البروتين الدهني عالي الكثافة مما يؤدي إلى نقص مستويات الدهون الثلاثية , 2- نقص في بناء البروتين الدهني lipoprotein B والذي يؤدي إلى زيادة في هدم البروتين الدهني LDL-B والذي يؤدي إلى نقص في LDL , 3- زيادة في بناء البروتين الدهني lipoprotein A مما يؤدي إلى زيادة في HDL (Windler. *et al* ., 1980 ; Staels. *et al* ., 1989)

3-5 الدراسة الجزيئية molecular study :

حوالي 5-10 % من حالات سرطان الثدي تكون وراثية إذ ينتج عن خلل في بعض المورثات (طفرة) والناتج عن الانتقال من الأبوين, إذ يمكن لبعض التغيرات في الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الأوكسجين DNA الموروثة إن تزيد من خطر الإصابة بسرطان الثدي وهناك مورثات خاصة وتعرف المورثات الكابتة للورم (BRCA1 و BRCA2) إذ قد تكون

المناقشة

الطفرات في هذه المورثات موروثية من الإباء وعندما تحدث الطفرة فإنها تفقد القابلية على الإصلاح وبذلك يتكون وينمو الورم. (American Cancer Society., 2012)

معظم حالات الإصابة بسرطان الثدي قد تحدث طفرة في خلية واحدة في الثدي مما يؤدي إلى نمو وتكاثر الخلايا أي من غير إن ترثها من الأبوين وقد تكون بسبب عوامل بيئية . (American Cancer Society., 2013).

إن حدوث طفرة وراثية في المورثات المسؤولة عن تكوين إنزيمات cytochrome P450 تؤثر على تكوين الإنزيم ومن ثم على وظيفته (Ingelman -Sundberg. 2001).

1-3-5- المورث (CYP2D6*4) : CYTOCHROME P 450 2D6

أظهرت النتائج إن معظم عينات الدراسة لم يحدث لها هضم أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيغوت (qq) والذي يكون مسؤولاً عن إنتاج الإنزيم الأيضي ضعيف الفعالية وقد توافقت الدراسة الحالية مع دراسة (Ling Ji et al ., 2002) إذ أظهرت الدراسة إن معظم العينات لم تهضم ويعتقد إن احد الأسباب وذلك لعدم وجود الأليل 4* للمورث CYP2D6 يوجد بنسبة قليلة في العرق الآسيوي (0-2.8).

في دراستنا الحالية كانت نسبة تواجد النمط المورثي CYP2D6*4 (44%) للنساء العراقيات المصابات بسرطان الثدي واللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين وقد ترجع هذه النسبة إلى إن البعض قد يكونون من عرق قوقازي فقد بينت الدراسات السابقة إن العرق الآسيوي يحمل النمط المورثي CYP2D6*4 بنسبة قليلة وإن النمط السائد هو CYP2D6*10 (Wang et al ., 1999).

أما الدراسة التي أجريت على 223 عينة من النساء الصينيات المصابات بسرطان الثدي وتمت دراسة النمط الوراثي لهذا المورث مع تردد الأليلات وقد أظهرت الدراسة إن الأليل 10* هو الأليل الأكثر تردداً في الشعب الصيني بنسبة (51.3%) وإن الأليل 4* بنسبة (0.2%) وفي دراسات أخرى في سنغافورة , تايوان و هونغ كونغ كانت نسبة الأليل 10* من (62-70%) (Lee & Jeyaseelan ., 1994 ; Garcia-Barcelo et al ., 2000).

وهناك اختلاف بين المجموعات العرقية كما في الجدول (5- 3) في توزيع الأنماط المظهرية (فقيرة الأيض , متوسطة الأيض , ما فوق عالية الأيض) وقد وجد إن تكرار المورث يكون كبير لسكان الشمال الشرقي الإفريقي (29% في إثيوبيا) (Aklillu et al ., 1996) وفي المملكة العربية السعودية (21%) أما في سكان آسيا فإن المورث Cyp2D6*10 فهو المنتشر

المناقشة

ويشكل نسبة (57 %) في الصين ويكون الطراز عالي الايض هو المنتشر أما فقير الايض فهو قليل . (Sistonen et al ., 2007).

وجد إن (2- 3%) من الشعب الألماني يحملون المورث *CYP2D6* مضاعف ومكرر وقد أنتج طرازا مظهريا جديدا أطلق عليه ما فوق عالي الايض والذي يسبب فعالية مضاعفة للأنزيم وقد لوحظ وجود ما فوق عالي الايض بنسبة 30-4- % في القوقازيين (Lovlie et al ., 2001).

عموما إن التعرف على النمط الوراثي قد يؤثر على القرار بخصوص العلاج كما وجد في القوقازيين عند اخذ عقار المورفين وجد إن (10 %) يمتلكون الطراز فقيرة الايض لذلك لا يستجيبون بشكل جيد لهذا المسكن وكذلك في النساء التي تحمل الطراز الوراثي فقيرة الايض / متوسطة الايض قد لا تستفيد من العلاج المضاد للاستروجين وذلك لعدم إنتاج مركبات ايضية فعالة بشكل كافي (Gasche et al ., 2004 ; Koren et al ., 2006).

جدول (3-5) يبين توزيع عدد من اليليات الرئيسية للمورث *CYP2D6*

(Beverage et al ., 2007)

المناقشة

Allele Type	CYP2D6 Allele	Caucasian (%)	African-American (%)	Asian (%)
Functional	*1	33-40	28-50	23-42
	*2	22-34	11-78	9-20
Reduced function	*9	0-2.9	0	3.3
	*10	1.9-8	3.1-8.6	38-70
	*17	0.1-0.3	9-34	0.5
	*41	8	-	-
Nonfunctional	*3	1-3.9	0-0.5	0.8-1
	*4	12-23	1.2-7	0-2.8
	*5	1.6-7.3	0.6-6.1	4.5-6.1
	*6	0.7-1	0	-
	*8	(rare)	(rare)	(rare)
Duplication	*1 × 2	0.2-0.5	3.3	0.5
	*2 × 2	0.7-1.6	1.6-2.5	0-1
	*4 × 2	0.1-0.2	0.9	-

وقد اختلفت الدراسة مع دراسة (Chonlaphat *et al* (2012) إذ وجد إن تردد الاليل *4 فقط بنسبة (2%) وكان الطراز المتباين هو المتغلب أما الاليل الأكثر تردد هو الاليل *10 بنسبة 20%.

وفي دراسة لبعض النساء الأمريكيات وقد ركزت هذه الدراسة على الاليل *4 وأكدت هذه الدراسة على إن هذا الاليل لا ينتج إنزيم يكون فعال ايضيا (Hertz *et al* ., 2012). أما دراسة مقارنة للشعب الآسيوي (الصينيون , الماليزيين و الهنود) تمت دراسة التردد الاليلي للجين *CYP2D6* فقد اخذ 228 لمجموعة الأصحاء (n=76) و 165 من مجموعة المرضى بسرطان الثدي فقد وجد تنوع عرقي واسع بين الاليلات بين الأعراق في مجموعة الأصحاء وكانت نسبة تردد الاليلات *1*1 بين الشعوب (الصينيين = 0.98, الماليزيين = 0.96, الهنود = 0.91 و P value = 0.199) والاليل *4*1 (الصينيين = 0.02, الماليزيين = 0.04, والهنود = 0.09) والاليل *4*4 (كان لجميع الشعوب = 0) (Joanne *et al* ., 2010).

وفي دراسة (Xu *et al* ., (2008) أجريت على العرق الآسيوي فقد تبين من النتائج إن (البقاء على قيد الحياة, الشفاء من المرض, وتطور المرض) مرتبطة بالنمط

المناقشة

الوراثي $CYP2D6*10*10$ والنمط المظهري الأكثر تعبير هو متوسط الايض وبنسبة (48%) والذي يكون نادرا في العرق القوقازي.

وفي دراسة أجريت على العرق القوقازي والتي كانت مرتبطة بالنمط الوراثي $CYP2D6*4$ والتي أظهرت وجود النمط المظهري الأكثر هو فقير الايض المتعلق بالنمط المورثي $4*4$ وقد كانت نسبة النجاة من المرض بعد اخذ عقار التاموكسيفين لمدة 5 سنوات (54%) مقارنة مع (84%) للذين لا يحملون النمط المورثي $CYP2D6*4$ (Goetz et al ., 2005).

كذلك اتفقت النتيجة مع دراسة (2011) *Levkovich et al* إذ أجرى دراسة على النساء الأوكرانيات المصابات بسرطان الثدي إذ كان النمط المورثي $CYP2D6*4$ هو السائد ووجد فروقا معنوية بين مجموعة الأصحاء ومجموعة المرضى من إذ تردد اللايلات والنمط المظهري إذ وجد إن نوع فقيرة الايض هو الغالب ويليه النوع عالية الايض.

4-2-3-5 المورثات $3A4*1B$, $3A5*3$: CYTOCHROME P 450

• $CYP3A4*1B$:

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم حدوث هضم لمعظم العينات أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيغوت (pp) ويليه النمط متجانس الزيغوت (qq) الذي يكون مسؤولا عن إنتاج إنزيم قليل الفعالية في ايض وقد توافقت الدراسة من ناحية قلة النسبة مع دراسة كندية إذ وجد إن نسبة تواجد الاليل $CYP3A4*1B$ كانت (6.3%) إذ وجد هذا المورث في 61 مريضة من أصل 964 إلا أنها اختلفت من ناحية النمط المورثي فقد لوحظ غياب نمط المتباين الزيغوت homozygous وقد كانت النسبة الأكبر في الدراسة الحالية للنمط المتجانس البري (William et al ., 2007).

وفي دراسة (2004) *Keshava* لاحظ عدم وجود علاقة بين التعدد المظهري للجين وبين فعاليته الإنزيمية وتأثيره على ايض التاموكسيفين.

أما دراسة أجريت على النساء التايلنديات لم يتم العثور على هذا الاليل من ضمن عينات الدراسة وهذا يتناسب مع ما هو سائد بأن الشعب الآسيوي يحمل هذا الاليل بنسبة (1%) (Schroth et al ., 2010).

وقد تمت دراسة النمط الوراثي وتردد اللايلات لهذا المورث وقد كان بنسبة كبيرة عند الشعب الإفريقي الأمريكي وقد أكدت هذه الدراسات عدم وجوده في الصينيين, التايوانيين, واليابانيين (Fukushima et al ., 2004; Sata et al ., 2000; Walker et al ., 1998 ;

(Ball *et al.* , 1999 ; Paris *et al.* , 1999) وقد كان (0.036- 0,096 عند القوقازيين)
, (0.8-0.480 عند الأفارقة), (0,089 عند السويديين) و (0.690 عند الغانيون) (Garcia-
(Martin *et al.* , 2002).

● **المورث $CYP3A5*3$**

العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيغوت النوع البري (pp)
وقد توافقت الدراسة الحالية مع دراسة (Jin *et al.* (2005) تناولوا دراسة علاقة المركبات
الايضية للتاموكسيفين ونسبتها في الدم مع الأنماط الوراثية لهذا المورث إذ لم تظهر أي زيادة
معنوية بين المركبات الفعالة وبين النمط البري والمتباين أما النمط المتباين $1*1$ فقد كانت نسبة
المركبات الفعالة لعقار التاموكسيفين زيادة بشكل معنوي , مقارنة مع دراسة أخرى لم تظهر أي
ترابط بين المورث وبين تركيز المركبات الايضية وقد اقترح إن أي خلل في فعالية الإنزيم ممكن
إن يعوض بأنزيمات أخرى مثل ($CYP2C9$, $CYP3A4$ و $CYP1A2$) (Notley *et al.* ,
(2005).

ان هذا الاليل موجود في جميع الأعراق وكانت نسبته في العرق الآسيوي (الصين , اليابان ,
الكوريين (75-79) , الماليزيين (61%) والهنود (59%)) أما في القوقازيين (91-94%) ,
الأفارقة (34%) (Dally *et al.* , 2007 ; Sinues *et al.* , 2003 ; Plummer *et al.* , 2003 ;
(2004 ; Balram *et al.* , 2003 ; Fukuen *et al.* , 2002 ; Ji-Young *et al.* , 2014)
وقد تمت دراسة تعدد الأشكال للجين $CYP3A5*3$ على 30 عينة من النساء
التايلنديات وقد توزعت النسب : $1*1$ (63% , n= 19) , $3*1$ (33% , n=10) , $3*3$
(4% , n= 1) , وقد أظهرت أيضا عدم وجود ارتباط بين هذا الاليل وتركيز المركبات الفعالة
للتاموكسيفين كما أكدتها دراسات أخرى (Lim *et al.* , 2011 ; Gjerde *et al.* , 2010 ;
(Mugundu *et al.* , 2012 ; Insee *et al.* , 2013).

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS AND
RECOMMENDATION

الاستنتاجات

Conclusions

- 1- أعلى نسبة مئوية للإصابة بمرض سرطان الثدي للنساء في الفئة العمرية (41-60) والذي يبدأ الحيض لديهن بعمر (10 – 13 سنة) هذا مما يزيد مدة التعرض لهرمون الاستروجين.
- 2- أظهرت النتائج إن أكبر عدد من مجموعتي المرضى والسيطرة هن من المتزوجات وكان عمر الزواج لدى مجموعة المرضى بعمر 10-20 أما مجموعة السيطرة فكان عمر الزواج 21-30 .
- 3- عدم وجود علاقة بين سرطان الثدي والتاريخ العائلي للإصابة إذا إن أكثر النساء المصابات لا يمتلكن تاريخا عائليا للإصابة.
- 4- أظهرت النتائج انخفاضا معنويا في هرمون الاستروجين للنساء المصابات بسرطان الثدي بعد العلاج بينما لم يكن هنالك فروق معنوية في هرمون البرولاكتين والتستوستيرون في كل من مجموعتي المرضى والسيطرة.
- 5- لا يوجد أي تأثير لعقار التاموكسيفين على إنزيمات الكبد (ALP,GGT,GOT,GPT,LDH) الألبومين , الكلوبوليولين , والفايبرينوجين.
- 6- أظهرت النتائج ارتفاع في كل من الكولسترول الكلي و البروتين الدهني منخفض الكثافة وانخفاض في البروتين الدهني مرتفع الكثافة .
- 7- أظهرت نتائج الدراسة الجزيئية عدم هضم معظم العينات ويرجع ذلك إلى احتمال انعدام وجود الاليل *4 للمورث *CYP2D6* أو فشل في التقطيع أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (qq) بنسبة طفيفة والذي يكون مسؤولا عن إنتاج الإنزيم الايضي ضعيف الفعالية في ايض عقار التاموكسيفين وبذلك لا تستفيد المريضة من العقار لذلك وجب تغيير هذا العقار بعقار اخر.
- 8- لم يحدث هضم لمعظم العينات في حالة المورث *CYP3A4*1B* أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (pp) النوع البري وقد يرجع سبب عدم هضم العينات إلى حدوث فشل في التقطيع أو قلة وجود هذا الاليل في العرق الآسيوي.
- 9- حدث هضم للعينات لهذا المورث *CYP3A5*3* فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيجوت (pp) أي النوع البري والذي يكون مسؤولا عن إنتاج إنزيم فعال.

التوصيات

Recommendation

- 1- دراسة مقارنة بين عقار التاموكسيفين وعقارات أخرى المستخدمة في علاج سرطان الثدي بهدف الوصول إلى أفضل عقار لعلاج مرض سرطان الثدي.
- 2- تقدير مستوى المركبات الايضية الفعالة لعقار التاموكسيفين في مصل الدم ودراسة علاقتها مع المورثات الايضية.
- 3- دراسة الاليل *10 للمورث *CYP2D6* للنساء العراقيات المصابات بسرطان الثدي لكونه الاليل الاكثر وجودا في العرق الاسيوي.
- 4- دراسة المورثات الايضية الأخرى المسؤولة عن عقار التاموكسيفين مثل *CYP2C9* و *CYP2C19* وعلاقتها بأبيض عقار التاموكسيفين و بحدوث مرض سرطان الثدي.
- 5- إقامة حملات وندوات للتوعية وتبيان مدى خطورة سرطان الثدي والتشجيع على القيام بالفحص الدوري للكشف المبكر للمرض .
- 6- إنشاء أقسام أو فروع في مراكز الكشف المبكر عن مرض سرطان الثدي لفحص وكشف حالة المورثات الايضية للمريضات لاختيار العقار المناسب.
- 7- دراسة التردد الاليلي sequencing للمورثات قيد الدراسة .

المصادر

REFERENCES

References

المصادر

References

القرآن الكريم - سورة الإسراء - الآية 80

طعمه , نظر عكاش. (2011) . التعدد الوراثي للجين CYP1A1 وعلاقته بحدوث مرض سرطان الثدي في محافظة ذي قار رسالة ماجستير كلية التربية . جامعة ذي قار.

Abdualkareem , Ezzate Hasson . (2012) . Physiological Study on Patients with Breast Tumors in Al-Najaf Governorate. Msc. thesis College of science university of Babel .

Aklillu E, Persson I, Bertilsson L, Johansson I, Rodrigues F, Ingelman-Sundberg M (1996) . Frequent distribution of ultrarapid metabolizers of debrisoquine in an Ethiopian population carrying duplicated and multiduplicated functional CYP2D6 alleles. *J Pharmacol Exp Ther*;278:441–6.

Akram , W (2009). Screening of breast mass in Iraqi females : Al-Kindy Hospital breast clinic. Al-Kindy college of Medicine, University of Baghdad, Baghdad, Iraq, *American journal of infectious Diseases* 5(4):320-323.

Al-Hammamy, Suhad Rasheed Majeed (2008) . Biochemical and Histochemical Changes in Iraqi Women with Breast Tumors, PhD thesis , College of Science-University of Baghdad.

Al – Shaibani , S. ; Bu- Alayyan : Habiba , E. ; Sorkhou , N. and Al-Shamali . (2006) . Risk factors of breast cancer in Kuwait : case-control study , Family practice Health Cancer , Kuwait City , Kuwait . *IJMS* Vol 31 , No 2 .

References

- Albain KS (2004).** Adjuvant chemotherapy for lymph node-negative, estrogen receptor-negative breast cancer: a tale of three trials. *J Natl Cancer Inst*, 96: 1801–1804.
- Alberts et al (2008.)** . *Molecular Biology of the Cell*; 5th Edition, Garland Science.
- Albrektsen G, Heuch I, Hansen S, Kvale G (2005)** . Breast cancer risk by age at birth, time since birth and time intervals between births: exploring interaction effects. *Br J Cancer*. ;92(1):167–75.
- Al-Dleemy.W.K.(2005).**"Biochemical study of some parameters in breast cancer patients". Ph.D. Thesis. Department of Chemistry College of Science, Mosul University.
- Algeciras-Schimmich A, O’Kane DJ, Snozek CL (2008)** . Pharmacogenomics of tamoxifen and irinotecan therapies. *Clin Lab Med*;28:553– 67.
- Al-Hassani,S.H.(2008).** A study of some effectors on frequency of GSTM1 and GSTT1 genes in the women with breast cancer in Basrah . Msc. thesis College of education university of Basrah.
- Ali S, Coombes RC (2002).** Endocrine-responsive breast cancer and strategies for combating resistance. *Nat Rev Cancer*; 2(2): 101-12.
- Allaupovic P, Howard R.P & Furman R.H.(1963).** Effect of estrogen and androgen and on and better lipoprotein combination in human subjects. *Circulation.*; 28: 64-67.
- Althuis MD, Fergenbaum JH, Garcia-Closas M, Brinton LA, Madigan MP, Sherman ME (2004)** . Etiology of hormone receptor-defined breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* ;13(10):1558–68.

References

- American Cancer Society. (2009).** Cancer Facts and Figures.
- American Cancer Society (2011) .** Cancer Facts & Figures. 1-55
- American Cancer Society (2012) .** *Cancer Facts and Figures.*
- American Cancer Society (2012.) .** Cancer Treatment & Survivorship Facts & Figures.
- American Cancer Society (2013).** Breast Cancer Overview
www.cancer.org
- American Cancer Society (2013).** Breast Cancer Facts & Figures .
- American Cancer Society (2014).** Breast Cancer Facts & Figures .
- American Institute for Cancer Research and World Cancer Research Fund.(2007).**Food,Nutrition,Physical activity ,and the Prevention of Cancer :a Global Perspective. Washington DC: AICR.
- American Joint Committee on Cancer. (2010)** What is Cancer Staging?
- Amesse C, Lacroix S, Lupien G (2001).** Factor VII Deficiency An Inherited Bleeding Disorder: Canadian Hemophilia Society. 31 pages.
- Amiramini B, Weber B, Rebbeck T (2000) .** Regulation of reporter gene expression by a CYP3A4 promoter variant in primary human hepatocytes. Proc Am Assoc Cancer Res. ;60:114.
- AN, Tkaczuk KA, Lewis LM, Tomic D, Lim CK, Flaws JA (2005)** .Polymorphisms in cytochrome P4503A5 (CYP3A5) may be associated with race and tumor characteristics, but not metabolism and side effects of tamoxifen in breast cancer patients. Cancer Lett; 217: 61–72.
- Anders MW, Lash L, Dekant W, Elfarra AA, Dohn DR (1988)** Biosynthesis and biotransformation of glutathione S-conjugates to toxic metabolites. Crit Rev Toxicol 18: 311-341.

References

- Anders,C.K.;Johanson,R;Litton,J;Phillips,M.and Iyer,A.(2009).**Breast cancer before age 40 years .*J.Semin.Oncol.*36(3):237-249 .
- Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, Thervet E (2007)** .Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics* ;8:835– 49.
- Anthony W.Norman ,Mathew T.Mizwicki and Derek P. G.Norman (2004)** . steroid hormone rapid action , membrane receptors and a conformational ensemble model nature reviews / drug discovery volume 3 / 28 , 29 .
- Arpino,G.; Bardou,V.J.; Clark,G.M.and Elledge,R.M.(2004).** Infiltrating lobular carcinoma of the breast :tumor characteristics and clinical outcome. *J. Breast cancer research* 6:149-156
- Arroyo V (2002)** . Review article: albumin in the treatment of liver diseases—new features of a classical treatment. *Aliment Pharmacol Ther*;16(Suppl5):1-5.
- Arulkumaran S, Symonds IM, Fowlie A (2004)** . Oxford Handbook of Obstetrics and Gynaecology.1 ed. New York: Oxford University Press;
- Ásgerður Sverrisdóttir (2012).** Adjuvant tamoxifenand luteinizing hormone- releasing hormone agonists in premenopausal breast cancer On long-term benefits and side effects in a randomised study. diploma thesis of Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden ; p: (96)
- AstraZeneca PLC (2004).** Annual Report and Form 20-F Information 2003. London, 144 pp.
- AstraZeneca PLC (2007).** Annual Report and Form 20-F Information 2006. London, 184 pp.

References

- Ball SE, Scatina J, Kao J. (1999) .** Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*;66:288–94.
- Balleisen L, Bailey J, Epping PH, Schulte H, van de Loo J (1985)** .Epidemiological study on factor VII, factor VIII and fibrinogen in an industrial population: I. Baseline data on the relation to age, gender, body-weight, smoking, alcohol, pill-using, and menopause. *Thromb Haemost* 1985; 54:475–9.
- Balram C, Zhou Q, Cheung YB, Lee EJ (2003) .** CYP3A5*3 and *6 single nucleotide polymorphisms in three distinct Asian populations. *Eur J Clin Pharmacol* 2003;59:123-126.
- Barnett,G.C.; Shah,M.; Redman,K.; Easton,D.F.; Ponder,B.A.; Pharoah,P.D.(2008).** Risk factors for the incidence of breast cancer: do they affect survival from the disease? *J. Clin. Oncol.*26:3310–6.
- Barros FF, Powe DG, Ellis IO, Green AR (2010) .** Understanding the HER family in breast cancer: interaction with ligands, dimerization and treatments. *Histopathology*; 56(5): 560-72.
- Berg G, V. Mesch, Boero L, Sayegh F, M. Prada, M. Royer ML. Muzzio, ML. Schreier L, N. Siseles and H.Benencia,(2004).** Lipid and Lipoprotein profile in menopausal transition. Effects of hormones, age and fat distribution *Horm. Metab. Res.* 2004. 36(4): 215-20.
- Bergh B, Ernberg, Frisell, Furst, Hall (2007) .** Bröstkancer. Kristianstad: Kristianstads Boktryckeri AB.
- Berkey CS, Frazier AL, Gardner JD, Colditz GA (1999).** Adolescence and breast carcinoma risk. *Cancer.*;85:2400-2409.

References

- Berne RM, Levy M (1983)** . Physiology. St. Louis: C. V. Mosby,;407–8.
- Bertz, R.J. and Granneman, G.R. (1997)**, ‘Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions’, Clin. Pharmacokinet. Vol. 32, pp. 210–258.
- Beverage JN, Sissung TM, Sion AM, Danesi R, Figg WD (2007)** . CYP2D6 polymorphisms and the impact on tamoxifen therapy. J Pharm Sci 2007;96:2224e31.
- Binart,N.; Helloco,C.; Ormandy,C.J.; Barra,J.; Clement-Lacroix,P.; Baran,N.(2000)**. Rescue of preimplantatory egg development and embryo implantation in prolactin receptor-deficient mice after progesterone administration. *Endocrinology* ;141(7):2691–7.
- Boccardo F, Rubagotti A, Perrotta A et al (1994)** . Ovarian ablation versus goserelin with or without tamoxifen in premenopausal patients with advanced breast cancer: results of a multicentric Italian study. Ann Oncol;5:337-342.
- Borges S, Desta Z, Li L, Skaar TC, Ward BA, Nguyen A. (2006)** . Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. Clin Pharmacol Ther;80:61–74.
- Borgquist S, Anagnostaki L, Jirstrom K, Landberg G, Manjer J (2007)**. Breast tumours following combined hormone replacement therapy express favourable prognostic factors. Int J Cancer.;120(10):2202–7.
- Bradford LD (2002)** . CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians,Africans and their descendants. Pharmacogenomics;3:229e43.

References

- Bray F., MacCarron P. and D Maxwell Parkin (2004)** :The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality, *Breast cancer Res .*,6:229-239
- Breast cancer and breastfeeding: collaborative (2002).** reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet.* ;360(9328):187–95.
- Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA (2005)** . Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: Ready for clinical application? *J Clin Oncol.*;23:7350–7360.
- Brisken,C. and Rajaram,R.D. (2006).** Alveolar and lactogenic differentiation. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 11:239–248.
- Brisken , Cathrin (2013)** Progesterone signalling in breast cancer: a neglected hormone coming into the limelight ., nature reviwis / cancer , volume 13 , No . 386-387.
- Brown , Matthew A., Sarah Edwards, Emma Hoyle, Sarah Campbell, Steven Laval, Ann K. Daly, Kevin D. Pile, Andrei Calin, Alan Ebringer, Daniel E. Weeks and B. Paul Wordsworth (2000).** Polymorphisms of the CYP2D6 gene increase susceptibility to ankylosing spondylitis *Human Molecular Genetics, Vol. 9, No. 11* 1563–1566
- Buchanan RB, Blamey RW, Durrant KR (1986)** . A randomized comparison of tamoxifen with surgical oophorectomy in premenopausal patients with advanced breast cancer. *J Clin Oncol*;4:1326-1330.
- Bulun,E.S.; Chen,D.; Lu,M.; Zhao,H.; Cheng,Y.; Demura,M. (2007).** Aromatase excess in cancers of breast ,endometrium and ovary . *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* Aug-Sep;106(1-5):81-96.

References

- Bulun ,S.E.; Lin,Z.; Imir,G.; Amin,S.; Demura,M.; Yilmaz,B. (2005).** Regulation of aromatase expression in estrogen-responsive breast and uterine disease: from bench to treatment. *Pharmacol Rev.*;57:359–383
- Burger,H.G. (2002).** Androgen production in women. *Fertil. Steril.* 77(Suppl 4):35.
- Burstein HJ, Harris LN, marcom PK (2003) .** Trastuzumab and vinorelbine as first – line therapy for HER-2overexpressing metastatic breast cancer : multicenter phase II trial with clinical outcomes , analysisi of serum tumor markers as predictive factors , and cardiac surveillanc algorithm . *J clin Oncol* ; 21 : 2889 – 2895.
- Bush TL, Fried LP, Barrett-Connor E (1988) .** Cholesterol, lipoproteinand coronary heart disease in women. *Cliri Chem* 1988; 34:60-70.
- Carr , BR. (2004) .**The ovary and the normal menstrual cycle. *EssentialReproductive Medicine.* (1stedn), McGraw-Hill: 61-101.
- Cavalli SA, Hirata MH, Hirata RD. (2001).** Detection of *MbolI* polymorphism at the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Chem.*;47:348-51.
- ChangClaude,J.;Andrieu,N.;Rookus,M.;Brohet,R.;Antoniou,A.C. (2007).** Age at Menarche and Menopause and Breast Cancer Risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* ;16(4):740–746.
- Chang, J. , T. J. Powles, S. E. Ashley, R. K. Gregory, V. A. Tidy, J. G. Treleaven & R. Singh (1996).** cholesterol, bone mineral density and coagulation factors in healthy postmenopausal

References

women participating in a randomised, controlled tamoxifen prevention study, *Breast Unit, Royal Marsden Hospital, Sutton, Surrey, UK. Annals of Oncology* 7: 671-675.

Chen CL & Meites J (1970). Effects of estrogen and progesterone on serum and pituitary prolactin levels in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 86: 503-505.

Chetrite,G.S.; Cortes-Prieto,J.; Philippe,J.C.; Wright,F. and Pasqualini,J.R. (2000). Comparison of estrogen concentrations, estrone sulfatase and aromatase activities in normal, and in cancerous, human breast tissues. *J. of Ster. Biochem. and Mol. Bio.*72 23–27.

Chlewbowski RT, (2010) . Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in postmenopausal women. *Journal of the American Medical Association*. 2010;304:1684.

Chonlaphat Sukasem, Ekaphop Sirachainan, Montri Chamnanphon, Khunthong Pechatanan, Thitiya Sirisinha, Touch Ativitavas, Ravat Panvichian, Vorachai Ratanatharathorn, Narumol Trachu, Wasun Chantratita (2012) . Impact of *CYP2D6* Polymorphisms on Tamoxifen Responses of Women with Breast Cancer: A Microarray-based Study in Thailand . *Asian Pacific J Cancer Prev*, 13 (9), 4549-4553

Clarke M, Collins R, Darby S. (2005) . Effects of radiotherapy and of differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*; 366(9503): 2087-106.

References

- Clarke R, Liu MC, Bouker KB. (2003)** . Antiestrogen resistance in breast cancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene*; 22(47): 7316-39.
- Clavel-Chapelon F, Gerber M (2002)** . Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis? *Breast Cancer Res Treat.*;72(2):107–15.
- Clemons M, Goss P (2001)** . Estrogen and the risk of breast cancer. *The New England journal of medicine*; 344(4): 276-85.
- Clevenger CV, Chang WP, Ngo W, Pasha TL, Montone KT, Tomaszewski JE (1995)** . Expression of prolactin and prolactin receptor in human breast carcinoma. Evidence for an autocrine/paracrine loop. *Am J Pathol.*;146(3):695–705.
- Clevenger,C.V.; Furth,P.A.; Hankinson,S.E.; and Schuler,L.A.(2003)**. The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocr. Rev.* 24:1-27.
- Colditz GA, Frazier AL (1995)** . Models of breast cancer show that risk is set by events of early life: prevention efforts must shift focus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995;4:567-571.
- Coller JK, Krebsfaenger N, Klein K, Endrizzi K, Wolbold R, Lang T . (2002)** . The influence of CYP2B6, CYP2C9 and CYP2D6 genotypes on the formation of the potent antioestrogen Z-4-hydroxy-tamoxifen in human liver. *Br J Clin Pharmacol*;54:157-167.
- Coller JK, Krebsfaenger N, Klein K, Wolbold R, Nussler A, Neuhaus P. (2004)** . Large interindividual variability in the in vitro formation of tamoxifen metabolites related to the development of genotoxicity. *Br J Clin Pharmacol*; 57:105–111.

References

- Courtillot,C.; Chakhtoura,Z.; Bogorad,R.; Genestie,C.; Bernichtein,S.; Badachi,Y. (2010).** Characterization of two constitutively active prolactin receptor variants in a cohort of 95 women with multiple breast fibroadenomas. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 95:271-279.
- Crewe HK, Notley LM, Wunsch RM, Lennard MS, Gillam EM (2002) .** Metabolism of tamoxifen by recombinant human cytochrome P450 enzymes: formation of the 4-hydroxy, 4_-hydroxy and N-desmethyl metabolites and isomerization of trans-4-hydroxytamoxifen. *Drug Metab Dispos*;30:869 –74.
- Cuzick J, Ambroisine L, Davidson N. (2007) .** Use of luteinising-hormone-releasing hormone agonists as adjuvant treatment in premenopausal patients with hormone-receptor-positive breast cancer: a meta-analysis of individual patient data from randomised adjuvant trials. *Lancet*; 369(9574): 1711-23.
- Cuzick,J.(2010).**Breast cancer prevention in the developing world .*Breast cancer research* 12(4).
- Daling , J. R. ; Malone, K.E. ; Doody , D.R. ;Johnson,L.G.;Gralow,J.R. (2001) .** Relation of body mass index to tumor markers and survival among young women with invasive ductal breast carcinoma . *cancer .*, 92 : 720 -279 .
- Daling JR, Malone KE, Doody DR, Anderson BO, Porter PL (2002) .** The relation of reproductive factors to mortality from breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;11(3):235–41.
- Dally, H.; Bartsch, H.; Jager, B.; Edler, L.; Schmezer, P.; piegelhalder, B.; Dienemann, H.; Drings, P.; Kayser, K.; Schulz, V. & Risch, A. (2004) .** Genotype relationships in the CYP3A locus in caucasians. *Cancer Lett.*, 207(1):95-9.

References

- Daniel L. Hertz, Howard L. McLeod and William J. Irvin, Jr. (2012).**
Tamoxifen and CYP2D6: A Contradiction of Data. *The Oncologist* ; 17 (5):620-630
- Danforth,K.N.; Eliassen,A.H.; Tworoger,S.S.; Missmer,S.A.; Barbieri,R.L. (2010).** The association of plasma androgen levels with breast, ovarian and endometrial cancer risk factors among postmenopausal women. *Int. J. Cancer* 126:199–207.
- Darweesh ,A. (2009) .** Risk factors of breast cancer among Palestinian women in north west bank . M.S.C. thesis , Al – Najah national university , Nablus , Palestine .
- Davison SL, Davis SR (2003) :** Hormone replacement therapy: current controversies. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 58(3):249-261.
- Davison,S.L.; and Davis,S.R.(2003).** Androgen in women . *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*;85:363-66
- Degregorio MW, WiebeVJ, Venook AP . (1989) .** Elevated plasma tamoxifen levels in a patient with liver obstruction. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989; 23: 194-5.
- Delaunay F, Pettersson K, Tujague M, Gustafsson JA (2000) .** Functional differences between the amino-terminal domains of estrogen receptors alpha and beta. *Mol Pharmacol*;58(3):584–90.
- Desta Z, Ward BA, Soukhova NV, Flockhart DA (2004).** Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: prominent roles for CYP3A and CYP2D6. *J Pharmacol Exp Ther*;310:1062-75.
- Dixon JM (2006) .** ABC of Breast Diseases - third edition. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.

References

Dorgan,F.J.;Stanczyk,Z.F.;Kahle,L.L.;andBrinton,A.L.(2010).

Prospective case-control study of premenopausal serum estradiol and testosterone levels and breast cancer risk. *J.Breast cancer research* .12:98.

Dowsett M, Cuzick J, Ingle J. (2010) . Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *J Clin Oncol*; 28(3): 509-18.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G(EBCTCG) (2011) .

Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet*; 378(9793): 771-84.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G. (2012) .

Comparisons between different polychemotherapy regimens for early breast cancer: meta-analyses of long-term outcome among 100,000 women in 123 randomised trials. *Lancet*; 379(9814): 432-44.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (1992) .

Systemic treatment of early breast cancer by hormonal, cytotoxic, or immune therapy. 133 randomised trials involving 31,000 recurrences and 24,000 deaths among 75,000 women. *Lancet*; 339(8785): 71-85.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (1998) .

Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet*; 351(9114): 1451-67.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) (1996)

. Ovarian ablation in early breast cancer: overview of the randomised trials. *Lancet*; 348(9036): 1189-96.

References

- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group . (2011)** . Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet*; 378(9804): 1707-16.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) (2005)** . Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*;365:1687– 717.
- Eheman,C.R.; Shaw,K.M.; Ryerson,A.B.; Miller,J.W.; Ajani,U.A. and White,M.C.(2009)**. The changing incidence of in situ and invasive ductal and lobular breast carcinomas: United States, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 18 (6): 1763–9.
- Eliassen,A.H. and Hankinson,S.E.(2008)**. Endogenous hormone levels and risk of breast, endometrial and ovarian cancers: prospective studies. *Adv. Exp. Med. Biol.* 630:148–65.
- Eun Jeung Cho, Yun Joo Min, Min Seok Oh, Jee Eun Kwon,Jeung Eun Kim, Wang-Soo Lee1, Kwang Je Lee, Sang-Wook Kim, Tae Ho Kim, Myung-A Kim, Chee Jeong Kim, and Wang Seong Ryu Seoul,(2011)**. Effects of the Transition from Premenopause to Postmenopause on Lipids and Lipoproteins: Quantification and Related Parameters Korea DOI: Korean J Intern Med.; 26(1): 47–53.
- Evans,W.E. and Relling, M.V. (1999)**. ‘Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics’, *Science* Vol. 286, pp. 487–491.

References

- Evelyn Tamayo, Dante Cáceres , Andrei N. Tchernitchin, Leonardo Gaete, Iván Saavedra (2012).** Influence of CYP3A4/5 polymorphisms in the pharmacokinetics of levonorgestrel: a pilot study. *Biomédica* ;32:570-7
- Fakri,S.;Al-Azzawi,A. and Al-Tawi,N.(2006).**Antiperspirant use as a risk factor for breast cancer in Iraq .*Eastern Mediterranean health journal* vol.12(3-4):
- Falandry,C.; Canney,P.A.; Freyer,G.; and Dirix,L.Y.(2009).** Role of combination therapy with aromatase and cyclooxygenase-2 inhibitors in patients with metastatic breast cancer. *Ann. Oncol.*;20:615–620.
- Faupel-Badger,J.M.; Sherman,M.E.; Garcia-Closas,M.; Gaudet,M.M.; Falk,R.T. (2010).** Prolactin serum levels and breast cancer: relationships with risk factors and tumour characteristics among preand postmenopausal women in a population-based case-control study from Poland. *Br. J. Cancer* 103:1097-1102.
- Feng Yang, Yao Zhang and Hong Liang (2014).**Interactive Association of Drugs Binding to Human Serum Albumin. *Int. J. Mol. Sci.* 15, 3580-3595.ISSN 1422-0067 www.mdpi.com/journal/ijms
- Ferlay,J.; Shin,H.R.; Bray,F.; Forman,D.; Mathers,C.; andParkin,D.M.(2010).** Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer*
- Fex G, Adielson G, Mattson W (1981) .** Estrogen-like effects of tamoxifen on the concentration of proteins in plasma. *Acta Endocrinol*; 97:109-13
- Finfer S, Bellomo R, Boyce N, French J, Myburgh J, Norton R (2004) .** A comparison of albumin and saline for fluid resuscitation in the intensive care unit. *N Engl J Med*;350:2247-2256.

References

- Fioretti F, Tavani A, Bosetti C. (1999)** . Risk factors for breast cancer in nulliparous women. *Br J Cancer*; 79:1923-8.
- Floren . L. C. , M. F. Hebert, A. P.Venook V. C Jordan, A. Cisneros4 & K. A. Somberg (1998)**. Tamoxifen in liver disease: Potential exacerbation of hepatic dysfunction .*Annals of Oncology* 9: 1123-1126.
- Forward DP, Cheung KL, Jackson L. (2004)** . Clinical and endocrine data for goserelin plus anastrozole as second-line endocrine therapy for premenopausal advanced breast cancer. *Br J Cancer* 90:590- 594.
- Foulkes WD (2008)** . Inherited susceptibility to common cancers. *N Engl J Med.*;359(20):2143–53.
- Franco Berrino, Patrizia Pasanisi, Cristina Bellati, Elisabetta Venturelli, Vittorio Krogh, Antonio Mastroianni, Edoardo Berselli, Paola Muti and Giorgio Secreto (2005)**. Serum Testosterone Levels and Breast Cancer Recurrence.*Int. J. Cancer*: 113, 499–502 .
- Fukuen S, Fukuda T, Maune H, Ikenaga Y, Yamamoto I, Inaba T. (2002)** . Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the CYP3A5 SNPs, CYP3A5*3 and *6, in a Japanese population. *Pharmacogenetics* ;12:331-334.
- Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H. (2004)**. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat*;23:100.
- Furr BJA WA and wa;eling , A.E. (1987)** . Pharmacology and clinical uses of inhibitors of hormone secretion and action. Bailliere Tindall , Eastbourne: England,

References

- Gabriel,J.(2004).** Text book of the biology of Cancer .Whurr publishers Ltd. pp 41-43
- Gajalakshmi CK and Shanta V. , (1991) .** Risk factor for femal breast cancer , A hospital – based case – control in madras , India . *Acta Oncologia* 30 : 569-574 .
- Garcia-Barcelo M, Chow LY, Chiu HF, Wing YK, Lee DT, Lam KL. (2000) .** Genetic analysis of the CYP2D6 locus in a Hong Kong Chinese population. *Clin Chem*;46:18–23.
- Garcia-Martin E, Martinez C, Ladero JM, Agundez JA. (2006).** Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals. *Mol Diagn Ther*;10:29–40.
- Garcia-Martin E, Martinez C, Pizarro RM, et al. (2002) .** CYP3A4 variant alleles in white individuals with low CYP3A4 enzyme activity. *Clin Pharmacol Ther*;71:196–204.
- Gardiner , S.J. and begg .(2006) , "** Drug metabolizing enzyme , and clinical practice " p 58 : 521 – 590 .
- Garland M, Hunter DJ, Colditz GA. (1998) .** Menstrual cycle characteristics and history of ovulatory infertility in relation to breast cancer risk in a large cohort of US women. *Am J Epidemiol*; 147:636-43.
- Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P, Desmeules J. (2004).** Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *N Engl J Med*;351:2827–31.
- Gebara OCE, Mittleman MA, Sutherland P. (1995).** Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic

References

potential in the Framingham Offspring Study. *Circulation*;91:1952-8.

Giampaglia M, Chiuri VE, Tinelli A, De Laurentiis M, Silvestris N, Lorusso V. (2010). Lapatinib in breast cancer: clinical experiences and future perspectives. *Cancer treatment reviews*; 36 Suppl 3: S72-9.

Ginsburg,E.; and Vonderhaar,B.K.(1995). Prolactin synthesis and secretion by human breast cancer cells. *Cancer Res.* 55:2591–5.

Gjerde J, Geisler J, Lundgren S. (2010). Associations between tamoxifen, estrogens, and FSH serum levels during steady state tamoxifen treatment of postmenopausal women with breast cancer. *BMC Cancer.*;10(1):313.

Gjerde J, Hauglid M, Breilid H, Lundgren S, Varhaug JE, Kisanga ER. (2008) . Effects of CYP2D6 and SULT1A1 genotypes including SULT1A1 gene copy number on tamoxifen metabolism. *Ann Oncol*;19:56–61.

Gnant M. (2009) . Endocrine therapy plus zoledronic acid in premenopausal breast cancer. *The New England Journal of Medicine.*;360:679.

Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW . (2005) . Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol*;23:9312-8.

Goldfien,A. and Monroe,S.E.(1997) Ovaries. In: *Basic and Clinical Endocrinology.* (5th Edition). Eds. F.S. Greenspan and G.J. Stewler. Appleton & Lange, Stamford, p434, 1997.

References

- Colditz, G. A., Rosner, B. A., Chen, W. Y., Holmes, M. D. & Hankinson, S. E. (2004)** . Risk factors for breast cancer according to estrogen and progesterone receptor status. *J. Natl Cancer Inst.* 96, 218–228 .
- GREY , A. B. , M. C. EVANS, C. KYLE & I. R. REID (1997).** The anti-oestrogen tamoxifen produces haemodilution in normal postmenopausal women . *Journal of Internal Medicine* ; 242: 383–388
- Gregory J. Quinlan, Greg S. Martin, and Timothy W. Evans (2005).** Albumin: Biochemical Properties and Therapeutic Potential. *Heoatology, Review.*
- Groom, G. V., and Griffiths, K. (1976).** Effect of the anti-oestrogen tamoxifen on plasma levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, prolactin, oestradiol and progesterone in normal pre-menopausal women. *J. Endocrinol.*, 70:421-428,.
- Gulliver , Linda S M .(2013) .** Estradiol Synthesis and Metabolism and Risk of Ovarian Cancer in Older Women Taking Prescribed or Plant-derived Estrogen Supplementation ., *J Steroids Hormone Sci*, S12 ; <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7536.S12-003>
- Gururaj AE, Rayala SK, Vadlamudi RK, Kumar R. (2006).** Novel mechanisms of resistance to endocrine therapy: genomic and nongenomic considerations. *Clin Cancer Res*; 12(3 Pt 2): 1001s-7s.
- Gutzman,J.H.; Nikolai,S.E.; Rugowski,D.E.; (2005).** Prolactin and estrogen enhance the activity of activating protein 1 in breast cancer cells: Role of extracellularly regulated kinase 1/2-mediated signals to c-fos. *Mol. Endocrinol.* 19:1765-1778.

References

- Habel LA, Stanford JL (1993) .** Hormone receptors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15:209-219.
- Hajian-Tilaki KO, Kaveh-Ahangar T. (2010) .** Reproductive factors associated with breast cancer risk in northern Iran. *Med Oncol.*.
- Hall,J.M.; Couse,J.F. (2001).** The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J. Biol. Chem.* 276(40): 36869-72.
- Hanahan D, Weinberg RA. (2000) .** The hallmarks of cancer. *Cell. Clin Cancer Res* ;100(1):57–70.
- Hankinson,E.S.; and Eliassen,H.A.(2007).** Endogenous estrogen ,testosterone,and progesterone levels in relation to breast cancer risk . *J. steroid Biochem. Mol. Biol.*;106(1-5):24-30.
- Harari D, Yarden Y.(2000) .** Molecular mechanisms underlying ErbB2/HER2 action in breast cancer. *Oncogene*; 19(53): 6102-14.
- Hartman J, Strom A, Gustafsson JA. (2009).** Estrogen receptor beta in breast cancer - diagnostic and therapeutic implications. *Steroids*; 74(8): 635-41.
- Hennighausen,L. and Robinson,G.W.(2005).** Information networks in the mammary gland. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6:715–725.
- El-Beshbishya , Hesham , Ahmed M Mohamadinb, Ayman A Nagyc & Ashraf B Abdel-Naimd (2009) .** Amelioration of tamoxifen-induced liver injury in rats by grape seed extract, black seed extract and curcumin. *Indian Journal of Experimental Biology* ;Vol. 48, pp. 280-288

References

- Brauch , Hiltrud. , Thomas E. Mu'r'dter, Michel Eichelbaum, and Matthias Schwab (2009).** Pharmacogenomics of Tamoxifen Therapy *Clinical Chemistry* 55:10 1770–1782 .
- Hinkula M, Pukkala E, Kyyronen P, Kauppila A. (2001).** Grand multiparity and the risk of breast cancer: population-based study in Finland. *Cancer Causes Control.*;12(6):491– 500.
- Hirsimaki P, Hirsimaki Y, Neiminen L and Joe-Payne B (1993):** Tamoxifen induced hepatocellular carcinoma in rat liver: A-1 year study with antiestrogen. *Arch. Toxicol.*, 67: 49-54
- Hoskins JM, Carey LA, McLeod HL. (2009) .** CYP2D6 and tamoxifen: DNA matters in breast cancer. *Nat Rev Cancer*; 9(8): 576-86.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M.(2013).** eds. SEER Cancer Statistics Review, 1975- 2010. Bethesda, MD: N ational Cancer Institute.
- Huiyan ,M.A. ; Leslie ,B.;Ronald,K.R. and Giske, U. (2006).** Hormon related risk factors for breast cancer in women under age 50 years by estrogen and progesterone receptor status : results from a case – control and case-case comparison .Department of preventive medicine , *keck school of medicine , University of southern california , Los Angles , California*
- Hutson PR, Love RR, Havighurst TC, Rogers E, Cleary JF. (2005) .** Effect of exemestane on tamoxifen pharmacokinetics in postmenopausal women treated for breast cancer. *Clin Cancer Res*; 11:8722–7.
- Ingelman-Sundberg M. (2001).** Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants. The role of the CYP family of enzymes. *Mutat Res.* Oct 1;482(1-2):11-9.

References

- Insee Sensorn, Ekaphop Sirachainan , Montri Chamnanphon, Ekawat Pasomsub, Narumol Trachu, Porntip Supavilai, Chonlaphat Sukasem, Darawan Pinthong (2013)** .Association of *CYP3A4/5*, *ABCB1* and *ABCC2* polymorphisms and clinical outcomes of Thai breast cancer patients treated with tamoxifen . *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* :6 93–98.
- International Agency for Research on Cancer IARC .(2012)**. Weight Control and Physical Activity. Lyon, France
- International Agency for Research on Cancer IARC (1996)**. Some pharmaceutical drugs. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 66: 1–514.
- Iraqi Cancer Registry (2010)**. Iraqi Cancer Board, Ministry of Health .Baghdad –Iraq, 17th ed , 2010.
- Singh , J.K. , A.Nath ,Mukul Mishra, Preety Jain, Arun Kumar, Md. Ali and Ranjit Kumar (2011)** . Early marriage and premenopause as a risk factor for breast cancer, Mahavir Cancer Sansthan and Research Centre, Phulwarisharif, Patna (Bihar), India. *Elixir Human Physio*. 38 :4232-4234
- Jaakko , K. (2004)** . role of socioeconomic status and reproductive factors in breast cancer . University of Hwlsinki Docent Riitta – Sisko Koskela University of Tampere .ISBN 951 : 5960 – 5965 .
- Jakesz R, Hausmaninger H, Kubista E . (2002)**. Randomised adjuvant trial of TAM and goserelin versus cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil: evidence for the superiority of treatment with endocrine blockade in pre-menopausal patients with hormone responsive breast cancer – Austrian breast and colorectal cancer study group trial 5. *J Clin Oncol*;20:4621–4627

References

- Jan G. M. Klijn, Louk V. A. M. Beex, Louis Mauriac, Jacobus A. van Zijl, Corinne Veyret, Johan Wildiers, Jacek Jassem, Martine Piccart, Jos Burghouts, Dominique Becquart, Carolien Seynaeve, Franc,oise Mignolet, Luc Duchateau (2000).** Combined Treatment With Buserelin and Tamoxifen in Premenopausal Metastatic Breast Cancer: a Randomized Study. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 92, No. 11. 92:903-911.
- Jemal , A . ; center , MM . ; Desantis , C . ; and Ward ,EM..(2010) .** Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epiidiomol Biomarkers Prev.*,19 (8): 1893-1907 .
- Jemal A, Siegel R, Ward E. (2008).** Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.*;58:71-96.
- Jemal, A.(2011)** Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61, 69-90 .
- Jennifer Gjerde, Jurgen Geisler , Steinar Lundgren, Dagfinn Ekse, Jan Erik Varhaug, Gunnar Mellgren, Vidar M Steen, and Ernst A Lien (2010) .** associations between tamoxifen, estrogens, and FSH serum levels during steady state tamoxifen treatment of postmenopausal women with breast cancer . *BMC Cancer*, 10:313.
- Jin Y, Desta Z, Stearns V,Ward B, Ho H, Lee KH, Skaar T, Storniolo AM, Li L, Araba A, Blanchard R, Nguyen A, Ullmer L, Hayden J, Lemler S,Weinshilboum RM, Rae JM, Hayes DF, Flockhart DA.(2005).** CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *J Natl Cancer Inst*; 97: 30–39.

References

- Ji-Young Park*, Yu-Jung Cha and Kyoung-Ah Kim (2014).** *CYP3A5*3* Polymorphism and Its Clinical Implications and Pharmacokinetic Role. *Translational and Clinical Pharmacology* ;22(1):03-07 .
- Joanne S. L. Lim, Xiang A. Chen, Onkar Singh, Yoon S. Yap, Raymond C. H. Ng, Nan S. Wong, Mabel Wong, Edmund J. D. Lee & Balram Chowbay(2010).** Impact of *CYP2D6*, *CYP3A5*, *CYP2C9* and *CYP2C19* polymorphisms on tamoxifen pharmacokinetics in Asian breast cancer patients. *Br J Clin Pharmacol* / 71:5 / 737–750 .
- Johnson MD, Zuo H, Lee KH . (2004).** Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat*; 85(2):151-159.
- Jonat W, Kaufmann M, Blamey RW . (1995) .** A randomized study to compare the effect of the luteinising hormone releasing hormone (LHRH) analogue goserelin with or without tamoxifen in pre- and perimenopausal patients with advanced breast cancer. *Eur J Cancer*;31A:137-142.
- Jones,R.E.; Lopez,K.H.(2006) .** *Human Reproductive Biology*".Elsever Inc.pp56-57.
- Jordan, V. C., Fritz, N. F., and Tormey, D. C. (1987) .** Endocrine effects of adjuvant chemotherapy and long-term tamoxifen administration on node positive patients with breast cancer. *Cancer Res.*, 47: 624-630.
- Joseph P. Costantino, Lewis H. Kuller, Diane G. Ives, Bernard Fisher, James Dignam(1997).** Coronary Heart Disease Mortality and Adjuvant Tamoxifen Therapy. *J Natl Cancer Inst*;89:776-82

References

- Kaku T, Ogura K, Nishiyama T, Ohnuma T, Muro K, Hiratsuka A.(2004).** Quaternary ammonium-linked glucuronidation of tamoxifen by human liver microsomes and UDP-glucuronosyltransferase 1A4. *Biochem Pharmacol*;67:2093–102.
- Kasahara T, Hashiba M, Harada T and Degawa M (2002):** Change in gene expression of hepatic tamoxifen metabolizing enzymes during the process of tamoxifen induced hepatocarcinogenesis in female rats. *Carcinogenesis*, 23 (3): 491-498.
- Katherine M. Hyland, (2006) :**Tumor Suppressor Genes and Oncogenes: Genes that Prevent and Cause Cancer (Biochemistry/Molecular Biology Lecture) : pp (71 – 86)
- Kedderis GL (1996).** Biochemical basis of hepatocellular injury. *Toxicol Pathol* 24: 77-83.
- Kerlikowske,K.; Shepherd,J.; Creasman,J.; Tice,J.A.; Ziv,E.and Cummings,S.R.(2005).** Are breast density and bone mineral density independent risk factors for breast cancer? *J. Natl Cancer Inst.*97:368-74.
- Keshava,C. (2004) .** CYP3A4 polymorphisms—potential risk factors for breast and prostate cancer: a HuGE review. *Am. J. Epidemiol.*, 160, 825–841.
- Kinne,D.W.(1991).** Staging and follow-up of breast cancer patients. *Can.*;67:1196-1198.
- Kocabas , N. (2002) .**Genetic polymorphisms in steroid hormone metabolizing enzymes in human breast cancer . *Turk J . Med Sci* 32:217-271 .
- Koh KK, Mincemoyer R, Bui MN, et al (1997).** Effects of hormone-replacement therapy on fibrinolysis in postmenopausal women. *N Engl J Med*;336:683-90.

References

- Koren G, Cairns J, Chitayat D, Gaedigk A, Leeder SJ. (2006).** Pharmacogenetics of morphine poisoning in a breastfed neonate of a codeine-prescribed mother. *Lancet*;368:704.
- Kostoglou-Athanassiou,I.; Ntalles,K.I; Gogas,J.; Markopoulos,C.; Alevizou-Terzaki,V.; Athanassiou,P. (1997).** Sex hormones in postmenopausal women with breast cancer on tamoxifen. *Horm. Res.* 47(3):116–20.
- Krag DN, Anderson SJ, Julian TB. (2010) .** Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *The lancet oncology*; 11(10): 927-33.
- Kroman N, Mouridsen HT. (2003) .** Prognostic influence of pregnancy before, around, and after diagnosis of breast cancer. *Breast.* 2003;12(6):516–21.
- Kroman N, Wohlfahrt J, Andersen KW, Mouridsen HT, Westergaard T, Melbye M. (1998) .** Parity, age at first childbirth and the prognosis of primary breast cancer. *Br J Cancer.*;78(11):1529–33.
- Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Brockmoller J, Hustert E.(2001).** Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.*;27:383-91. <http://dx.doi.org/10.1038/86882>
- Kumar V, Abbas AK, Mitchell R, Fausto N. (2008).** Robbins Basic Pathology. 8 ed. Philadelphia, Pa.: Elsevier Health Sciences.
- Lawrence E. (1989)** Hendersons Dictionary of Biological terms (10thedn). Longman scientific and Technical , Essex.

References

- Lawrence TS, Rosenberg SA, (2011).** eds. *DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins;1401–1456.
- Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA.(2002).** Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics*;12:251– 63.
- Lee EJ, Jeyaseelan K. (1994) .** Frequency of human CYP2D6 mutant alleles in a normal Chinese population. *Br J Clin Pharmacol*;37: 605–7.
- Lee SJ, Goldstein JA. (2005).** Functionally defective or altered CYP3A4 and CYP3A5 single nucleotide polymorphisms and their detection with genotyping tests. *Pharmacogenomics*. ;6:357-71.
<http://dx.doi.org/10.1517/14622416.6.4.357>
- Lee WM (1995).** Medical progress: Drug-induced hepatotoxicity. *N Engl J Med* 333: 1118-1127.
- Lester,S.C.(2004).** The Breast. In: Kumar V, Abbas A, Fausto N, editors. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases, 7th ed.* Philadelphia: Saunders Publishing; p. 1133-5.
- Levkovich. N.N. , N.G. Gorovenko, D.V. Myasoedov (2001).**association of polymorphic G1934A variant (Allele *4) of CYP2D6 gene with increased risk of breast cancer development Ukrainian women . *Exp Oncol* :33, 3, 136–139
- Liao,D.J. and Dickson,R.B.(2002).** Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 80:175–189.
- Lillie EO, Bernstein L, Ursin G (2003) :** The role of androgens and polymorphisms in the androgen receptor in the epidemiology of breast cancer. *Breast Cancer Res*, 5(3):164-173

References

- Lim HS, Ju LH, Seok LK, Sook LE, Jang IJ, Ro J. (2007).** Clinical implications of CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*;25: 3837–45.
- Lim JSL, Chen XA, Singh O. (2011).** Impact of CYP2D6, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms on tamoxifen pharmacokinetics in Asian breast cancer patients. *Br J Clin Pharmacol*.;71(5):737–750.
- Lim YC, Desta Z, Flockhart DA . (2005).** Endoxifen (4-hydroxy-N-desmethyl-tamoxifen) has anti-estrogenic effects in breast cancer cells with potency similar to 4-hydroxy-tamoxifen. *Cancer Chemother Pharmacol*; 55(5):471-8.
- Lim YC, Li L, Desta Z et al (2006).** Endoxifen, a secondary metabolite of tamoxifen, and 4-OH-tamoxifen induce similar changes in global gene expression patterns in MCF-7 breast cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther*; 318(2):503-12.
- Ling Ji, Shixiu Pan, Jacqueline Marti-Jaun, Edgar Hañseler, Katharina Rentsch, and Martin Hersberger(2002).** Single-Step Assays to Analyze *CYP2D6* Gene Polymorphisms in Asians: Allele Frequencies and a Novel *14B Allele in Mainland .*Chinese Clinical Chemistry* 48:7 ;983–988.
- Liu X, Pisha E, Tonetti DA, Yao D, Li Y, Yao J.(2003).** Antiestrogenic and DNA damaging effects induced by tamoxifen and toremifene metabolites. *Chem Res Toxicol*;16:832–7.
- Lodha,R.;Joshi,A.;Paul,D.;Lodha,K.M.;Nahar,N.;Shrivastava,A.;Bhagat,V.K. and Nandeshwar,S.(2011).** Association between reproductive factors and breast cancer in an urban set up at

References

central India : A case control study .*Indian J. of cancer* vol.48(3):303-307.

Lonning PE, Taylor PD, Anker G. (2001). High-dose estrogen treatment in postmenopausal breast cancer patients heavily exposed to endocrine therapy. *Breast Cancer Res Treat*; 67(2): 111-6.

Lotfi , M.H. ; Charkhatti , S. and Shobairi , S. (2008) . Breast cancer risk factors in anurban area of Yazd City – Iran , 2006 .*Ata medea Iranica* ; 46 : 258 – 264 .

Lovlie R, Daly AK, Matre GE, Molven A, Steen VM. (2001). Polymorphisms in CYP2D6 duplicationnegative individuals with the ultrarapid metabolizer phenotype: a role for the CYP2D6*35 allele in ultrarapid metabolism? *Pharmacogenetics*;11:45–55.

MacIndoe JH, Etre LA. (1981) . An antiestrogenic action of androgens in human breast cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab.*;53:836-42.

Macmillan (2012) . fact sheet: Breast cancer Macmillan Cancer Support

Madhavi D. Kulkarni, K.F. Kammar (2014). Lipid Profile in Postmenopausal women of Hubli city. *J Pub Health Med Res*;2(1):25-28.

Madhoor,B.M.(2002).Immunological Study on Patients with Breast Cancer. Msc. thesis College of medicine .University Al-Mustansiriyah .

Madhu S. Singh a, Prudence A. Francis b, Michael Michael b (2011). Tamoxifen, cytochrome P450 genes and breast cancer clinical outcomes. a Andrew Love Cancer Centre, Geelong, VIC 3220, Australia b Peter MacCallum Cancer Centre, Locked Bag 1, A'Beckett St, Melbourne, VIC 8006, Australia. *The Breast* 20 ; 111-118

References

- Malcolm R Alison (2001) .** Cancer Introductory article encyclopedia of life sciences nature Publishing Group / www.els.net
- Mamounas EP, Jeong JH, Wickerham DL. (2008) .** Benefit from exemestane as extended adjuvant therapy after 5 years of adjuvant tamoxifen: intention-to-treat analysis of the National Surgical Adjuvant Breast And Bowel Project B-33 trial. *J Clin Oncol*; 26(12): 1965-71.
- Mandana Ebrahimi, Mariam Vahdaninia and Ali Montazeri (2002).** Risk factors for breast cancer in Iran: a case–control study. *Breast Cancer Res*, 4:R10
- Manjer J, Johansson R, Berglund G, Janzon L, Kaaks R, Agren A (2003).** Postmenopausal breast cancer risk in relation to sex steroid hormones, prolactin and SHBG (Sweden). *Cancer Causes Control*.;14(7):599– 607.
- Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ. (1997) .** Polymorphism of the cytochrome P450 CYP2D6 gene in a European population: characterization of 48 mutations and 53 alleles, their frequencies and evolution. *Pharmacogenetics*;7:193– 202.
- Marian Y. Williams-Browna, Sana M. Salihb, Xia Xuc, Timothy D. Veenstrac, Muhammad Saeedd, Shaleen K. Theilera,e, Concepcion R. Diaz-Arrastiaa,e, and Salama A. Salamaa (2011).** The effect of tamoxifen and raloxifene on estrogen metabolism and endometrial cancer risk .*Steroid Biochem Mol Biol*. September ; 126(3-5): 78–86.
- Maruyama S, Hirayama C, Abe J . (1995) .** Chronic active hepatitis and liver cirrhosis in association with combined tamoxifen/ tegafur adjuvant therapy. *Dig Dis Sci*; 40: 2602-7.

References

- Mary S. Beattie , Joseph P. Costantino , Steven R. Cummings , D. Lawrence Wickerham , Victor G. Vogel , Mitch Dowsett , Elizabeth J. Folkerd , Walter C. Willett , Norman Wolmark , Susan E. Hankinson (1991).** Endogenous Sex Hormones, Breast Cancer Risk, and Tamoxifen Response: An Ancillary Study in the NSABP Breast Cancer Prevention Trial (P-1). *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 98, No. 2.
- McDonnell DP, Norris JD.(2002).** Connections and regulation of the human estrogen receptor. *Science*; 296(5573): 1642-4.
- McPherson K, Steel CM, Dixon JM. (2000).** ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ*.;321(7261):624–8.
- Mehta,P.H.; Jones,A.C.; and Josephs,R.A.(2008).** The social endocrinology of dominance: Basal testosterone predicts cortisol changes and behavior following victory and defeat. *J. of Personality and Social Psychology*, 94,1078–1093.
- Mendelsohn et al (2008).** *The Molecular Basis of Cancer*, 3rd Edition, Elsevier/Saunders.
- Michael B and Harvey S (2002) .** *Fast Facts – Breast Cancer: Health Press Limited, Oxford.*
- Micheli,A.; Muti,P.; Secreto,G.(2004).** Endogenous sex hormones and subsequent breast cancer in premenopausalwomen. *Int. J. Cancer* ;112:312–8.
- Miller W IJ.(2002).** *Endocrine Therapy in Breast Cancer*. New York: Marcel Dekker;.international standard book number 13: 978-0-8247-0787-3(hardback)
- Missmer SA, Eliassen H, Barbier RL, Hankinson SE. (2004).** Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations

References

- and breast cancer risk among postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst* ; 96 : 1856 – 65.
- Miyai K, Meeks RG, Harrison SD, Bull RJ (1991)** Structural organization of the liver. In: *Hepatotoxicology*. CRC Press, Boca Raton, FL. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98:1117–28.
- Moulin D.(1983)**. A short history of breast cancer. Boston: Martinus Nijhoff Publishers;. Springer Netherlands, Copyright Holder Springer Science+Business Media B.V.
- Mugundu GM, Sallans L, Guo Y, Shaughnessy EA, Desai PB. (2012)**. Assessment of the impact of CYP3A polymorphisms on the formation of α -hydroxytamoxifen and N-desmethyltamoxifen in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos.*;40(2):389–396.
- Musgrove EA, Sutherland RL.(2009)**. Biological determinants of endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Cancer*; 9(9): 631-43.
- Nabulsi AA, Folsom AR, White A. (1993)**. Association of hormone replacement therapy with various cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *N Engl J Med*;328:1069-75.
- National Comprehensive Cancer Network (NCCN) (2012)** . Clinical Practice Guidelines in Oncology™: Breast Cancer V.1. Available at www.nccn.org Last accessed March 2012.
- The National Human Genome Research Institute. (2010)**.All about the human genome project. Available from: <http://www.genome.gov/10001772>.
- Nilsson S, Koehler KF. (2005)**. Oestrogen receptors and selective oestrogen receptor modulators: molecular and cellular pharmacology. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 96(1): 15-25.

References

- Norsa'adah ,B. , B N Rusli, A K Imran, I Naing, T Winn (2005).** Risk factors of breast cancer in women in Kelantan, Malaysia, *Singapore Med J* 2005; 46(12):698-705
- Notley LM, Crewe KH, Taylor PJ . (2005).** Characterization of the human cytochrome P450 forms involved in metabolism of tamoxifen to its alpha-hydroxy and alpha,4-dihydroxy derivatives. *Chem Res Toxicol*, 18: 1611–1618.
- Nystedt M, Berglund G, Bolund C . (2000) .** Randomized trial of adjuvant tamoxifen and/or goserelin in premenopausal breast cancer- self-rated physiological effects and symptoms. *Acta ncol* 39:959-968.
- Oats J, Abraham S.(2005) .** Liewellyn-jones Fundamentals of obstretics and gynaecology 8ed: London. Elsevier Limited
- Ogura K, Ishikawa Y, Kaku T, Nishiyama T, Ohnuma T, Muro K, Hiratsuka A. (2006) .**Quaternary ammonium-linked glucuronidation of trans-4- hydroxytamoxifen, an active metabolite of tamoxifen, by human liver microsomes and UDPglucuronosyltransferase 1A4. *Biochem Pharmacol*;71:1358–69
- Okishiro M, Taguchi T, Jin Kim S. (2009).** Genetic polymorphisms of CYP2D6 10 and CYP2C19 2, 3 are not associated with rognosis, endometrial thickness, or bone mineral density in Japanese breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen. *Cancer*, 115(5):952-61.
- Okobia,M.; Bunker,C.; Zmuda,J.; Kammerer,C.; Vogel,V.; Uche,E. (2006).** Case-control study of risk factors for breast cancer in Nigerian women. *Int. J. Cancer* ;119:2179-85.

References

- Oliver M.F & Boyd G.S. (1961).** Influence of sex hormones on the circulating lipids and lipoprotein in coronary sclerosis. *Circulation*; 13, 82-85
- Omura T, Sato R. (1962).** A new cytochrome in liver microsomes. *J Biol Chem*; 237: 1375-6.
- Osborne CK, Schiff R. (2011).** Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annual review of medicine*; 62: 233-47.
- Page,J.H.; Colditz,G.A.; Rifai,N.; Barbieri,R.L.; Willett,W.C.; and Hankinson,S.E.(2004).** Plasma adrenal androgens and risk of breast cancer in premenopausal women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 13:1032-1036.
- Panno,J.(2005).** Textbook of Cancer: the role of genes, lifestyle and environment . Joseph Panno, pp 1.
- Paris PL, Kupelian PA, Hall JM. (1999).** Association between a CYP3A4 genetic variant and clinical presentation in African-American prostate cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*;8:901–5.
- Park,K.(2000).** Textbook of Preventive and Social Medicine (16thEdition). Banarsidas Bhanot, Jabalpur, p283.
- Parsa P, Parsa B. (2009) .** Effects of reproductive factors on risk of breast cancer: a literature review. *Asian Pac J Cancer Prev.*;10(4):545–50
- Patel,M.M.;and Bhat,H.K.(2004).** Differential oxidant potential of carcinogenic and weakly carcinogenic estrogens: Involvement of metabolic activation and cytochrome P450. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* ;18:37–42.
- Per-Ebbe J. (2009) .** Breast cancer: AstraZeneca.

References

- Perks,C.M.; Keith,A.J.; Goodhew,K.L.; (2004).** Prolactin acts as a potent survival factor for human breast cancer cell lines. *Br. J. Cancer* 91:305-311.
- Peters T. (1996).** All About Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. San Diego, CA: Academic Press, ISBN: 978-0-12-552110-9
- Phipps AI, Malone KE, Porter PL, Daling JR, Li CI.(2008).** Reproductive and hormonal risk factors for postmenopausal luminal, HER- 2-overexpressing, and triple-negative breast cancer. *Cancer*.;113(7):1521–6.
- Pike,M.C.;Spicer,D.V.;Dahmouh,L.; and Press,M.F.(1993).** Estrogens, progesteron,normal breast cell proliferation and breast cancer risk *.Epidemiol.Rev.*15:17-35.
- Plummer SJ, Conti DV, Paris PL, Curran AP, Casey G, Witte JS. (2003).** CYP3A4 and CYP3A5 genotypes, haplotypes, and risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*;12:928-932.
- Prince RL, Dick I, Devine A, Price RI, Gutteridge DH, Kerr D . (1995)** . The effects of menopause and age on calcitropic hormones: A cross-sectional study of 655 healthy women aged 35–90. *J Bone Miner Res*; 10: 835–42.
- Pritchard KI. (2000)** .Current and future directions in medical therapy for breast carcinoma: endocrine treatment. *Cancer*;88:3065-3072.
- Raimundo S, Toscano C, Klein K, Fischer J, Griese EU, Eichelbaum M. (2004)** . A novel intronic mutation, 2988G_A, with high predictivity for impaired function of cytochrome P450 2D6 in white subjects. *Clin Pharmacol Ther*;76: 128–38.

References

- Regan MM, Neven P, Giobbie-Hurder A. (2011) .** Assessment of letrozole and tamoxifen alone and in sequence for postmenopausal women with steroid hormone receptor-positive breast cancer: the BIG 1-98 randomised clinical trial at 8.1 years median follow-up. *The lancet oncology*; 12(12): 1101-8.
- Richard B. Colletti, John D. Roberts, John T. Devlin. (1989).** Effect of Tamoxifen on Plasma Insulin-like Growth Factor I in Patients with Breast Cancer. *Cancer Res*;49:1882-1884.
- Richie, R.C. & Swanson, J.O. (2003).** Breast cancer: a review of the literature. *J Insur Med* 35, 85-101.
- Ring A, Dowsett M.(2004).** Mechanisms of tamoxifen resistance. *Endocrine-related cancer*; 11(4): 643-58.
- Robertson JF, Blamey RW. (2003) .** The use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) agonists in early and advanced breast cancer in pre- and perimenopausal women. *Eur J Cancer* 39:861-869.
- Rodriguez-Antona C, Ingelman-Sundberg M.(2006).** Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene*;25:1679-91.
- McKinnon , Ross A , Michael J Sorich, Michael B Ward (2008).** Cytochrome P450 Part 1: Multiplicity and Function *Journal of Pharmacy Practice and Research* Volume 38, No. 1.
- Rosner B, Colditz GA, Willett WC (1994) .** Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: the Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol*, 139: 819-835.
- Rotger M, Colombo S, Furrer H, Bleiber G, Buclin T, Lee BL. (2005) .** Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* ;15:1e5.

References

- Rubin E. (2008).** Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine 5ed: Lipincott Williams and Wilkins.
- Runnak , A.; Majid,H.A.;Mohammed,H.M.;Saeed,B.M.; Safar, R.M.R.and Michael , D.H. (2009) .** Breast cancer in Kurdish women of northern Iraq : incidence , clinical stage and case control analysis of parity and family risk.Division of oncology , Hewa Hematology and oncology Hospital , Sulaimaniyah , Iraq , *BMC Women Health* .
- Russo J, Moral R, Balogh GA, Mailo D, Russo IH. (2005) .** The protective role of pregnancy in breast cancer. *Breast Cancer Res.*;7(3):131–42.
- Russo J, Russo IH.(2004).** Development of the human breast. *Maturitas.*;49(1):2–15.
- Russo,J.;and Russo,I.J.(2006).** The role of estrogen in the initiation of breast cancer *.J.Steroid Biochem.Mol. Biol.*102(1-5):89-96.
- Ryden L, Landberg G, Stal O, Nordenskjold B, Ferno M, Bendahl PO.(2008).** HER2 status in hormone receptor positive premenopausal primary breast cancer adds prognostic, but not tamoxifen treatment predictive, information. *Breast Cancer Res Treat*; 109(2): 351-7.
- Salma Butt M.D.(2011).**Reproductive Factors and Breast Cancer *Parity, Breastfeeding and Genetic Predisposition in Relation to Risk and Prognosis*, PhD thesis Department of Clinical Sciences, Surgery, Malmö Skåne University Hospital, Lund University.
- Salomaa V, Rasi V, Pekkanen J. (1995).** Association of hormone replacement therapy with hemostatic and other cardiovascular

References

risk factors: the FINRISK Hemostasis Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*;15: 1549-55.

Sambrook J., Fritsch E. and Maniatis T. (1989). Molecular cloning and laboratory manual 2nd edition . Cold spring Harbour laboratories , New York .

Santen RJ, Leszczynski D, Tilson-Mallet N, Feil PD, Wright C, Manni A. (1986). Enzymatic control of estrogen production in human breast cancer: relative significance of aromatase versus sulfatase pathways. *Ann N Y Acad Sci*;464: 126-37.

Sara Alkner, MD (2012). Predicting Prognosis and Tamoxifen Response in Breast Cancer *With a special focus on contralateral breast cancer* . PhD thesis , Department of Oncology, Clinical Sciences, Faculty of Medicine, Lund University, Sweden.

Sara Ellen Walker and Giles G. Bole, Jr (1972). Distinctive Serum Globulin Responses to Parenteral Treatment with 17-p-Estradiol in Female NZB/NZW Mice Arthritis and Rheumatism, Vol. 15, No. 1 .

Sata F, Sapone A, Elizondo G. (2000) . CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther*;67:48–56.

Schnitt, S.J. (2010). Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. *Mod Pathol* 23 Suppl 2, S60-64

Schover ,L.R.(2008) .Androgen therapy for loss of desire in women: is the benefit worth the breast cancer risk? *Fertil. Steril.* 90: 129-140.

References

- Schroth W, Hamann U, Fasching PA. (2010)** . CYP2D6 polymorphisms as predictors of outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen: expanded polymorphism coverage improves risk stratification. *Clin Cancer Res.*;16(17):4468–4477.
- Schulz,W.A.(2005)**. Molecular biology of human cancers .Springe Scienc Business Media,Inc.pp 1
- Shanafelt TD, Barton DL, Adjei AA . (2002)**. Pathophysiology and treatment of hot flashes. *Mayo Clin Proc* 77:1207-1218.
- Sharma R, Hamilton A, Beith J (2003)**. Use of luteinizing hormone – releasing hormone agonists for adjuvant treatment of early breast. National Breast Cancer Centre ,*Review*.
- Sherman BM, Chapler FK, Crickard K, Wycoff D. (1979)**. Endocrine consequences of continuous antiestrogen therapy with tamoxifen in premenopausal women. *J Clin Invest*;64:398–404.
- Sherwin,B.B.(1998)**. Use of combined estrogen-androgen preparations in the postmenopause :evidence from clinical studies . *Int. J. Fertil. Women Med.* ;43:98-03.
- Shimada , K .; Someya , T.; Yokono , A.; Morita , S.; Hirokane , G.; Takahashi , S. and Okawa M (2004)** " Impact of CYP2C19 and CYP2D6 genotypes on metabolism of amitriptyline in japans psychiatric patients " . *J Clin psychopharmacol* 22 ; 371 – 378 .
- Silfen SL, Ciaccia AV, Bryant HU.(1999)**. Selective estrogen receptor modulators: tissue selectivity and differential uterine effects. *Climacteric*, 2 (4) : 268 - 83.
- Simpson,E.; Rubin,G.; Clyne,C.; Robertson,K.; O'Donnell,L.; Jones,M.(2000)**. The role of local estrogen biosynthesis in males and females. *Trends Endocrinol Metab.* ;11(5):184–8.

References

- Sinues B, Vicente J, Fanlo A, Vasquez P, Medina JC, Mayayo E, (2007).**CYP3A5*3 and CYP3A4*1B allele distribution and genotype combinations: differences between Spaniards and Central Americans. *Ther Drug Monit*;29:412-416.
- Sistonen J, Sajantila A, Lao O, Corander J, Barbujani G, Fuselli S. (2007).** CYP2D6 worldwide genetic variation shows high frequency of altered activity variants and no continental structure. *Pharmacogenet Genomics*;17:93–101.
- Siteri P.K, Murain J.T, Hammon G.L, Nisker J.A, Raymoure E.J and Kuhn R.W. (1988).** The serum transport of steroid hormones. *Rec. Prog Horm. Res.*; 38: 457 – 460.
- Staels B, Auwer J, Chan L, Van Tol A, Rossner M, Verhoeven G.(1989).** Influence of development, estrogens, and food intake on apolipoprotein A-I, A-111, and E mRNA in rat liver and intestine. *Lipid Res*; 30:1137-47.
- Stearns V, Johnson MD, Rae JM . (2003) .** Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J Natl Cancer Inst*; 95(23):1758-1764.
- Stendahl M, Ryden L, Nordenskjold B, Jonsson PE, Landberg G, Jirstrom K. (2006).** High progesterone receptor expression correlates to the effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer patients. *Clin Cancer Res*; 12(15): 4614-8.
- Steven Martin ,G. (2003) .** Cell signaling and cancer cancer cell journal · vol. 4 ·
- Stogniew M, Fenselau C (1982).** Electrophilic reactions of acyl linked glucuronides: Formation of clofibrate mercapturate in humans. *Drug Metab Dispos* 10: 609-613.

References

- Strauss JFI, Lessey BA (2004)** .The structure, function, and evaluation of the female reproductive tract. In: Strauss JFI, Barbieri RL (eds.). Yen and Jaffe's Reproductive Endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management. (5th edn). Philadelphia
- Sun D, Chen G, Dellinger RW, Duncan K, Fang JL, Lazarus P. (2006)** . Characterization of tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen glucuronidation by human UGT1A4 variants. *Breast Cancer Res*;8: R50.
- Swarnalatha P K and Ebrahim NKC (2012)**. A Correlation study of estrogen and lipid profile in premenopausal and post menopausal women .*International Journal of Biomedical and Advance Research IJBAR* (2012) 03(11) 818 – 822.
- Swedish Breast Cancer Group (2011)** . Nationella riktlinjer för behandling av bröstcancer (www.swebcg.se).
- Takeshi Tominaga, Izo Kimijima, Morihiko Kimura, Yuichi Takatsuka, Shigemitsu Takashima, Yasuo Nomura, Fujio Kasumi, Akihiro Yamaguchi, Norikazu Masuda, Shinzaburo Noguchi and Nobuoki Eshima (2010)** . Effects of toremifene and tamoxifen on lipid profiles in post-menopausal patients with early breast cancer: interim results from a Japanese phase III trial. *Jpn J Clin Oncol*;40(7)627–33
- Tatiana M. Prowell and Nancy E. Davidson (2004)**. What Is the Role of Ovarian Ablation in the Management of Primary and Metastatic Breast Cancer Today?.*The Oncologist* 2004, 9:507-517.
- Thomas,H.V.; Key,T.J.; Allen,D.S.; Moore,J.W.; Dowsett,M.; Fentiman,I.S.(1997)**. A prospective study of endogenous serum

References

- hormone concentrations and breast cancer risk in premenopausal women on the island of Guernsey. *Br. J. Cancer* 75(7):1075–9.
- Tivis,L.J.; Richardson,M.D. (2005).** "Saliva versus serum estradiol: implications for research studies using postmenopausal women." *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry* 29(5): 727-32.
- Tostmann A, Boeree MJ, Aarnoutse RE, de Lange WCM, van der Ven AJ. (2008).** Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *J Gastroenterol Hepatol* 23: 192-202.
- Traish,A.M.; Feeley,R.J.;and Guay,A.T.(2009).** Testosterone therapy in womenwith gynecological and sexual disorders: a triumph of clinical endocrinology from 1938 to 2008. *J. Sex. Med.* 6: 334–51.
- Tryggvadottir,L.;Tulinius,H.;Eyfjord,J.E.; and Sigurvnsón,T.(2001).** Breastfeeding and reducedrisk of breast cancer in an Icelandic cohort study. *Amer. J. of Epid.* 154:37- 42.
- Tworoger SS, Hankinson SE. (2006).** Prolactin and breast cancer risk. *Cancer Lett.*;243(2):160–9.
- Tworoger,S.S.; Eliassen,A.H.; Sluss,P. and Hankinson,S.E. (2007).** A prospective study of plasma prolactin concentrations and risk of premenopausal and postmenopausal breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 25:1482–1488.
- Tworoger,S.S.; Missmer,S.A.; Eliassen,A.H.; Spiegelman,D.; Folkert, E. (2006).** The association of plasma DHEA and DHEA sulfate with breast cancer risk in predominantly premenopausal women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15:967-971.
- Tworoger,S.S.and Hankinson,S.E.(2008).** Prolactin and breast cancer etiology: an epidemiologic perspective. *J. of Mam. Gla. Bio. and Neo.* 13 41–53

References

- Ursin G, Bernstein L, Lord SJ, Karim R, Deapen D, Press MF.(2005).** Reproductive factors and subtypes of breast cancer defined by hormone receptor and histology. *Br J Cancer.*;93(3):364–71
- Visvanathan, K. (2011).** The challenges of treating lobular carcinoma in situ. *Oncology (Williston Park)* 25, 1058, 1061, 1066.
- Voogt JL, Chen CL & Meites J (1970).** Serum and pituitary prolactin levels before, during and after puberty in female rats. *American Journal of Physiology*, 218:396-399.
- Waheda, N. Elia.(1998).**A study of certain immunological parameters in women afflicted with breast cancer in Iraq. Ph D , College of Science. University of Baghdad.
- Walker AH, Jaffe JM, Gunasegaram S. (1998) .** Characterization of an allelic variant in the nifedipine-specific element of CYP3A4: ethnic distribution and implications for prostate cancer risk. *Mutations in brief no. 191. Online. Hum Mutat*;12:289.
- Wandel C, Witte J, Hall J, Stein C, Wood A, Wilkinson G.(2000).** CYP3A4 activity in African American and European American men: population differences in hepatic expression of CYP3A4, relationship to genetic polymorphism in the 5'- 577 upstream regulatory region. *Clin Pharmacol Ther.*; 68:82-91
- Wang SL, Lai MD, Huang JD.(1999).** G169R mutation diminishes the metabolic activity of CYP2D6 in Chinese. *Drug Metab Dispos*;27:385–8.
- Westlind-Johnsson A, Hermann R, Huennemeyer A, Hauns B, Lahu G, Nassr N. (2006).** Identification and characterization of CYP3A4*20, a novel rare CYP3A4 allele without functional activity. *Clin Pharmacol Ther*;79:339–49.

References

- William Chu, Anthony Fyles, Edward M.Sellers, David R.McCready, Joan Murphy, Tuya Pal and Steven A.Narod(2007) .** Association between CYP3A4 genotype and risk of endometrial cancer following tamoxifen use. *Carcinogenesis* vol.28 no.10 pp.2139–2142.
- Windler E, Kovanen PT, Chao YS, Brown MS, Iavel RJ, Goldstein JL.(1980).** The estradiol stimulated lipoprotein receptor of rat liver: a binding site that mediates uptake of rat lipoproteins containing apoproteins B and E. *J Biol Chem*; 255:10464-71.
- Wolff AC & Abeloff MD (2002).** Adjuvant chemotherapy for postmenopausal lymph node-negative breast cancer: it ain't necessarily so. *J Natl Cancer Inst*, 94: 1041–1043.
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (WHO) (2003).** World Cancer Report .Retrieved on 2002-3,p.335.
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (WHO) (2011) .** breast cancer prevention and control available from : [http : // www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index.html](http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index.html)
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (WHO) (2012).** *Cancer Fact sheet* <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>
- World Health Organization International Agency for Research on Cancer (WHO) (2014).** Task Force on Oral Contraceptives. A multicentre study of coagulation and haemostatic variables during oral contraception:variations with four formulations. Downloaded from <http://qjmed.oxfordjournals.org/> .

References

- Xu Y, Sun Y, Yao L. (2008)** . Association between CYP2D6 *10 genotype and survival of breast cancer patients receiving tamoxifen treatment. *Ann Oncol*;19:1423-9
- Yager,J.D. and Davidson,N.E.(2006)**. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* ;354:270–282.
- Yang L, Jacobsen KH.(2008)**. A systematic review of the association between breastfeeding and breast cancer. *J Womens Health (Larchmt)*.;17(10):1635–45.
- Zanger UM, Fischer J, Raimundo S, Stuvén T, Evert BO, Schwab M, Eichelbaum M.(2001)**. Comprehensive analysis of the genetic factors determining expression and function of hepatic CYP2D6. *Pharmacogenetics*;11:573– 85.
- Zanger UM, Raimundo S, Eichelbaum M.(2004)**. Cytochrome P450 2D6: overview and update on pharmacology, genetics, biochemistry. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*;369:23-37.
- Zanger UM.(2008)**. The CYP2D subfamily. In: Ioannides C, ed. *Cytochromes P450: role in the metabolism and toxicity of drugs and other xenobiotics*. London: Royal Chemical Society;. p 241–75.
- Zhou JL, Lins SQ, Shen Y, Chen Y, Zhang Y, Chen FL.(2010)**. Serum lipid profile changes during the menopausal transition in Chinese women, a community based cohort study. *Menopause Journal*.

Abstract

Breast cancer is frequently a hormonally dependent cancer especially estrogen , therefore, this study was designed For the purpose of studying the role of the drug tamoxifen and its impact on this hormone in addition to studying the genotype of some metabolic genes responsible for a metabolism of tamoxifen in women in Iraq.

This study involved 100 women with breast cancer and undergoing treatment (tamoxifen), and 30 healthy women apparently.

The two groups of women ages ranged from 20-80 years old collected blood samples for the purpose of measuring some internal hormones such as estrogen, testosterone , prolactin hormone, liver enzymes, other blood parameters , and the genotype of *CYP2D6*, *CYP3A4* , *CYP3A5* genes .

The results showed that the highest percentage of breast cancer for women in the age group (41-60) and by 58% in addition to the largest number of women patients and the healthy group begins menstruation to have aged (10-13 years) and 68% of patients and 63.33 % of the healthy . The results showed that 88% of patients are married and the healthy group 53.3% and the 51.13% of the patients had marriageable age category 10-20 years.

The study also found that 32% of the patients group who have the family history of breast cancer, while 68% of those who do not have a family history.

The results of this study showed a significant decrease in estrogen levels after it has been removed the tumor and receiving radiation and analogue LHRH and finally a drug tamoxifen The hormones prolactin and testosterone did not show any significant differences between the

patient group and healthy as well as liver enzymes, albumin , globulin and fibrinogen The total cholesterol and low cholesterol density LDL may have shown significantly higher in the patients group And significant decrease in high-density cholesterol HDL..

Study the genotype of the gene *CYP2D6* * 4 also showed that most of the samples did not digest was due to the lack of the presence of this allele The samples digested was mostly homozygous (qq) increased slightly to 45%, which is accountable for the production of the enzyme metabolic weak effectiveness of Metabolic Drug tamoxifen (OR = 1) it was also noted there was not significant differences between the HEALTHY group and the group of patients the gene *CYP3A4* * 1B digest for most of the samples did not happen either samples digested were mostly homogeneous type heterozygous (pp) wild-type 77.7% OR = 1.43, and the gene *CYP3A5* * 3 digested samples were mostly homogeneous type heterozygous (pp) wild-type (63%), followed by the differential type, with no significant differences between the species.

We conclude from this study that the drug tamoxifen effect lowering of estrogen, which is the main cause of breast cancer in the cases studied in addition to not digest most of the samples of the gene *CYP2D6* and that due to the possibility of lack of allele * 4, or a failure occurs in cutting and women who carry the genotype mutant (qq) that responsible for the production of an enzyme effectiveness is weak and therefore metabolize poor property shall have to change and to find more effective drug.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research Karbala
University- College of education FOR PURE SCIENCE
Department of Biology



**Physiological and molecular study of some metabolic
gene of breast cancer women Subjected to treatment
with tamoxifen**

A THESIS SUBMITTED

TO THE COUNCIL OF THE EDUCATION COLLEGE for PURE SCIENCE
UNIVERSITY OF KARBALA IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF DOCTOR of PHILOSOPHY SCIENCE IN

BIOLOGY

BY

Enas abdukkareem jabbar

Supervised

BY

Prof. Dr. saad hamaad

Ass. Prof. Dr salwa jabber