Journal of Yarmouk Volume (21) Issue (2) October (15-10)(2023)

ISSN 2075-2954 (Print)
Journal of Yarmouk available online at
https://www.iasj.net/iasj/journal/239/issues
مجلة اليرموك تصدرها كلية اليرموك الجامعة

تقدير مستوى الاوستوبنتين Osteopontin (OPN) وفيتامين D3 لمرضى سرطان الثدي في محافظة كركوك.

سروت بهرام عارف محمود

جامعة تكريت /كلية التربية علوم الصرفة / قسم الكيمياء .

bahramsarwat@gmail.com

الخلاصة .

سرطان الثدي من أكثر الامراض انتشاراً عند النساء والمتفشية في العراق والعالم، يلقي بتأثيرات واضحة على العمليات والتوزان الحيوي للجسم مما يعكس أهمية متابعته والتقصي المستفيض لفسيولوجية اسبابه وسبل الوقاية والعلاج.

تضمنت الدراسة الحالية ٦٠عينة دم من نساء مصابات بسرطان الثدي اللواتي يراجعن مركز اورام وامراض الدم في كركوك بعد التأكيد الطبي للاصابة ومرحلته كذلك تم جمع ٣٠ عينة دم من نساء ظاهريا سليمات (مجموعة السيطرة) بعد التأكد من خلوهن من الاورام والامراض التي تسبب تداخل مع مؤشرات الدراسة. شملت الدراسة الالكيمو حيوية بعض الدلالات حيث لوحظ ارتفاع في مستوى الاوستيوبونتين Osteopontin سجل ارتفاعاً معنوياً عند مستوى $P\leq 0.0001$ لمريضات سرطان الثدي بالمقارنة مع مجموعه السيطرة ولا توجد تاثير للعمر على مستوى الاوستيوبونتين عند المقارنة بين مجموعتي (السيطرة و المرضى), وارتفاع معنوي في المستوى OPN لدى المريضات المدخنات بالمقانة مع الغير مدخنات , عدم وجود فرق معنوي لمستوى OPN في بلازما لمجموعتي HER+2، و HER− 2 , ولحظ ارتفاعاً معنوي عند مستوى $P\leq 0.05$ لمجموعتي لمجموعة ER+ مقارنة مع مجموعة ER− وارتفاعاً معنوياً عند مستوى $P\leq 0.05$ في المرحلة الرابعة بالمقارنة مع المرحلة الثانية لمريضات بسرطان الثديوارتفاعها بنفس المستوى في مرحلة بعد انتشار المرض في الجسم بالمقارنة مع قبل انتشارها . وكذلك من خلال قياس مستوى فيتامين D3 لمجموعه الدراسة تبين انخفاضاً معنوياً عند مستوى $p\leq 0.001$ للنساء المصابات بسرطان الثدي بالمقارنة مع مجموعه السيطرة وانخفاض مستوى Vit D3 ايضاً في المريضات المدخنات بمقارنة مع الغير مدخنات للسكائر , ولا توجد تأثير يذكر للفئات العمرية على مستوى فيتامين D3 المريضات بسرطان الثدي .

الكلمات الدالة : سرطان الثدي Breast cancer(BC) , اوستوبنتيين Osteopontin (OPN) , فيتامين D3 .

مقدمة واستعراض المراجع .

سرطان الثدي Breast cancer(BC) نمو ينشا في الفصيصات والمرتبطة بقنوات الحليب غالبا يتم تشخيصه اشعاعيا بعد الفحص اليدوي [1]. يمثل ٢٩٪ من جميع حالات السرطان المكتشفة و% ١٤ من الوفيات مرتبطة بسرطان الثدي و الذي تجاوز الأنواع الأخرى ، سجلت١٩.٣ مليون حالة جديدة وحوالي ١٠ ملايين حالة وفاة في عام ٢٠٢١ و ٢.٢ مليون حالة في عام ٢٠٢٢ . إذ انخفض معدّل الوفيات حسب العمر بنسبة% ٤٠ بين الثمانينات وعام ٢٠٢٢ في البلدان المرتفعة الدخل [2-3] .

لوحظ في العراق ان سرطان الثدي يكون في المرتبة الاولى مقارنة مع بقية انواع السرطان وبناءا على احصائيات مجلس السرطان العراقي لعام ٢٠٢٢ تم تسجيل ٣٨٤٥ حالة (٣٧٩٣ اناث, ٨٢ ذكور) بنسبة % ١٩.٩٦ لكل ١٠٠٠٠٠ نسمة ،فقد سجلت ١٤٦ (١٣٨ اناث ,٨ ذكور) عام ٢٠٢٢ في محافظة كركوك وضواحيها وكانت عدد الوفيات ٣٠, كما بينت ان نسبة الاصابة بهذا المرض في حالة ارتفاع في السنوات الاخيرة حيث كانت عام ٢٠٠٩ حوالي% ١٨.٤٥ مقارنة بعام ٢٠٢٢ كانت % ١٨.٦٢ [4]

ان ارتفاع كل من هرموني البروجسترون (Prog) Progesterone والاستروجين (Estro)Estrogen في الدم يزيد من خطر BC من خلال تحفيز خلايا الثديMastocytes [5] . اذ ان هناك علاقة قوية بين الاصابة BC ومستوى الهرمونات الستيرويدية Steroides خصوصا الاستراديول (E2)Estradiol على عكس هرمون ديهيدرو ايبي اندروستيرون (DHEA) Dehydroepiandrosterone كذلك ارتفاع هرمون الحليب (ProL)Prolactin يودي الى ارتفاع خطر الاصابة BC [6] .

الدلات الحيوية مثل البروتينات والانزيمات لها اهمية في الكشف ومتابعة تطور وعلاج الامراض باعتبارها مسؤولة عن ميكانيكية التفاعلات الكيميائية والمحافظة على التوازن البايوكيميائي، من أبرز الامثلة الاوستيوبونتين (OPN) Osteopontin الذي اعطى مؤشرات تشخيصية في عدة حالات مرضية مثل امراض الكبد والسرطان مثل سرطان العظام والبروستات [7].

وظائف الثدي Breast Functions

ان للاوكسيتوسين Prog, Esto, ProL و(Oxe)Oxitocine، تاثيرات مختلفة في مراحل نمو الثدي وأداء وظيفته اذ ان Estro هو في الأساس هرمون تكاثري يحفز استطالة الأقنية بينما يعمل Prog على تحفيز تفرع القنوات [٨]. ويساعد ProL في تطوير الحويصلات والإفراز أثناء مرحلة الحمل [٩]، وأخيرا يلعب Oxe دورا فعالاً في انتاج الحليب وإفرازه [10].

مستقبلات الإستروجين Estrogen Receptors

أظهرت الدراسات أن مستقبلات الاستروجين (ER) Estrogen Receptors لها دورًا مهمًا في تطور سرطان الثدي [11-12] . مستقبلات غشائية،يمكن تنشيط ER في وجود او غياب الليكاند ligandإلذي عند ارتباطه يؤدي الى إحداث تغيير توافقي نشط داخل ERوهو يحدث الى تعزيز التشابه المتجانس وربط التقارب القوي بعناصر استجابة الإستروجين Estrogen Response Elements (EREs) الموجودة داخل المناطقة التنظيمية للجينات المستهدفة على شريطDeoxyribonucleic acid DNA [13] .

عوامل خطورة سرطان الثدي Breast Cancer Risk Factors

تتنوع عومل الإصابة بالسرطان مما يحد الوقاية منه, وقد لا يوجد سبب دقيق معروف و مؤكد أيضا . ان تقييم العوامل المرضية ساعد في تطوير نماذج لتحديد النساء المرشحات للإصابة BC [14]؟, ومن هذه العوامل – :

العمر المريضة , التغذية , عوامل بيئية , الجنس , التاريخ العائلي , العوامل الجينية وعوامل اخري قد تكون الكحول و التدخين و بعض العقاقير [١٥] .

علاج سرطان الثدي Breast Cancer Treatment

يراعى عند تطبيق خطة علاجية عدة أمور منها تطور المرض، عمر المصابة بالمرض، مستوى الهرمونات المختلفة ووضع المستقبلات الهرمونية. يفضل التدخل الجراحي في اغلب الاحيان على غيره من العلاجات مثل الاشعاعي، الكيميائي، الهرموني وحتى على العلاج الموجه. [١٦-١٧]. وهذه العلاجات:

١. العلاج الجراحي Surgical Treatment

يزال الورم السرطاني والانسجة المجاورة له وفي بعض الأحيان قد يزال الثدي بأكمله ويلجأ أيضا الى العلاج الجراحي لازالة بعض العقد اللمفاوية المرتبطة وغالبا ما يلي هذه العمليات اجراء جراحي ترميمي بعد الجراحة. [١٦].

٢- العلاج الكيميائي Chemotherapy

يلجأ الى تطبيق هذا العلاج عن التشخيص المتأخر حيث يكون الورم قد انتشر خارج منطقة الثدي ومنطقة تحت الابط، او قد انتشر بعد العلاج الاولي الغير ناجح [١٨]. لذا فأن العلاج الكيميائي هي الأكثر فعالية والأكثر استخداما في معظم أنواع الأورام السرطانية الخبيثة المختلفة [١٩].

٣- العلاج الإشعاعي Radiotherapy

العلاج الاشعاعي يستخدم فيه الأشعة السينية ذات الطاقة العالية اوانواع اخرى من الاشعاع وذلك لتجزئة وتحطيم الخلايا السرطانية المتبقية بعد شهر من اجراء العملية الجراحية للثدي او قبلها لتقليل حجم الورم [٢٠-٢١].

٤- العلاج الهرموني Hormonal Therapy

ان أكثر من ٦٠% من حالات سرطان تعتمد بشكل كامل على الهرمونات وخاصة الهرمونات الستيرويد بذلك تلعب هذه الهرمونات دوراً فعالاً في علاج هذه المرض، يتضمن العلاج الهرموني على التلاعب بنظام الغدد الصماء بطريقتين:

- الأولى: إنتاج هرمون معين
- الثانية: العمل على تنشيط المستقبلات الهرمونية. [٢٢].

ان كل من العلاج الكيميائي والعلاج الموجه يمكن تكملتها بالعلاج الهرموني، يمكن أن يسبب العلاج الهرموني بطيف سلبي واسعة من المضاعفات الخفيفة أو المعتدلة مثل تجلط الدم، تنكس دهني كبدي hepatic steatosis، تضخم بطانة الرحم الداخلي، هشاشة العظام اوأثار شديدة منها مثلاَ الانسداد الرئوي، نخر الأوعية الدموية [٢٣].

ومن اهم العلاجات الهرمونية هي [٢٤] :

١- الادوية التي تثبط ارتباط هرمون Estro مع مستقبلاته في خلايا الهدف مثل تاموكسيفين.

٢- الادوية المثبطة لأنزيم اروماتيز Aromatase فعالة فقط بعد سن الامل.

٣- الادوية التي تعطل مستقبلات stroE في الجسم.

مجموعه ادوية تعمل على ايقاف افراز المبيضين لهرمون Estro

امراضية سرطان الثدي Breast Cancer Pathogenesis

هناك مسببان رئيسيان لهما دور فعال في امرضيةBC:

الأول : الاستقرار الجيني .

قد يتسبب عدم الاستقرار في التسلسل الجيني في حدوث تغييرات مثل فقدان الجينات , اضافة جينات, تضخيم الجينات , طفرة النقطة والترجمة الكروموسومية الخاطئة في الحالات التي تكون غير الخبيثة ,مع ذلك ربما تتحول الى خلايا خبيثة نشطة, غازية ,فائقة التكاثر ومقاومة لأدوية مما يؤدي في النهاية إلى التعبير عن السمات المميزة للسرطان [٢٥-٢٦].

الثاني : الهرمونات.

١ - الإستروجين Estrogen

يستهدف الاستروجين (E) Estrogen الجهاز التناسلي وأنسجة الثدي مباشرة لتنظيم واستقرار الطمث بشكل أساسي [١٤] ,هناك ثلاثة أنواع ثانوية منه هي: الإسترون (E1) Eestrone،الاسترادايول (E2) Estradiolو الاسترول(E3) Estriol .

٢ - البروجسترون Progesterone

البروجسترون (Prog) Progesteron هرمون ستيرويدي يفرز من الجسم الأصفر وبكميات اقل بطرق اخري بواسطة الغدد الكظرية و تعتبر الأنسجة الدهنية في الجسم مصدراً مهماً ومخزنا له. يحفز بشكل رئيسي بواسطة الهرمون اللوتيني(LH) Lutenizing hormone , له دور وظيفي في الرحم والمبيض والغدد الثدية [٢٧-٢٨]

٣- الأندروجينات Androgens

تُعرَّف الأندروجينات بأنها فئة من هرمونات الستيرويد المنتشرة والتي يتم تكوينها وإفرازها بشكل أساسي بواسطة خلايا Leydigفي الخصيتين , المبيض ، وبعض خلايا الغدد الكظرية . تكون مستوياتها أعلى بكثير عند الذكور مقارنة بالإناث[٢٩] . وقد ارتبطت المستويات العالية منها بشكل مباشر و إيجابي بزيادة خطر الإصابة BC لدى النساء بعد سن الامل [٣٠].

الكشف عن سرطان الثدي Breast Cancer Diagnosis

يتم بعدة طرق منها:

الفحص السريري Clinical Examination

التصوير الشعاعيMammographic Examination

: علاج سرطان الثدي Breast Cancer Treatment

يتم العلاج بعدة طرق اعتماداَ على درجة المرض و مرحلتها ومنها .

العلاج الجراحي Surgical Treatment

العلاج الكيميائي Chemotherapy

العلاج الإشعاعيRadiotherapy

العلاج الهرموني Hormonal Therapy

الاوستيوبونتين Osteopontin

الاوستيوبونتين(OPN) Osteopontin بروتين فسفوري سكري ذا ارتباط O وN يتكون من ٣٠٠ حمض أميني تقريباً منها٢٥% حوامض امينية حامضية كما في الشكل ٥-١, يفرز من قبل العديد من الخلايا وله أهمية في ديمومة الصحة والتي يعزز سمات الجينيات الوراثية بما في ذلك تكاثر الخلايا وبقائها وتكوين الاوعية [٣١-٣٢]

وهي أول بروتين خارج خلوي تم تحديده في أنسجة العظام [٣٣] . ذو وزن جزيئي تتراوح بين KD { ٤٤ -٧٥} [٣٤-٣٥] . تم اكتشاف وجود هذا البروتين في ما يقرب من ٩٠% من حالات مرض السرطان [٣٦-٣٧] .

يوجد OPN في عدد واسع من الأنسجة و سوائل الجسم مثل الصفراء والدم والسائل النخاعي والحليب والبول واللعاب [٣٣-٣٨] . وطبقة العاج من الأسنان ، ويتواجد OPN في أنواع مختلفة من الخلايا الحيوانية و النباتية [٣٩-٤٠] . يفتقر OPN إلى بنية ثلاثية الأبعاد مستقرة ومع ذلك فأنها تشارك في تنظيم النشاط المعقد [٤١] . حيث يشارك في العديد من العمليات الفسيولوجية والمرضية ، منها التئام الجروح والسكري ، والسمنة ، والالتهاب ، والتليف ، وتحص الكلى البولي ، وأمراض المناعة الذاتية ، كما أنها مرتبط بمرض الزهايمر ,ومرض باركنسون Parkinson`s Disease والنمو الثانوي للورم و و وتؤثر على الياف الكولاجين [٤٢-٤٣] والتي تحدث عن طـريق ارتباط OPN بمستقبلات سـطح الخلية مثل الإنتغرينات Integrins و { CD44} - Cell Surface Adhesion Receptors 44 [٤٤-٤٥] . و فسلجياً فيما يتعلق بدوره في السرطان يتم تعديل نشاط OPN الوظيفي من خلال:

- التفاعل مع المستقبلات
- التعديل اللاحق للترجمة Post-translational Modification مثل التحلل البروتيني بواسطة العديد من البروتياز proteases وإزالة الفسفور phosphorylationوالتكسير .glycosylation[٤٤] .

التركيب البنائي للاوستيوبونتين Osteopontine Structure

يتكون جين OPN البشري الذي يقع على ذراع الكروموسوم الرابع (4q22) من ٧ تراميز exons ولديه على الأقل ٥ متغيرات ربط بديلة هي [٤٦-٤٧]:

A. OPN تحتوي على جميع الاكسوناتsexon (٣١٤ حمض أميني)

B. OPN الاكسونexon ٥ مفقودة (300من الأحماض الأمينية)

C. OPN اكسونexon ٤ مفقودة (٢٨٧ أحامض امينية)

D. OPN الاكسوناتexons (٤ و ٥) مفقودان (٢٧٣ أحامض امينية)

E. OPN يحتوي على اكسون exonإضافي (٣٨٧ أحامض امينية) [٤٨-٤٩-٥٠]

تعبير الاوستيوبونتين في الأورام OPN Expression in Tumors

يتم التعبير عن OPN بشكل كبير في العديد من أنواع الأورام [٥١] . و في الدراسات السريرية تبين أن تعبير OPN في أنسجة الورم والبلازما والمصل يرتبط بمرحلة المرض ، حجم الورم و الانبثاث [٥٢-٥٣]

المقاومة الكيميائية Chemoresistance

تعتبر مقاومة للعلاج الكيميائي سببا رئيسيا للوفيات في حالات السرطان المتقدم [٥٤] , يرتبط تعبير OPN بمقاومة الأدوية الكيميائية في العديد من أنواع السرطانات المنتشرة [٥٥] .

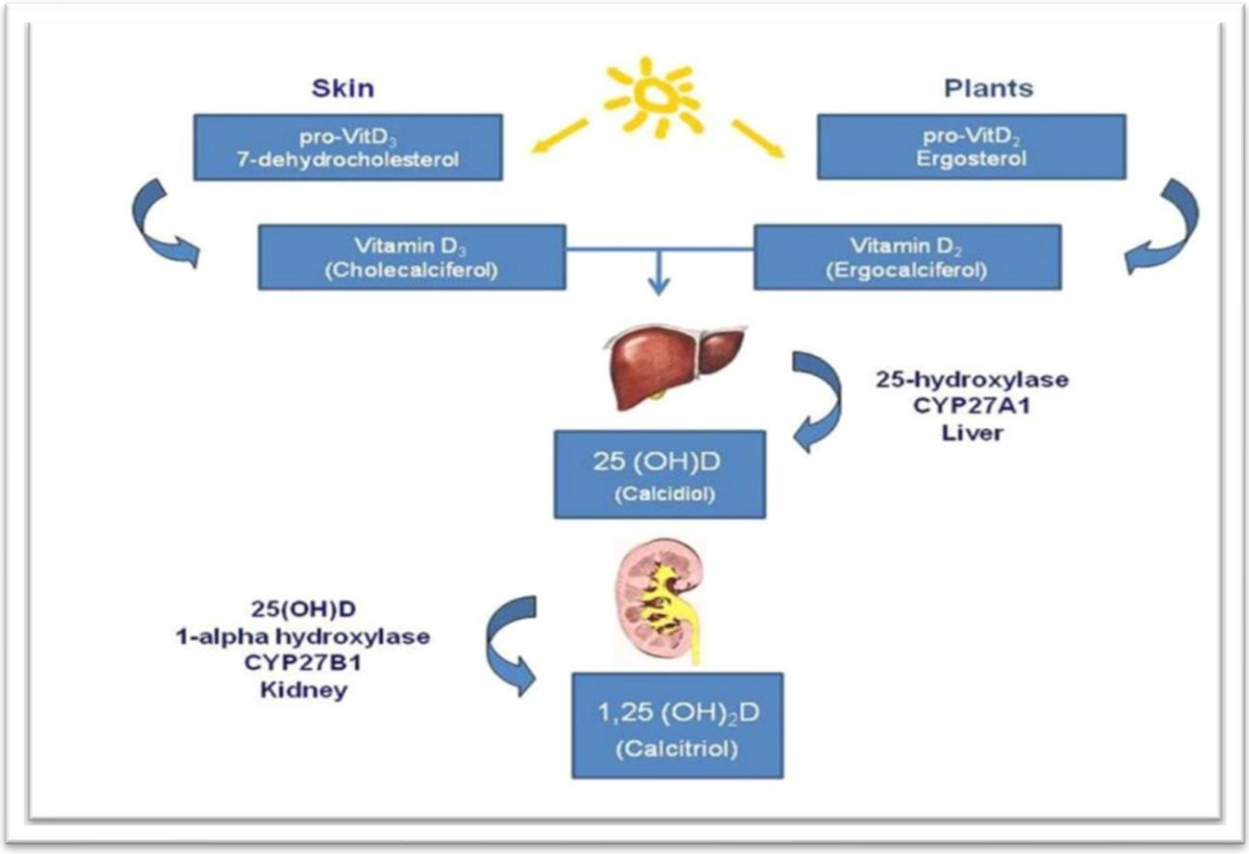
. تمنع مسار خلايا BC المعالجة بالدوكسوروبيسين موت الخلايا المبرمج المستحدثه من خلال تنشيط OPN بوساطة بروتينات ربط بين الاشارة من مستقبلات سطح الخلايا مع الحامض النووي / MAPK MEK1 [٥٦] . ويساهم OPN أيضًا في اكتساب مقاومة الأدوية في الخلايا السرطانية عن طريق زيادة التعبير عن تدفق نواقل الدواء [٥٤] .

فيتامين D3 ومرض السرطان Vitamin D3 and cancer.

تعتبر فيتامين D ضروري لتوازن وامتصاص المعادن و بشكل خاص الكالسيوم , الفوسفات , المغنسيوم من الامعاء , نمو العظام وتنظيم الجهاز المناعي وان نقصه يسبب مرض الكساح ، لين العظام ، هشاشة العظام وضعف العضلات وقد لوحظ ان نقصه عند النساء في سن الياس مرتبط بزيادة خطر الوفيات و الاصابة بسرطان الثدي[٥٧-٥٨] .

يسمى فيتامين دي Vitamin D كالسيفرول Calciferol وهومن المجموعة السيكو ستيرويدية Secosteroids, يوجد بهيئتين رئيسيتن هما ارغوكالسيفرول(فيتامين D_2)Ergocalciferol و كاليكالسيفرول (فيتامين D_3) Cholecalcifero [٥٩] .

عند ارتباط فيتامين D مع بروتينات عند ذاك يسمى فيتامين D المرتبط بالبروتين) Vitamin D binding protein (DBP و الذي يحمل الفيتامين الى الكبد حيث يتم تقويضه الى ٢٥-هيدروكسي فيتامين دي ٢٥ -hydroxy vitamin D بوساطة فيتامين ٢٥- D -هيدروكسليز Vitamin D-25-hydroxylase حيث ان الفيتامين D غير نشط بيولوجيا حيث يتم نقله الى الكبد ليتحول الى ٢٥ هيدروكسي فيتامين D (calcidiol) الغير نشط بواسطة انزيم { ٢٥-hydroxylase } , ومن ثم ينقل الى الكلية لزيادة التمثيل الغذائي حيث يتم تحوله الى ١، ٢٥ ثنائي هيدروكسي{ 1-25 Di hydroxylase} فيتامين D (calcitriol)النشط بيولوجيا بوساطة انزيم ١-٢٥-هيدروكسيD {25(OH)D 1-alpha hydroxylase} [٦٠]



شكل ١ : المسار الايضي لفيتامين D

طريقة العمل

تم في هذة الدراسة جمع ٦٠ عينة دم لمريضات ثبت اصابتهن بسرطان الثدي من قبل الطبيب المختص في مستشفى اورام الدم في محافظة كركوك وقسمت الى مجاميع ثانوية وهي (فئات العمرية للمريضات و مرحلة المرض , التدخين , مستقبلات الاستروجين ER وعامل النمو البشري HER2 ,واخيراً مجاميع انتشر الورم في جسمهن ومجموعه لم تنتشر بعد) و ٣٠ عينة لمجموعه السيطرة من متبرعات سليمات لم يعانين من امراض . وقد قيست تقيم مستوى الاوستيوبونتين (OPN) وكذلك فيتامين ٣ D في بلازما دم المريضات بسرطان االثدي ومجموعه السيطر في الدراسة .

تقدير مستوى الاوستيوبونتين Estimation of Osteopontin Level

تم قياس مستوى OPN في بلازما عينات الدراسة و للمجموعتين (BC و السيطرة) . و بالاستعانة بالعدة (Osteopontin(OPN الجاهزة ذات التسلسل SL1313Hu. و المجهزة من قبل شركة Sunlong Biotech.China بطريقة الاليزا ELSA .

و قرأ ت الامتصاصية Optical Density (OD) عند ٤٥٠nm حللت النتائج احصائياً وفق اختبار تحليل التباين باستخدام البرنامج الاحصائي SPSS .

قياس مستوى فيتامين D3 Estimation of Vitamin D3 Level

تم تحديد مستوى فيتامين D3 بتقنية فلورة المناعة المرتبطة بالانزيم (Enzyme Linked Immune Fluorescent ELIFA) Assay والتي قسمت المجموعتي(سيطرة و مريضاتBC)و على اساس الفئات العمرية وكذلك لمجموعتي المدخنات و الغير مدخنات للمريضات عن طريق العدة المجهزة ذات التسلسل SL1831Hu من قبل شركة Sunlong Biotech.China حيث ان شدة الامتصاصية تتناسب مع تركيز المستضد في العينة و تم حساب النتائج و الفحوصات تلقائيًا بواسطة جهاز VIDAS وعند ٤٥٠nm.

النتائج المناقشة

تبين نتائج من الجدول (١). لوحظ ارتفعاً معنويا في OPN عند مستوى احتمالية 0.0001 ≥Pفي بلازما مرضى BC مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث كانت (3.915±0.129 ng/mL) (ng/mL (0.185 ±0.253) على التوالي , نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع نتائج Bayraktar *et al* التي اكدت الدور البارز لارتفاع مستوى OPN في بلازما مرضى أنواع سرطان متعددة ومنها سرطان الثدي ودوره في تعزيز وغزو الخلايا السرطانية [٦١-٦٢] .

اذ يعد انتغرين αvβ3 المستقبل الأساسي لبروتين OPN الذي يعزز العديد من الوظائف منها الغزو وانتشار وتكوين اوعية دموية جديدة للورم وبالتالي ينشط كمَ هائل من الإشارات متعددة التي تعزز زيادة نسخ الجينات الخبيثة للورم [٣٦ -٦٣] بالإضافة الى تنشيط هرمونات معززة للورم [٦٤] وزيادة نشاط الايض الخلوي[٦٥].

جدول ١ : مستوى OPN في بلازما لمجموعتي السيطرة و المريضات .

Groups. No;	OPN; Mean ± SE(ng/ml)	P value
Control ; 30	0.253 ± 0.185	P≤ ٠,٠٠٠١
Patients ; 60	3.915 ± 0.129	

اما عند تحديد مستوى OPN في بلازما الفئات العمرية للمريضات BC و مجموعه السيطرة , لوحظ عدم وجود فروق معنوية عند مستوى OPN بين المجموعتين وهذا يتفق مع دراسة (Liu) [٦٦] ودراسات اخرى [٦٧-٦٨]. وكما مبين في الجدول (٢)

الجدول (٢) : مستوى OPN في بلازما لمجموعتي السيطرة و المريضات وبحسب الفئات العمرية .

Groups	OPN (Mean ± SE) ng/m L			P value
	years (24-39)	(40-55) years	(56-71) years	
Control	0.288 0.267±	±0.316^٨0.24	± 0.353^٣0.24	0.124
Patients	3.655 ± 0.218	^٣3.963 ± 0.2	4.126 ± 0.223	0.136

ومن النتائج في جدول (٣) تبين وجود فرق معنوي عند مستوى الأحتمالية ٠.٠٤٩ ≥ P في مستوى OPN في بلازما المرضى BC لمجموعه المدخنات (٠.٣٣١ng/mL ±٤.٠٩) مقارنة مع مجموعة الغير مدخنات (0.18ng/mL± 3.4) .وهذا توافقت مع ما توصل اليها (Reynolds, P.) [٦٩] حيث بين ان ارتفاع مستوى OPN لدى مرضى سرطان الحنجرة والمسالك الهوائية المرتبط بالتدخين. وهذة ترتبط بشكل مباشر مع مدة التدخين وكمية التدخين في اليوم الواحد لمريضات BC المدخنات. ان المواد الكيميائية الموجودة في دخان السكائر هي تعتبر (مركبات المطفرة)، مثل الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات [٧٠]، الأمينات العطرية والنيتروسامينات Nnitrosamines هي تعتبرمن المواد المسرطنه [٧١].

من النتائج التي توصلت اليها الدراسة ايضاً تؤكد تأثير مستقبلات HER2 على مستوى OPN في مصل مرضى BC وكما موضح في جدول (٣)، حيث لوحظ وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية P≤0.024 لدى المريضات لديهن مستقبلات HER2 Post (± 4.393 0.3112ng/mL) مقارنة بمجموعة المرضى اللواتي لديهن مستقبلات HER2 nag (0.177ng/mL ± 3.7) واتفقت هذه النتائج مع (Ortiz–Martínez, F) [٧٢]. لقد ارتفعت مستوى OPN لدى المريضات BC الحاملات HER2 Post وكذلك HER2 nag مع عدم وجود فرق معنوي بينهما، قد يعود السبب الى فترة انقطاع الطمث (سن الامل) او حدوث طفرة لجين BRCA1 عند المريضة [٧٣].

وعند ملاحظة المستوى OPNفي بلازما للمريضات BC قبل وبعد انتشار الورم بين الخلايا تبين ان ارتفاعاً معنوياً عند مستوى الاحتمالية P≤ 0.039. ففي مرحلة قبل انتشار المرض (٠.٣٦ ng/mL ± ٣.٧٠) وبعد انتشارها اصبحت المستوى (0.30ng/mL ± 4.47) مما يتفق مع دراسات سابقة السابقة [٧٤- ٧٥].

وكذلك من جدول (٣) لوحظ ارتفاعاً معنوياً عند مستوى P≤ 0.05 في بلازما النساء مرضى BC ذوات مستقبلات ER post (ng/mL 0.871 ± 4.14) مقارنة مع ذوات ER ngv (0.126 ng/mL ± 2.87) , قد يعزى الارتفاع في مستوىOPN لدى المرضات بالسرطان اللواتي يحملن مستوى عالي من +ER الذي ارتبطت بالعلاجات (ادوية) سرطانية الهرمونية (اورمانتيز Aromatase او ثايموكسفين Tamoxifen) وبذلك تتوقف الخلايا السرطانية على النمو و الانتشار ولكن بشكل مؤقت, نتائج الدراسة الحالية يتوافق مع دراسة Patani N, *et al* [٧٦].

ارتفع مستوى OPN في بلازما لمرضى BC في المرحلةالرابعة IV مقارنة مع المراحل الثانية , II (0.72ng/mL ± 4.57) و (0.86ng/mL ± 3.6) و التوالي بفرق معنوي عند مستوى P≤0.05 اتفقت هذه النتائج مع توصل الية , *et.al* Nassar [٤٢] والتي تتضمن الآليات الجزيئية وراء تكوين الأورام بوساطة OPN من خلال ربط OPN بإنتاجرين αvβ3 التي قد تنشط إشارات متعددة لانزيمات كوانسين ثلاثي الفوسفاتيز (Rho GTPase) Ras homologous GTPase بواسطة ميكانيكية تنشيط ليكاندات كابا) RANKL ligand Receptor activator of nuclear factor kappa–B)، إلى تنظيم التعبير عن CD44 و MMP–9 مما يؤدي إلى زيادة قدرة حركة الخلايا السرطانية و احداث ورم نقيلي [٦٤ - ٧٧].

جدول ٣:مستوى OPN في بلازما لمريضات BC بحسب المتغيرات المؤشرة .

المتغيرات	OPN,Mean± ng/ml	المتغيرات	OPN Mean ± ng/ml	P value
Smoker	4.09 ± 0.33	Non smoker	3.44 ± 0.18	NS
HER2 Post	4.392 ± 0.312	HER2 Ngat	3.698 ± 0.176	NS
Before Plifr	3.703 ± 0.36	After Plifr	4.14 ± 0.30	0.039
ER-	٢,٧٨±٠,١٢٦	+ER	٤,١٤±٠,٨٧١	0.05
Stage II	3.6 ± 0.86	Stage IV	4.57 ± 0.71	0.05

Proliferation = Plifr **

مستوى فيتامين D3 في البلازما لمجموعتي المريضات BC والسيطرة.

D3 level for the control and patient groups Vit

لوحظ من جدول (٤) انخفاضا معنويا عند مستوى الاحتمالية $p \leq 0.001$ في مستوى فيتامين D3 لأمصال نساء مصابات BC مقارنة بمجموعة السيطرة حيث كانت (47.05 ± 2.23)و (64.45 ±3.03) على التوالي ، وهذا يتفق مع دراسات اخرى [٥٩- ٧٨- ٧٩].

لقد اكدت دراسة ان Vitamin D 25–OH له دور ايجابي في توازن كالسيوم في العظام وان نقص الكالسيوم تؤدي الى انخفاض مستوى Vit D3 في بلازما لمريضات وان لها دور مهم في انها احدى المضادات السرطان بما في ذلك سرطان الثدي [٨٠].

جدول ٤: مستوى فيتامين Vit D3 في بلازما لمريضات BC ومجموعه السيطرة .

Groups No;	Mean± SE(ng/mL) D3 Vit	** P value
Control No; 30	64.45 ±3.03	P≤0.001
Patients No; 60	47.05 ± 2.23	

**: وجود فرق معنوي عند مستوى$P \leq 0.001$

تأثير الفئة العمرية على مستوى فيتامين D3 في مرضى سرطان الثدي

Age Effect on Vitamine D3 level in Breast Cancer Patients

بينت الجدول (٥) عدم وجود فروق معنوية بين الفئات العمرية للنساء المصابات عند مقارنتها مع نفس الفئات العمرية لمجموعة السيطرة وكذلك بين الفئات العمرية نفسها للنساء المصابات بسرطان الثدي وهذا يتفق مع دراسة سابقة [٥٩].

الجدول ٥ : مستوى Vit D3 في بلازما لمريضات BC ومجموعة السيطرة وبالفئات العمرية المختلفة.

Groups	Vit D3 Mean ± SE(ng/ml)			
	(24-39) years	(40-55)years	(56-71)years	P value
Control	66.23 ± 3.183	64.79 ± 2.018	64.79 ± 2.018	NS
Patients	47.02±2.2	46.298±2.05	44.46±2.08	NS

* S: عدم وجود فرق معنوي عند مستوى$P \leq 0.024$

تأثير التدخين على مستوى فيتامين D3 في مرضى سرطان الثدي

Smoking Effect on Vitamin Level in Breast Cancer Patients

من خلال الجدول (٦) تبين لنا وجود انخفاض معنويا عند مستوى $p \leq ٠.٠١٣$ لفيتامين D3 في بلازما المريضات BC لمجموعة المدخنات(45.892±3.23ng/mL) بالمقارنة مع الغير مدخنات (47.072 ±3.3 ng/mL) وهذه يتفق مع دراسة سابقة [٨١].و قد يعود السبب الى اليات تعبير جيني لشريط DNA او mRNA المثبطة لتخليق وتنشيط فيتامين D في الكبد او امتصاصه من اشعه الشمس عبر خلايا الجلد او بسبب المواد الكيميائية الضارة لدخان السجائر التي تضعف نشاط الفيتامين وبذلك يقل مستواه في الجسم والتي لها الدور السلبي للإصابة بأنواع مختلفة من السرطان منها BC [٨١]. ولأن التدخين هي مسبب التي تعمل على تثبيط الغدد الصماء لافراز هرمون جار الدرقية parathyroid hormone (PTH) وبالتالي تقل كفاءة امتصاص الكالسيوم وبسبب العلاقة التبادلية بين مستوى الأخير وD3 في الجسم لذا يلاحظ انخفاض مستوى D3 في الفئات العمرية المتقدمة وبشكل حاد لدى المدخنات منهن [٨١].

جدول ٦ : تأثير التدخين على مستوى فيتامين D3 في بلازما دم المريضات BC

Groups	Vit.D3 Mean ± SE (ng/mL)	**P value
Smokers -BC Non	47.072 ±3.3	

BC Smokers	45.9 ± 3.23	٠,٠١٣p≤

** انخفاض معنوي عند مستوى ٠,٠١٣p≤

المراجع

1- American Cancer Society. (2011). Breast Cancer Facts & Figures 2011-2012. Atlanta, Georgia: American Cancer Society.

2- American Cancer Society. (2017). Breast Cancer Facts and Figures. Atlanta, GA: American Cancer Society.

٣- Hsairi, M., Fakhfakh, R., Jlidi, R., Sellami, A., Zheni, S., Hmissa, S., Achour, N. and Nacef, T., 2002. Assessment of cancer incidence in Tunisia 1993-1997. *La Tunisie Médicale*, *80*(2), pp.57-64.

٤- Iraqi Cancer Registry. (2011). Ministry of Health. Bagdhad – Iraq

٥- Pike, M.C., Spicer, D.V., Dahmoush, L. and Press, M.F., 1993. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiologic reviews*, *15*(1), pp.17-35.

٦- Wang, M., Wu, X., Chai, F., Zhang, Y. and Jiang, J., 2016. Plasma prolactin and breast cancer risk: a meta-analysis. *Scientific reports*, *6*(1), p.25998.

٧- Castello, L.M., Raineri, D., Salmi, L., Clemente, N., Vaschetto, R., Quaglia, M., Garzaro, M., Gentilli, S., Navalesi, P., Cantaluppi, V. and Dianzani, U., 2017. Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression. *Mediators of inflammation*, *2017*.

٨- Soyal, S., Ismail, P.M., Li, J., Mulac-Jericevic, B., Conneely, O.M. and Lydon, J.P., 2002. Progesterone's role in mammary gland development and tumorigenesis as disclosed by experimental mouse genetics. *Breast cancer research: BCR*, *4*(5), pp.191-196.

٩- Horseman, N.D., 1999. Prolactin and mammary gland development. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, *4*, pp.79-88.

١0- Gimpl, G. and Fahrenholz, F., 2001. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. Physiological reviews, 81(2), pp.629-683.

11- Koš, M., Reid, G., Denger, S. and Gannon, F., 2001. Minireview: genomic organization of the human ERα gene promoter region. *Molecular endocrinology*, *15*(12), pp.2057-2063.

12- Althuis, M.D., Fergenbaum, J.H., Garcia-Closas, M., Brinton, L.A., Madigan, M.P. and Sherman, M.E., 2004. Etiology of hormone receptor–defined breast cancer: a systematic review of the literature. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, *13*(10), pp.1558-1568..

١٣ - Tsai, M.J. and O'Malley, B.W., 1994. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annual review of biochemistry*, *63*(1), pp.451-486.

14- Soyal, S., Ismail, P.M., Li, J., Mulac-Jericevic, B., Conneely, O.M. and Lydon, J.P., 2002. Progesterone's role in mammary gland development and tumorigenesis as disclosed by experimental mouse genetics. *Breast cancer research: BCR*, *4*(5), pp.191-196.

15 - Arif, K., 2014. *Evaluation of hormonal receptors in breast cancer drug therapy* (Doctoral dissertation, University of Lincoln).

16- Kim, K.J., Huh, S.J., Yang, J.H., Park, W., Nam, S.J., Kim, J.H., Lee, J.H., Kang, S.S., Lee, J.E., Kang, M.K. and Park, Y.J., 2005. Treatment results and prognostic factors of early breast cancer treated with a breast conserving operation and radiotherapy. *Japanese journal of clinical oncology*, *35*(3), pp.126-133.

17- Eccles, S.A., Aboagye, E.O., Ali, S., Anderson, A.S., Armes, J., Berditchevski, F., Blaydes, J.P., Brennan, K., Brown, N.J., Bryant, H.E. and Bundred, N.J., 2013. Critical research gaps and translational priorities for the successful prevention and treatment of breast cancer. *Breast Cancer Research*, *15*(5), pp.1-37.

18- Nattinger, A.B., 2005. Variation in the choice of breast-conserving surgery or mastectomy: patient or physician decision making?. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, *23*(24), pp.5429-5431.

19- Chabner, B.A. and Roberts Jr, T.G., 2005. Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews Cancer*, *5*(1), pp.65-72.

20- Marsh, WD. and Samuel, J. 2007. Chemotherapy. In: Essentials of Clinical Oncology.*1st ed. India*.pp. 127-153.

21- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 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. *The Lancet*, *366*(9503), pp.2087-2106.

22- Schmidt, S., Rainer, J., Ploner, C., Presul, E., Riml, S., & Kofler, R. 2013. Glucocorticoid-induced apoptosis and glucocorticoid resistance: molecular mechanisms and clinical relevance. *Cell Death & Differentiation*, *11*(1), S45-S55.

23- Aljanabi, E. H., 2018., Assessment of some Biochemical Parameters in Breast Cancer Patients, Ph.D. Thesis, University of Tikrit, Iraq.

24- Wood, WC., Muss, HB., Solin, LJ., et al. (2005) 'Malignant tumors of the breast', In: DeVita VT, Hellman S, and Rosenberg SA (eds.), Cancer: Principles and Practice of Oncology, 7th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1415-1477.

25- Mavaddat, N., Pharoah, P.D., Blows, F., Driver, K.E., Provenzano, E., Thompson, D., MacInnis, R.J., Shah, M., SEARCH Team mitul@ srl. cam. ac. uk, Easton, D.F. and Antoniou, A.C., 2010. Familial relative risks for breast cancer by pathological subtype: a population-based cohort study. *Breast Cancer Research*, *12*, pp.1-12.

26- Son, B.H., Ahn, S.H., Kim, S.W., Kang, E., Park, S.K., Lee, M.H., Noh, W.C., Kim, L.S., Jung, Y., Kim, K.S. and Noh, D.Y., 2012. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in non-familial breast cancer patients with high risks in Korea: the Korean Hereditary Breast Cancer (KOHBRA) Study. *Breast cancer research and treatment*, *133*, pp.1143-1152

27- Molina, P.E. and Molina, P.E., 2006. *Endocrine physiology*. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill.

28- Laycock, J. and Meeran, K., 2012. *Integrated Endocrinology*. John Wiley & Sons.

29- Meaden, C. and Chedrese, P.J., 2009. Androgens—Molecular Basis and Related Disorders. *Reproductive Endocrinology: A Molecular Approach*, pp.205-214.

30- Berrino, F., Muti, P., Micheli, A., Bolelli, G., Krogh, V., Sciajno, R., Pisani, P., Panico, S. and Secreto, G., 1996. Serum sex hormone levels after menopause and subsequent breast cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, *88*(5), pp.291-29.

31- Zakhary, M.M., Mahmoud, A.A. and Ahmed, W.B., 2018. Evaluation of some biomarkers in breast cancer patients. *Sohag Medical Journal*, *22*(1), pp.381-386..

32- Karpinsky, G., Fatyga, A., Krawczyk, M.A., Chamera, M., Sande, N., Szmyd, D., Izycka-Swieszewska, E. and Bien, E., 2017. Osteopontin: its potential role in cancer of children and young adults. *Biomarkers in Medicine*, *11*(4), pp.389-402.

33- Gerarduzzi, C., Hartmann, U., Leask, A. and Drobetsky, E., 2020. The matrix revolution: matricellular proteins and restructuring of the cancer microenvironment. *Cancer Research*, *80*(13), pp.2705-2717.

34- أحمد حازم أحمد.(٢٠٢٣) . تقدير مستوى الأوستيوبونتين ومؤشرات حيوية أخرى لدى مرضى سرطان البروستات: دراسة كيموحيوية ونانوية. رسالة دكتوراه في علوم الكيمياء الحياتية

35- Clemente, N., Raineri, D., Cappellano, G., Boggio, E., Favero, F., Soluri, M.F., Dianzani, C., Comi, C., Dianzani, U. and Chiocchetti, A., 2016. Osteopontin bridging innate and adaptive immunity in autoimmune diseases. *Journal of immunology research*, *2016*.

36- Nassar, H.R., Namour, A.E., Shafik, H.E., El Sayed, A.S., Kamel, S.M., Moneer, M.M. and Zakhary, N.I., 2015, March. Prognostic significance of plasma osteopontin level in breast cancer patients. In *Forum of Clinical Oncology* (Vol. 6, No. 1, pp. 27-32).

37- Kurzbach, D., Platzer, G., Schwarz, T.C., Henen, M.A., Konrat, R. and Hinderberger, D., 2013. Cooperative unfolding of compact conformations of the intrinsically disordered protein osteopontin. *Biochemistry*, *52*(31), pp.5167-5175.

38- Kariya, Y., Kariya, Y., Saito, T., Nishiyama, S., Honda, T., Tanaka, K., Yoshida, M., Fujihara, K. and Hashimoto, Y., 2015. Increased cerebrospinal fluid osteopontin levels and its involvement in macrophage infiltration in neuromyelitis optica. *BBA clinical*, *3*, pp.126-134.
39- Mazzali, M., Kipari, T., Ophascharoensuk, V., Wesson, J.A., Johnson, R. and Hughes, J., 2002. Osteopontin—a molecule for all seasons. *Qjm*, *95*(1), pp.3-13.
40- Chen, Q., Shou, P., Zhang, L., Xu, C., Zheng, C., Han, Y., Li, W., Huang, Y., Zhang, X., Shao, C. and Roberts, A.I., 2014. An osteopontin-integrin interaction plays a critical role in directing adipogenesis and osteogenesis by mesenchymal stem cells. *Stem cells*, *32*(2), pp.327-337.
41- Shao, L., Zhang, B., Wang, L., Wu, L., Kan, Q. and Fan, K., 2017. MMP-9-cleaved osteopontin isoform mediates tumor immune escape by inducing expansion of myeloid-derived suppressor cells. *Biochemical and biophysical research communications*, *493*(4), pp.1478-1484.

42- Lamort, A.S., Giopanou, I., Psallidas, I. and Stathopoulos, G.T., 2019. Osteopontin as a link between inflammation and cancer: the thorax in the spotlight. *Cells*, *8*(8), p.815.
43- Depalle, B., McGilvery, C.M., Nobakhti, S., Aldegaither, N., Shefelbine, S.J. and Porter, A.E., 2021. Osteopontin regulates type I collagen fibril formation in bone tissue. *Acta biomaterialia*, *120*, pp.194-202.
44- Kariya, Y. and Kariya, Y., 2022. Osteopontin in cancer: mechanisms and therapeutic targets. *International Journal of Translational Medicine*, *2*(3), pp.419-447.
45- Pang, X., Gong, K., Zhang, X., Wu, S., Cui, Y. and Qian, B.Z., 2019. Osteopontin as a multifaceted driver of bone metastasis and drug resistance. *Pharmacological research*, *144*, pp.235-244.
46- Fisher, L.W., Torchia, D.A., Fohr, B., Young, M.F. and Fedarko, N.S., 2001. Flexible structures of SIBLING proteins, bone sialoprotein, and osteopontin. *Biochemical and biophysical research communications*, *280*(2), pp.460-465.
47- Lamort, A.S., Giopanou, I., Psallidas, I. and Stathopoulos, G.T., 2019. Osteopontin as a link between inflammation and cancer: the thorax in the spotlight. *Cells*, *8*(8), p.815.
48- Gimba, E.R., Brum, M. and Nestal De Moraes, G., 2019. Full-length osteopontin and its splice variants as modulators of chemoresistance and radioresistance. *International Journal of Oncology*, *54*(2), pp.420-430.

49- Budzik, M. P., & Badowska-Kozakiewicz, A. M. (2018). The multidirectional role of osteopontin in cancer. Biuletyn Polskiego Towarzystwa Onkologicznego Nowotwory, 3(4), 218-225
50- Icer, M.A. and Gezmen-Karadag, M., 2018. The multiple functions and mechanisms of osteopontin. *Clinical biochemistry*, *59*, pp.17-24.

51- Moorman, H.R., Poschel, D., Klement, J.D., Lu, C., Redd, P.S. and Liu, K., 2020. Osteopontin: a key regulator of tumor progression and immunomodulation. *Cancers*, *12*(11), p.3379.
52- Hao, C., Cui, Y., Owen, S., Li, W., Cheng, S. and Jiang, W.G., 2017. Human osteopontin: Potential clinical applications in cancer. *International journal of molecular medicine*, *39*(6), pp.1327-1337.
53- Shiomi, A., Kusuhara, M., Sugino, T., Sugiura, T., Ohshima, K., Nagashima, T., Urakami, K., Serizawa, M., Saya, H. and Yamaguchi, K., 2021. Comprehensive genomic analysis contrasting primary colorectal cancer and matched liver metastases. *Oncology Letters*, *21*(6), pp.1-13.
54- Mansoori, B., Mohammadi, A., Davudian, S., Shirjang, S. and Baradaran, B., 2017. The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review. *Advanced pharmaceutical bulletin*, *7*(3), p.339.
55- Gimba, E.R., Brum, M. and Nestal De Moraes, G., 2019. Full-length osteopontin and its splice variants as modulators of chemoresistance and radioresistance. *International Journal of Oncology*, *54*(2), pp.420-430. .
56- Cao, L., Fan, X., Jing, W., Liang, Y., Chen, R., Liu, Y., Zhu, M., Jia, R., Wang, H., Zhang, X. and Zhang, Y., 2015. Osteopontin promotes a cancer stem cell-like phenotype in hepatocellular carcinoma cells via an integrin–NF-κB–HIF-1α pathway. *Oncotarget*, *6*(9), p.6627.
57- Khriesha, A., Bustanji, Y., Abu Farha, R., Al-Abbasi, R. and Abu-Irmaileh, B., 2021. Evaluation of the potential anticancer activity of different vitamin D metabolites on colorectal and breast cancer cell lines. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, *42*(1), pp.3-9.

58- Jacobs, E.T., Kohler, L.N., Kunihiro, A.G. and Jurutka, P.W., 2016. Vitamin D and colorectal, breast, and prostate cancers: a review of the epidemiological evidence. *Journal of Cancer*, *7*(3), p.232.
59-- LOX عمر علي كنوش الجبوري. (٢٠١٧). تنقية انزيم الليبوكسجنيز وتقدير بعض المتغيرات الكيمو حيوية في أمصال المصابات بسرطان الثدي. [رسالة ماجستير]. جامعة تكريت.
60- Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, 1997. *Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride*. Dietary Reference Intakes (Pap).
61- Bayraktar, S., Thompson, P.A., Yoo, S.Y., Do, K.A., Sahin, A.A., Arun, B.K., Bondy, M.L. and Brewster, A.M., 2013. The Relationship Between Eight GWAS-Identified Single-Nucleotide Polymorphisms and Primary Breast Cancer Outcomes. *The Oncologist*, *18*(5), pp.493-500.

62- Zakhary, M.M., Mahmoud, A.A. and Ahmed, W.B., 2018. Evaluation of some biomarkers in breast cancer patients. *Sohag Medical Journal*, *22*(1), pp.381-386.

63- Kariya, Y. and Kariya, Y., 2022. Osteopontin in cancer: mechanisms and therapeutic targets. *International Journal of Translational Medicine*, *2*(3), pp.419-447.\
64- Zhao, H., Chen, Q., Alam, A., Cui, J., Suen, K.C., Soo, A.P., Eguchi, S., Gu, J. and Ma, D., 2018. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell death & disease*, *9*(3), pp.1-15.
65- Rodrigues, L.R., Teixeira, J.A., Schmitt, F.L., Paulsson, M. and Lindmark-Mänsson, H., 2007. The role of osteopontin in tumor progression and metastasis in breast cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, *16*(6), pp.1087-1097.
66- Liu, Y., Ye, G., Dong, B., Huang, L., Zhang, C., Sheng, Y., Wu, B., Han, L., Wu, C. and Qi, Y., 2022. A pan-cancer analysis of the oncogenic role of secreted phosphoprotein 1 (SPP1) in human cancers. *Annals of translational medicine*, *10*(6).
67- Bayraktar, S., Thompson, P.A., Yoo, S.Y., Do, K.A., Sahin, A.A., Arun, B.K., Bondy, M.L. and Brewster, A.M., 2013. The Relationship Between Eight GWAS-Identified Single-Nucleotide Polymorphisms and Primary Breast Cancer Outcomes. *The Oncologist*, *18*(5), pp.493-500.
68- Liu, Y., Lei, H., Zhang, J., Wang, J., Li, K. and Dong, W., 2015. Associations between the genetic polymorphisms of osteopontin promoter and susceptibility to cancer in Chinese population: a meta-analysis. *Plos one*, *10*(8), p.e0135318
69- Reynolds, P., 2013. Smoking and breast cancer. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, *18*, pp.15-23.
70- Pedersen, J.E., Strandberg-Larsen, K., Andersson, M. and Hansen, J., 2021. Breast cancer among Danish women occupationally exposed to diesel exhaust and polycyclic aromatic hydrocarbons, 1964–2016. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, *47*(2), p.154.
71- Sheikh, I.A., Beg, M.A. and Yasir, M., 2017. Molecular Interactions of Carcinogenic Aromatic Amines, 4-Aminobiphenyl and 4, 4'-Diaminobiphenyl, with Lactoperoxidase–Insight to Breast Cancer. *Anticancer Research*, *37*(11), pp.6245-6249.

72- Ortiz-Martínez, F., Perez-Balaguer, A., Ciprián, D., Andrés, L., Ponce, J., Adrover, E., Sánchez-Payá, J., Aranda, F.I., Lerma, E. and Peiró, G., 2014. Association of increased osteopontin and splice variant-c mRNA expression with HER2 and triple-negative/basal-like breast carcinomas subtypes and recurrence. *Human pathology*, *45*(3), pp.504-512.
73- Alluri, P. and Newman, L.A., 2014. Basal-like and triple-negative breast cancers: searching for positives among many negatives. *Surgical Oncology Clinics*, *23*(3), pp.567-577.
74- Sangaletti, S., Tripodo, C., Sandri, S., Torselli, I., Vitali, C., Ratti, C., Botti, L., Burocchi, A., Porcasi, R., Tomirotti, A. and Colombo, M.P., 2014. Osteopontin shapes immunosuppression in the metastatic niche. *Cancer research*, *74*(17), pp.4706-4719.
75- Khogaly, R.S.E., Abdrabo, A.A., Hussein, W.A., Gurashi, R.E. and Ismail, A.M., 2022. Association between Osteopontin and Hormone Receptor Status among Breast Cancer Patients. *Pakistan Journal of Medical & Health Sciences*, *16*(12), pp.447-447.
76- Patani, N., Jouhra, F., Jiang, W. and Mokbel, K., 2008. Osteopontin expression profiles predict pathological and clinical outcome in breast cancer. *Anticancer research*, *28*(6B), pp.4105-4110.

77- Yu, A., Xie, K., Xing, C., Qin, Q., Liu, L. and Zu, X., 2020. Osteopontin as a novel biomarker for the prognosis and clinical pathology of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis.

78- Machado, M.R.M., de Sousa Almeida-Filho, B., Vespoli, H.D.L., Schmitt, E.B., Nahas-Neto, J. and Nahas, E.A., 2019. Low pretreatment serum concentration of vitamin D at breast cancer diagnosis in postmenopausal women. *Menopause*, *26*(3), pp.293-299.

79- Palmer, J.R., Gerlovin, H., Bethea, T.N., Bertrand, K.A., Holick, M.F., Ruiz-Narvaez, E.N., Wise, L.A., Haddad, S.A., Adams-Campbell, L.L., Kaufman, H.W. and Rosenberg, L., 2016. Predicted 25-hydroxyvitamin D in relation to incidence of breast cancer in a large cohort of African American women. *Breast cancer research*, *18*, pp.1-10.

80- Shao, T., Klein, P. and Grossbard, M.L., 2012. Vitamin D and breast cancer. *The oncologist*, *17*(1), pp.36-45.

81- Parva, N.R., Tadepalli, S., Singh, P., Qian, A., Joshi, R., Kandala, H., Nookala, V.K. and Cheriyath, P., 2018. Prevalence of vitamin D deficiency and associated risk factors in the US population (2011-2012). *Cureus*, *10*(6).