

دراسة النمط الوراثي للجين *CYP2D6* للنساء المصابات بسرطان الثدي اللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين

أ.م. سلوى جابر عبد الله

م.م. إيناس عبد الكريم جبار

جامعة النهريين/مركز DNA

جامعة ذي قار/كلية العلوم

م.م. ضحى سالم نعمة

أ. سعد حمد عبد اللطيف

جامعة النهريين/مركز DNA

جامعة كربلاء/كلية التربية للعلوم الصرفة

الخلاصة :

يلعب التاموكسيفين Tamoxifen دوراً رئيسياً في علاج سرطان الثدي المعتمد على الهرمونات والذي يكون موجبا لمستقبلات الاستروجين ويعتبر علاج اولي الذي يؤيض الى الشكل الفعال الاندوكسيفين بواسطة cytochrome P450 انزيمات (CYP) والتي تتضمن *CYP2D6*, *CYP3A*, *CYP2B6* و *CYP2C19* وان الجينات المسؤلة عن هذه الانزيمات تكون متعددة الاشكال الوراثية والتي تنتج فعاليات انزيمية اىضية متنوعة.

تضمنت هذه الدراسة ١٠٠ امرأة مصابة بسرطان الثدي ويخضعن للعلاج (التاموكسيفين) ، و ٣٠ امرأة سليمة ظاهرياً.

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 طفيفة 45% والذي يكون مسؤولاً عن إنتاج الإنزيم الأيضي ضعيف الفعالية في ايض عقار التاموكسيفين (OR = ١) كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة السيطرة ومجموعة المرضى.

الكلمات المفتاحية / تاموكسيفين ، سرطان الثدي ، التعدد المظهري الوراثي للمورث *CYP2D6*

Study the genotype of the gene *CYP2D6* for women with breast cancer who were taking tamoxifen drug

¹Enas Abdul Kareem Jabbar

²Salwa Jabber Abdulla

¹Thi-Qar university/science college

²AL-Nahrain university/ Forensic DNA for research and training center

³Saad Hamad

⁴Dhuha Salim

³Karbala university/Education college for pure sciences

⁴AL-Nahrain university/ Forensic DNA for research and training center

Abstract :

Tamoxifen has a key role in the management of women with hormone receptor (HR) positive breast cancer. Tamoxifen is a pro-drug that is metabolised to its active metabolites by the cytochrome P450 (CYP) enzymes including *CYP2D6*, *CYP3A*, *CYP2B6*, and *CYP2C19*.

The CYP genes are polymorphic resulting in variable enzyme activity.

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

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 control group and the group of patients.

Key password : tamoxifen , breast cancer , *CYP2D6* * 4 phenotype

المقدمة Introduction:

التاموكسيفين Tamoxifen او (Nolvex) : اكتشف عقار التاموكسيفين أثناء البحث عن وسائل لمنع الحمل سنة ١٩٦٠ وبالرغم من عدم كفاءته لهذا الغرض إلا انه استخدم وبشكل فعال في علاج مرض سرطان الثدي المعتمد على هرمون الاستروجين وقد اعتمد من ذلك الحين في علاج سرطان الثدي

(٢٠٠٢) Miller (2011) Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G .,

ينتمي التاموكسيفين إلى مجموعة مستقبلات الاستروجين الانتقائية المحورة والذي يعتبر من الأدوية التي تحاكي تأثير هرمون الاستروجين في بعض الأنسجة وتعارضه في أخرى وتشمل أدوية مثل raloxifene و toremifene ، عندما يرتبط هرمون الاستروجين بمستقبلات الاستروجين في منطقة AF2 وهي احد مكونات مستقبلات الاستروجين يعمل ذلك على تغير في المستقبلات نفسها إذ إن الحلزون ١٢ hilex وهي تسمية تطلق على احد تراكيب المستقبل يعمل على توجيه نفسه لتكوين غطاء على تجويف الارتباط بين الهرمون والمستقبل ويعتبر الحلزون ١٢ موقعا مهما كذلك لارتباط مساعد التنشيط coactivators وتنشيط عملية النسخ في القمة AF2 وان عقار التاموكسيفين يمنع هذا الحلزون من اتخاذ موقعه اللازم وبدلا من الارتباط مع مساعد التنشيط فأنها تتداخل مع بعضها وتصبح أكثر سهولة للارتباط مع الكابحات Nilsson and (2005) ; Furr (1987) . Koehler

المقاومة لعقار التاموكسيفين Resistance to tamoxifen treatment :

في بعض الحالات على الرغم من العلاج بعقار التاموكسيفين إلا ان المرضى في نهاية المطاف يموتون ويتحول التاموكسيفين من مثبط الى منشط لمستقبلات الاستروجين (Clarke et al. (2003) .

وتقسم المقاومة الى مقاومة ذاتية او مقاومة مكتسبة وان الالية الاساسية للمقاومة الذاتية هو انعدام التعبير عن مستقبلات الاستروجين وقتلتها او حدوث طفرة تؤدي الى انعدامها ، اما الالية الاخرى هي القلة في فعالية انزيم CYP2D6 مما يؤدي الى عدم تحويل عقار التاموكسيفين الى اندوكسيفين الذي يكون اكثر نشاطا وفعالية وتكون بنسبة ٦-١٠ % من النساء الاوربيات (Hoskins et al. (2009) .

ويعتبر التغير في ايض التاموكسيفين او التدفق والخروج للمواد الايضية من والى الخلايا من العوامل المهمة في تغير الايض (Ring And Dowsett. (2004) . وقد اشارت العديد من الدراسات الى استخدام عقار (fulvestrant) الذي يعتبر من مثبطات انزيم الاروماتيز ويكون ذو فائدة في حالة مقاومة عقار التاموكسيفين (Osborne and Schiff. (2011) .

ايض التاموكسيفين The metabolism of tamoxifen :

يخضع التاموكسيفين إلى عمليات الايض الأولى والثاني بشكل واسع وان مستوى المركبات الوسيطة الايضية للتاموكسيفين تختلف بشكل كبير وقد اظهر المركب (4-OH tamoxifen) 4-hydroxytamoxifen ألفة أكثر من بقية

المركبات ب 100 مرة للارتباط بمستقبلات الاستروجين وقد وجد إن المركب الفعال الآخر وهو (الاندوكسيفين) -4 hydroxy-N-desmethyl tamoxifen (endoxifen) له خصائص مماثلة لخصائص (4 OH) أي إن له ألفة عالية للارتباط بمستقبلات الاستروجين إذ يكون هرمون الاستروجين خطرا في حالة الإصابة بسرطان الثدي المعتمد على ارتفاع هرمون الاستروجين ولذلك يكون هذا العقار مناسب تماما لهذه الحالات والاندوكسيفين يكون مستوى تركيزه في الدم اعلى من (4 OH) لذلك هو أفضل منه ويعتبر الشكل الفعال لعقار التاموكسيفين (Lim et al ., 2005 ; Lim et al ., 2006 ;) (Johnson et al ., 2004). إن ايض التاموكسيفين يتم بواسطة عدد من الإنزيمات وأهمها CYP2D6 وان مستوى الاندوكسيفين يكون متباين وبشكل كبير بين مرضى سرطان الثدي (Stearns et al ., 2003).

ألجين CYP2D6 CYTOCHROME P 450

يقع ألجين CYP2D6 على الذراع الطويلة للكروموسوم ٢٢ و ٢٤ ويتكون من عدة أليلات ويختلف تردد هذه الأليلات باختلاف الأعراق إذ تكون CYP2D6*2 ، ٣* ، ٤* ، ٥* ، ٦* ، ١٠* و ٤١* متواجدة أكثر في القوقازيين أما ٢* و ١٧* توجد أكثر في الأفارقة CYP2D6*10 يوجد في الآسيويين (Bradford (2002). وجود هذه الطرز الجينية ٣* ، ٤* ، ٥* ، ٦* تؤدي إلى انعدام وجود الإنزيم النشط وظيفيا أما ٩* ، ١٠* ، ١٧* و ٤١* فينتج انخفاض في فعالية الإنزيم (Zanger et al ., 2004). أما الطراز المظهري فانه يعتمد على نسبة الايض metabolic ratio (MR) وهو تركيز الدواء مثل عقار التاموكسيفين مقسوما على تركيز المركب الايضي الاندوكسيفين إذ يقسم الطراز المظهري الى CYP2D6 إلى مؤيضع ضعيف او فقير (PM) poor metabolizer ، مؤيضع متوسط intermediate metabolizer (IM) ، مؤيضع عالي (EM) extensive metabolizer ، ومؤيضع ما فوق العالي ultra rapid metabolizer (UM) (Beverage et al ., 2007).

المواد وطرق العمل Material and method :

جمع ٢ ml من الدم في انابيب تحتوي مادة مانعة التخثر من 100 مريضة مصابات بسرطان الثدي يتناولن عقار التاموكسيفين اللاتي يراجعن معهد الاشعاع الذري والطب النووي في بغداد ومن 30 عينة من نساء طبيعيات ظاهريا وقد تم اجراء العمل الجيني في مختبرات مركز البصمة الوراثية DNA / جامعة النهريين.

عزل الحامض النووي منقوص الاوكسجين Isolation of genomic DNA :

استخلص ال DNA من الدم باستخدام العدة الجاهزة (Geneaid, USA) , Genomic DNA Mini Kit (Blood) :

تقدير او قياس DNA concentration DNA Estimation of DNA concentration :

يتم قياس وتقدير ال DNA بواسطة جهاز ال nanodrop (THERMO. USA) الذي يقيس تركيز ونقاوة ال DNA : $A_{260}/A_{280} = 1.8-2.0$. وتم ملاحظة وتصوير حزم ال DNA بواسطة تقنية الترحيل الكهربائي Agarose gel electrophoresis .

تحضير مزيج PCR master mix preparation PCR:

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

تعليمات الشركة وكالتالي :

- اضافة 2.5 µl من البادئ الامامي (Forward primer)(10pmol).
- اضافة 2.5 µl من البادئ الرجعي (Reveres primer (10pmol).
- اضافة 40 µl من ماء PCR water.

Primer	sequence	Referenc e
CYP2D6 F	5-GGT GTT CCT CGC GCG CTA TG-3	Brown et al ., 2000
R	5-CTC GGT CTC TCG CTC CGC AC-3	

بعدها يعمل للمكونات مزج وتوزع على الانابيب المرفقة مع العدة الجاهزة والتي تحتوي على بقية مكونات منها (Taq DNA polymerase, dNTPs, Tris-HCl pH: 9.0, KCl, MgCl₂, stabilizer, and tracking dye) وبعدها يوزع 5 µl من ال DNA بعدها تنقل الانابيب الى جهاز الطرد المركزي على سرعة 3000 دورة لمدة 3 دقائق بعدها يوضع في جهاز ال PCR.

وتكون ظروف الجهاز حسب الطريقة المذكورة في المصدر للجين CYP2D6.

خطوات عمل ال PCR:	درجة الحرارة	الوقت	التكرار
Initial Denaturation	95C	5 min	1
Denaturation	95C	1min.	30 cycle
Annealing	60C	1min	

	1min	72C	Extension
1	10min	72C	Final extension
-	-	4C	Hold

وبعدھا یرحل الناتج على جل الاكاروز بتركيز ١% ویرحل ١٠ μl من ناتج ال PCR وبنفس الطريقة السابقة.

تقنية RESTRICTION FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISIM (RFLP) PCR master mix preparation

تم تحضير REFLP PCR حسب العدة الجاهزة وباستخدام انزيم التقييد (BstN1) من شركة Bromega على محلول الناتج من ال PCR ٤٢١ bp والذي هضم الى ٧٧ bp و ٣٤٤ bp كنواتج لمتماثل الزابجوت الطافر و ٧٧ bp ، ١٦١ bp و ١٨٣ bp كمتغاير الزابجوت الطافر بالإضافة إلى أنواع لم تهضم كجين بري. وكما يلي:

الحجم	REFLP-PCR Master mix
٢٠ μl	ناتج ال PCR
٥ μl	Restriction enzyme buffer
	10X
١١ μl	Restriction enzyme
	(10 unit)
٢٤ μl	Free nuclease water
١٥٠ μl	الحجم النهائي

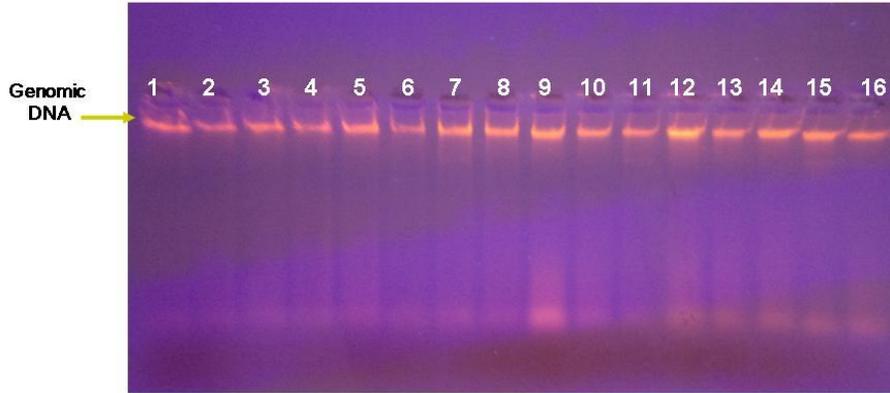
بعدها وطمع في جهاز الطرد المركزي على ٣٠٠٠ دورة لمدة دقيقتين بعدها نقل الى الحافظة على درجة حرارة ٦٠ C ولمدة ٣٠ دقيقة بعدها رحل كهربائيا على جل الاكاروز بتركيز ٣% كما في الطريقة السابقة.

التحليل الإحصائي Statically analysis:

أستخدم برنامج Epi . info للتحليل الاحصائي وقد استخرج Odds ratio و confidence interval للبيانات المدروسة .

النتائج Resultes :

استخلص الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA من عينات دم مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة بواسطة العدة الجاهزة (Genaid Kit) ، وقد تحقق من ال DNA بواسطة تقنية Nanodrop spectrophotometer وبتقنية الترحيل الكهربائي كما في الشكل (٢)

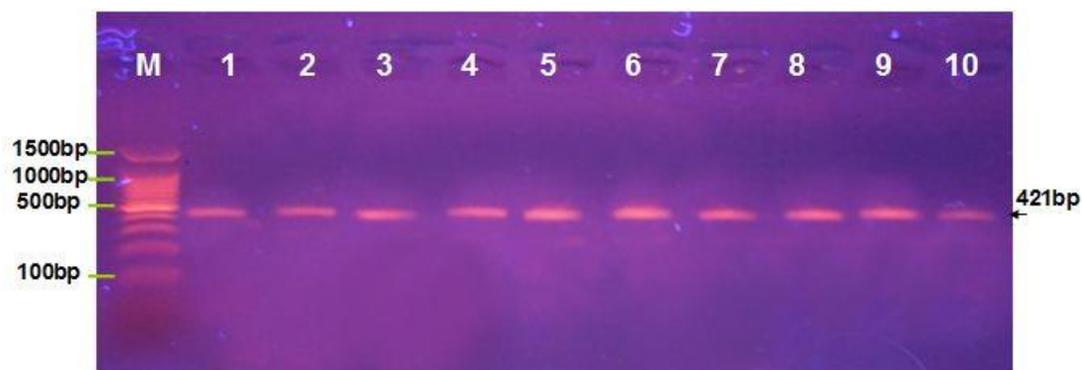


شكل (٢) يبين حزم DNA بواسطة تقنية الترحيل الكهربائي على هلام الاكاروز بتركيز ١% العينات (١-٨) عينات السيطرة ، العينات (٩-١٦) عينات مجموعة المرضى.

دراسة التتميط الوراثي للجين (CYP2D6*4) Cytochrome P 450 2 D6 :

تقنية ال PCR Polymerase chain reaction :

بعد ان استخلص ال DNA من عينات الدم وتحقق منه بعدها ادخل الى جهاز ال PCR مع استخدام البرايمر المناسب ليتم مضاعفة الجين المطلوب وكان حجم الجين 421 bp كما في الشكل (٣)



شكل (٣) صورة الترحيل الكهربائي لنتاج ال PCR من ١-٥ عينات مجموعة السيطرة ومن ٦-١٠ عينات مجموعة المرضى للجين CYP2D6*4 على هلام الأكاروز بتركيز 1% ال DNA القياسي (100 bp)

تحليل ناتج ال PCR باستخدام تقنية (RFLP) restriction fragment length polymorphisim للجين CYP2D6*4 :

بعد أن تم مضاعفة الجين المطلوب بواسطة تقنية PCR تم هضم ناتج ال PCR بواسطة إنزيم التقيد BstNI وقسم الناتج إلى ثلاث فئات : ١- متجانس الزيغوت النوع البري (extensive metabolism EM *1*1) homozygote wild type وتعرف بواسطة وجود ثلاث قطع بحجم (161, 77 و ١٨٣ bp) ، ٢- متباين الزيغوت heterozygote intermediate (metabolism IM *1*4) وتعرف بواسطة وجود ٤ قطع بحجم (183, 161, 77 و ٣٤٤ bp) - متجانس الزيغوت homozygote (poor metabolism PM *4*4) وتعرف بوجود حزمين (344 , 77 bp) ، وكذلك لم يحدث هضم لمعظم العينات أما العينات المهضومة فقد كانت معظمها من نوع متجانس الزيغوت (qq) بنسبة طفيفة والذي يكون مسؤولاً عن إنتاج الإنزيم الايضي ضعيف الفعالية في ايض عقار التاموكسيفين (OR = ١) كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين مجموعة السيطرة ومجموعة المرضى كما في الجدول (١) والشكل (٤).

جدول (١) يبين توزيع النمط الوراثي للجين CYP2D6*4 لعينات مجموعتي المرضى والسيطرة

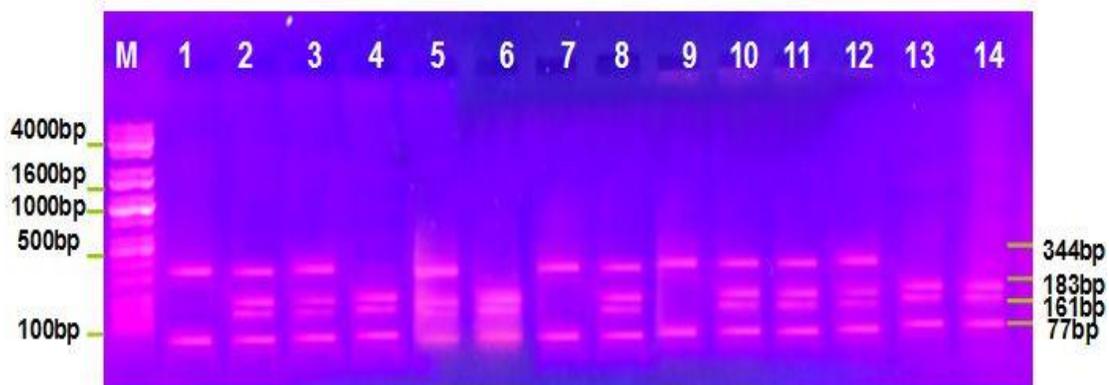
النمط الوراثي للجين CYP2D6*4	مجموعة المرضى	مجموعة السيطرة	Odds ratio OR	95% CI	Chi Squar e *	P-value
متجانس الزيغوت النوع البري	13(29%)	6(54.5%)	0.35	0.07- 1.51	2.39	٠,١٢٢

				EM) (PP)		
0.066	3.38	UNDEFINED	UNDEFIN ED	•	11(25%)	متباين الزيجوت
				(IM) (Pq)		
١	•	0.22 – 4.55	١	5(45.5%)	20(45%)	متجانس الزيجوت
				PM) (qq)		

$p < 0.05$

95% CI= confidence interval

* MANTEL-HAENZEL CORRECTION



شكل (٤) تحليل ناتج ال PCR للجين CYP2D6*4 بواسطة انزيم التقيد BstNI لمجموعتي المرضى والسيطرة من ١ - ٧ مجموعة السيطرة ومن ٨-١٤ مجموعة المرضى M ال DNA القياسي 100bp

المناقشة Discussion:

حوالي ٥-١٠% من حالات سرطان الثدي تكون وراثية اذ ينتج عن خلل في بعض الجينات (طفرة) والناتج عن الانتقال من الابوين، اذ يمكن لبعض التغيرات في الحامض النووي الرايبوزي المنقوص الاوكسجين DNA الموروثة ان تزيد من خطر الاصابة بسرطان الثدي وهناك جينات خاصة وتعرف الجينات الكابتة للورم (BRCA1 و BRCA2) اذ قد

تكون الطفرات في هذه الجينات موروثية من الاباء وعندما تحدث طفرة فانها تفقد القابلية على الاصلاح وبذلك يتكون وينمو الورم (American Cancer Society., 2012)

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

السبب الوراثي الاكثر شيوعا للإصابة بسرطان الثدي هو الخلل في جينات (BRCA1 و BRCA2) اذ تعمل هذه الجينات على منع تكون سرطان الثدي عن طريق تكوين بروتينات التي تحافظ على الخلايا من النمو بشكل غير طبيعي وعندما تملك طفرة في احد الجينين الموروث من الابوين فان خطر الاصابة بسرطان الثدي تزداد بنسبة ٨٠% . (Brenton et al. (2005

ان التنوع الوراثي في CYP يؤدي الى التنوع المظهري والذي يقسم الى :

- ضعيفة او فقيرة التأييض Poor Metabolizer : تتميز بحمل واحد او اثنين من الاليلات المعابة او التي بها خلل معين مثل حذف او تعطيل احد الجينات .
- متوسطة التأييض intermediate Metabolizer : وتقع بين فقيرة التأييض والمرتفعة التأييض .
- مرتفعة التأييض extensive metaboliser : ويتميز بحمل اثنين من الاليلات الطبيعية والتي تعطي الصفة الطبيعية للإنزيم وتسمى ايضا الاليل (*١) .
- مرتفعة جدا في التأييض ultrarapid metaboliser : وعادة يحمل الاليل جين مضاعف وبذلك يعطي فعالية عالية للإنزيم . (Relling and (1999), Evans ; Bertz and Granneman (1997).

ان حدوث طفرة وراثية في الجينات المسؤولة عن تكوين انزيمات cytochrome P450 تؤثر على تكوين الانزيم وبالتالي على وظيفته

CYTOCHROME P 450 2D6 (CYP2D6*4)

بعد استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين استخدم البرايمر المناسب لتحديد جين CYP2D6*4 وكان حجم الجين الناتج 421 b.p. ولمعرفة النمط الوراثي له استخدم الانزيم المناسب لهضم الناتج وكانت النتيجة : ١ - متجانس الزيجوت النوع البري (EM *1*1 extensive metabolism homozygote wild type) وتعرف بواسطة وجود ثلاث قطع بحجم (77, 161 و ١٨٣ bp) ، ٢- متباين الزيجوت heterozygote intermediate metabolism (IM *1*4) وتعرف بواسطة وجود ٤ قطع بحجم (77, 161, 183 و ٣٤٤ bp) ، ٣- 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) والذي يكون مسؤولا عن إنتاج الإنزيم الأيضي ضعيف الفعالية في ايض عقار التاموكسيفين (OR = ١) مع عدم وجود فروق معنوية بين المجاميع كما في الجدول (١)

يتكون جين *CYP2D6* من ٩ اكسون و ٨ انترون ويحتوي على تعدد شكلي واسع وقد اكتشف الطرز المظهري قبل ٣٠ عام وقد قسم الى *extensive* (Im) , *intermediate metapolizer* (pm) , *poor metabolizer* (pm) , *ultrarapid metabolizer* (EM) , *metabolizer* (EM) , وان الاليل ٤ للجين *CYP2D6* ينتشر بشكل كبير عند القوقازيين اذ ان معظم القوقازيين (٧-١٠%) عبارة عن PMs و (١٠-١٥%) IMs واكثر من (١٠-١٥%) عبارة عن Ums (Raimundo *et al.* , 2004) .

PMs فسر على اساس اكثر من ٩٩% من الجين يحتوي على ٢ من الاليلات غير الوظيفية واكثر من ٢٠ اليل تكون غير مفيدة (Zanger ., 2008) .

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

EM يتناسب هذا المظهر الوراثي مع وجود ١ او ٢ من الاليلات البرية مثل 2* , 1* من الاليلات الوظيفية وهذا الطراز المظهري يمكن ان يفصل جينيا الى متماثلة *homozygous* ومتباينة *heterozygous* اعتمادا على اذا ما كانت تحمل 1 او 2 من الاليلات الوظيفية، بسبب ترافق النوع المتباين الذي يحمل 1* او 2* من الاليلات الوظيفية مع ال PM فان ذلك يؤثر على انتاج ووظيفة الانزيم وقد اطلق نوعا مظهريا يسمى IMs مع ملاحظة ان الطراز المظهري والوراثي له متميز عن الطراز الجيني المتباين لل Ems والذي ينطوي على ضعف التعبير الجيني وبالتالي وظيفة الانزيم وهذه المتغيرات تشمل (10* , 9* , 41*) او المتغيرات غير الوظيفية (Raimundo *et al.* , 2004 ; Zanger *et al.* , 2001) .

وجد ان (٢-٣%) من الشعب الالمانى يحملون جين *CYP2D6* مضاعف ومكرر وقد انتج طرازا مظهريا جديدا اطلق عليه UM والذي يسبب فعالية مضاعفة للأنزيم وقد لوحظ وجود UM بنسبة ٣٠-٤٠% في القوقازيين (Lovlie *et al.* , 2001) .

لقد الان اكتشف مايقارب ١٠٠ نوع من الاليلات على الاقل ١٥ من تلك الاليلات تعتبر غير وظيفية وبالتالي جين غير فعال ناتج عن ربط شاذ ، حدوث طفرة في قاعدة معينة ، حذف او ادخال صغير او حذف كبير أي حذف كروموسوم كامل للجين *CYP2D6* او جينات هجينة *CYP2D6/CYP2D7* او طفرات تسبب نقص الهيم (Schimnich *et al.* , 2008) .

وهناك اختلاف بين المجموعات العرقية في توزيع ال PM, IM ,UM وقد وجد ان تكرار الجين يكون كبير لسكان الشمال الشرقي الافريقي (٢٩% في اثيوبيا) (Aklillu *et al.* (1996) وفي المملكة العربية السعودية (٢١%) اما في سكان اسيا فان الجين *Cyp2D6*10* فهو المنتشر ويشكل نسبة (٥٧%) في الصين ويكون الطراز IM هو المنتشر اما PM فهو قليل . (Sistonen *et al.* (2007) عموما ان التعرف على النمط الوراثي قد يؤثر على القرار بخصوص العلاج كما وجد في القوقازيين عند اخذ عقار المورفين وجد ان (١٠%) يمتلكون الطراز PM لذلك لا يستجيبون بشكل جيد لهذا المسكن وكذلك في النساء التي تحمل الطراز الوراثي IM / PM قد لا تستفيد من العلاج المضاد للاستروجين وذلك لعدم انتاج مركبات ايبضية فعالة بشكل كافي (Gasche *et al.* , 2004) ; Koren *et al.* (2006) .

ان معظم العينات لم يحدث لها عملية هضم او تقطيع ويعتقد ان احد الاسباب هو عدم وجود الاليل اذ ان الاليل ٤* للجين *CYP2D6* يوجد بنسبة قليلة في العرق الاسيوي (٠-٨,٢) (Ling Ji *et al.* , 2002) فقد اظهرت الدراسة

التي اجريت على ٢٢٣ عينة من النساء الصينيات المصابات بسرطان الثدي وتمت دراسة النمط الوراثي لهذا الجين مع تردد الاليلات وقد اظهرت الدراسة ان الاليل *١٠ هو الاليل الاكثر ترددا في الشعب الصيني بنسبة (٥١,٣%) وان الاليل *٤ بنسبة (٠,٢%) وفي دراسات اخرى في سنغافورة ، تايبوان و هونغ كونغ كانت نسبة الاليل *١٠ من (٧٠-٦٢%) (Wang; Garcia-Barcelo et al., 2000 et al., 1999 ; Lee EJ and Jeyaseelan., 1994) وربما يرجع السبب في عدم الهضم وذلك لحدوث فشل في التقطيع.

وقد اختلفت الدراسة مع دراسة (Sukasem et al., 2012) اذ وجد ان تردد الاليل *٤ فقط بنسبة (٢%) وكان الطراز المتباين هو المتغلب اما الاليل الاكثر تردد هو الاليل *١٠ بنسبة ٢٠%. وفي دراسة لبعض النساء الامريكيات وقد ركزت هذه الدراسة على الاليل *٤ و اكدت هذه الدراسة على ان هذا الاليل لا ينتج انزيم يكون فعال ايضا (Hertz et al., 2012).

وفي دراسة مقارنة للشعب الاسيوي (الصينيون ، الماليزيين و الهنود) تمت دراسة التردد الاليلي للجين *CYP2D6* فقد اخذ ٢٢٨ لمجموعة السيطرة (n=76) و ١٦٥ من مجموعة المرضى بسرطان الثدي فقد وجد تنوع عرقي واسع بين الاليلات بين الأعراق في مجموعة السيطرة وكانت نسبة تردد الاليلات *١*١ بين الشعوب (الصينيين = ٠,٩٨ ، الماليزيين = ٠,٩٦ ، الهنود = ٠,٩١ و P value = ٠,١٩٩) والاليل *٤*١ (الصينيين = ٠,٠٢ ، الماليزيين = ٠,٠٤ ، والهنود = ٠,٠٩) والاليل *٤*٤ (كان لجميع الشعوب = ٠) (Joanne et al., 2004).

وفي دراسة (Xu Y et al., 2008) اجريت على العرق الاسيوي فقد تبين من النتائج ان (البقاء على قيد الحياة، الشفاء من المرض، وتطور المرض) مرتبطة بالنمط الجيني *CYP2D6*10*10* والنمط المظهري الاكثر تعبير هو IM وبنسبة (٤٨%) والذي يكون نادرا في العرق القوقازي.

وفي دراسة اجريت على العرق القوقازي والتي كانت مرتبطة بالنمط الجيني *CYP2D6*4* والتي اظهرت وجود النمط المظهري الاكثر هو PM المتعلق بالنمط الجيني *٤*٤ وقد كانت نسبة النجاة من المرض بعد اخذ عقار التاموكسيفين لمدة ٥ سنوات (٥٤%) مقارنة مع (٨٤%) للذين لا يحملون النمط الجيني *CYP2D6*4* (Goetz et al., 2005).

وفي دراستنا الحالية كانت نسبة تواجد النمط الجيني *CYP2D6*4* (٤٤%) للنساء العراقيات المصابات بسرطان الثدي واللاتي يتناولن عقار التاموكسيفين وقد ترجع هذه النسبة الى ان البعض قد يكونون من عرق قوقازي فقد بينت الدراسات السابقة ان العرق الاسيوي يحمل النمط الجيني *CYP2D6*4* بنسبة قليلة وان النمط السائد هو *CYP2D6*10*. ولم تتفق النتيجة مع دراسة (Levkovich et al., 2011) اذ اجري دراسة على النساء الاوكرانيات المصابات بسرطان الثدي اذ كان النمط الجيني *CYP2D6*4* هو السائد ووجد فروقا معنوية بين مجموعة السيطرة ومجموعة المرضى من حيث تردد الاليلات والنمط المظهري اذ وجد ان نوع PM هو الغالب ويليهِ النوع EM.

Refrences:

-
- 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* 1996;278: 441–6.
- Algeciras-Schimmich A, O’Kane DJ, Snozek CL.(2008):** Cytochrome P450 Part 1: Multiplicity and Function *Journal of Pharmacy Practice and Research* Volume 38, No. 1,.
- American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014.** Atlanta, GA: American Cancer Society.
- American Cancer Society. Cancer Facts and Figures 2012.** Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2012.
- 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;96:2224-31.
- Bradford LD.(2002):** CYP2D6 allele frequency in European Caucasians, Asians, Africans and their descendants. *Pharmacogenomics*;3:229-43.
- Brenton JD, Carey LA, Ahmed AA, et al.(2005):** Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: Ready for clinical application? *J Clin Oncol.*;23:7350–7360.
- Chonlaphat Sukasem, Ekaphop Sirachainan, Montri Chamnanphon1, 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 , *APJCP*;.13.9.4549.
- Clarke R, Liu MC, Bouker KB, et al. (2003):** Antiestrogen resistance in breast cancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene*; 22(47): 7316-39.
- Daniel L. Hertz, Howard L. McLeod and William J. Irvin, Jr (2012):**

data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions', Clin. Pharmacokinet. Vol. 32, pp. 210–258.

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G, Darby S, McGale P, et al. (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.

Evans,W.E. and Relling, M.V. (1999), 'Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics', *Science* Vol. 286, pp. 487–491.

Furr BJA WA. (1987): Pharmacology and clinical uses of inhibitors of hormone secretion and action. Eastbourne: Bailliére Tindall; ;27:385–8.

Garcia-Barcelo M, Chow LY, Chiu HF, Wing YK, Lee DT, Lam KL, et al. (2000): Genetic analysis of the CYP2D6 locus in a Hong Kong Chinese population. *Clin Chem* 2000;46:18–23.

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* 2004;351:2827–31. *Genet.*;27:383-91. <http://dx.doi.org/10.1038/86882>

Goetz MP, Rae JM, Suman VJ et al. (2005): Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol*; 23: 9312–8.

Hoskins JM, Carey LA, McLeod HL. (2009): CYP2D6 and tamoxifen: DNA matters in breast cancer. *Nat Rev Cancer*; 9(8): 576-86.

Joanne S. L. Lim, Xiang A. Chen, Onkar Singh, Yoon S. Yap,Johnson MD, Zuo H, Lee KH et al. (2004): Pharmacological characterization of 4-hydroxy-N-desmethyl tamoxifen, a novel active metabolite of tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat*; 85(2):151-9.

-
- 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* 2006;368:704.
- Lee EJ, Jeyaseelan K. (1994):** Frequency of human CYP2D6 mutant alleles in a normal Chinese population. *Br J Clin Pharmacol*;37: 605–7.
- Lim YC, Desta Z, Flockhart DA et al. (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 Ha' nseler, Katharina Rentsch, 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 .
- 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.
- Marez D, Legrand M, Sabbagh N, Guidice JM, Spire C, Lafitte JJ, et al.(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.
- metabolic activity of CYP2D6 in Chinese. *Drug Metab Dispos*
- Miller W IJ . (2002) .** Endocrine Therapy in Breast Cancer. New York: Marcel Dekker. Pharmacogenomics of tamoxifen and irinotecan therapies. *Clin Lab Med*;28:553– 67.
- N.N. Levkovich, N.G. Gorovenko1, D.V. Myasoedov (2011):** ASSOCIATION OF POLYMORPHIC G1934A VARIANT (ALLELE *4) OF CYP2D6 GENE WITH INCREASED RISK OF BREAST CANCER DEVELOPMENT IN UKRAINIAN WOMEN *Exp Oncol* 33, 3, 136–139.

-
- Nilsson S, Koehler KF . (2005) :** Oestrogen receptors and selective oestrogen receptor modulators: molecular and cellular pharmacology. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; 96(1): 15-25.
- Osborne CK, Schiff R. (2011):** Mechanisms of endocrine resistance in breast cancer. *Annual review of medicine*; 62: 233-47.
- Raimundo S, Toscano C, Klein K, Fischer J, Griese EU, Eichelbaum M, et al. (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.
- Ring A, Dowsett M. (2004):** Mechanisms of tamoxifen resistance. *Endocrine-related cancer*; 11(4): 643-58.
- 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* 2007;17:93–101.
- Stearns V, Johnson MD, Rae JM et al. (2003):** Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen and the selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J Natl Cancer Inst*; 95(23):1758-64.
- Wang SL, Lai MD, Huang JD.(1999).** G169R mutation diminishes the metabolic activity of CYP2D6 in Chinese. *Drug Metab Dispos*;27:385–8.
- 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.