



تقدير فعالية الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي عند المصابات بسرطان الثدي في مدينة كركوك

فراح غالي الصالحي¹ ، اسراء اسماعيل ياسين² ، ايمان دانيار عبدالوهاب³

جامعة تكريت /كلية العلوم/قسم علوم الحياة¹ ، جامعة تكريت/كلية التربية للبنات /قسم الكيمياء^{2,3}

Adel83canon@gmail.com³ altaiiasr@gmail.com²

dr.f.g.alslihi@gmail.com¹

المخلص

تضمنت الدراسة الحالية قياس فعالية انزيمي الفوسفاتيز الحامضي (AP) والفوسفاتيز الحامضي البروستاتي (PAP) في امصال النساء المصابات بسرطان الثدي ، إذ شملت الدراسة (58) عينة مرضية للنساء المصابات بسرطان الثدي اللواتي يراجعن (مركز سرطان الثدي) في مستشفى آزادي التعليمي في كركوك تراوحت اعمارهن بين (17-80) سنة ، وكذلك (58) عينة من امصال الدم للأصحاء (مجموعة السيطرة) تراوحت اعمارهن بين (20-80) سنة. وقد أوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي عند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) في فعالية كلا الأنزيمين AP و PAP عند النساء المصابات بسرطان الثدي مقارنة مع الأصحاء. من خلال تلك النتائج يمكن الاستنتاج انه بالامكان استخدام انزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي PAP كمؤشر للإصابة بسرطان الثدي .

الكلمات الدالة: سرطان الثدي ، الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي



Determination the activity of prostatic acid phosphatase women with breast cancer in Kirkuk City

Ferah G. Al-Salihi ¹ , Asra'a I. Yaseen² , Eman D. Abdul Wahab ³

¹College of Science/ Tikrit University, ^{2,3}College of Education of Women/ Tikrit University

Adel83canon@gmail.com³ altaiiasr@gmail.com²

dr.f.g.alslihi@gmail.com¹

ABSTRACT

The current study included estimation of Acid Phosphatase (AP) and Prostatic Acid Phosphatase (PAP) activity in the sera of Breast Cancer patients. The study included (58) samples as satisfactory sample of women with breast cancer who are treated at (Breast cancer Center) in Azadi teaching hospital in Kirkuk, age ranged from (17-80) years old, and (58) samples from healthy people (control group) aged between (20-80) years old. The results showed significal elevation in the AP and PAP activity in breast cancer patients compared with control group. From the results above concluded that it is possible to use the enzyme prostatic acid phosphatase PAP as an indicator of breast cancer .

Keywords: Breast cancer , Prostatic acid phosphatase .



١-المقدمة (Introduction) .

سرطان الثدي هو شكل من اشكال الأورام السرطانية التي تصيب انسجة الثدي وعادة ما يظهر في قنوات الأنابيب التي تحمل الحليب الى الحلمة وغدد الحليب [1]، يصيب النساء والرجال على السواء ولكن الإصابة لدى الذكور نادرة الحدوث، اذ انه مقابل كل 200 اصابة للنساء توجد اصابة واحدة فقط للرجال [2]

يبدأ سرطان الثدي عندما تبدأ خلاياه بالنمو والتميز بشكل غير طبيعي، حيث ان مجموعة الخلايا التي تنقسم وتتضاعف بسرعة يمكن ان تشكل قطعة او كتلة من الأنسجة الإضافية وهذه الكتل النسيجية تدعى الأورام، التي تكون سرطانية (خبيثة) أو غير سرطانية (حميدة)، فالأورام الخبيثة تتكاثر وتدمر أنسجة الجسم السليمة ويمكن لبعض الخلايا ضمن الورم ان تنفصل وتنتشر بعيداً الى أجزاء أخرى من الجسم وهذا الانتشار من منطقة الى اخرى يسمى انبثاث [3]. أنزيم الفوسفاتيز الحامضي (EC 3.1.3.2) ، يستخدم لتحرير مجموعات الفوسفوريل المرفقة من الجزيئات الأخرى أثناء الهضم ، ويطلق عليه Phosphomonoesterase. تقترح الدراسات ان انزيمات الفوسفاتيز لها اهمية كبيرة في تنظيم العمليات الايضية كأهمية انزيمات Kinase [4]. استعملت طرق عدة لفصل متناظرات AP اعتمادا على الشحنة او الوزن الجزيئي ، فقد تم فصل ثلاث متناظرات من امصال دم اشخاص طبيعيين ، وخمس متناظرات من من دم المصابين بمرض كاوشر [5] ، وقد تم فصل ثلاث متناظرات من دم المصابين بسرطان الرئة [6]. ان اهمية متناظرات الفوسفاتيز الحامضي تبرز في تشخيص بعض الامراض كارتفاع PAP في دم المصابين بسرطان البروستات بسبب زيادة عدد الخلايا التي تصنع الانزيم [7].

الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي (E.C.3.1.3.2) انزيم ينتمي الى عائلة الفوسفاتيز الحامضي ، يعمل على تحلل مجموعة متنوعة من استرات احادية الفوسفات phosphomonoesters العضوية الصغيرة في وسط حامضي ذو اس هيدروجيني (٤ - ٦) [8].

PAP وايضاً الفوسفاتيز الحامضي المتخصص بالبروستات (PSAP) prostatic specific acid phosphatase انزيم تنتجه البروستات ، قد يكون موجود بكميات متزايدة في الرجال الذين لديهم سرطان البروستات او امراض اخرى [9]. انزيم PAP بروتين سكري Glycoprotein ، يصنع في غدة البروستات ، ويُعد من متناظرات الفوسفاتيز الحامضي ويعمل على تحلل استر الفوسفات في وسط حامضي [10].



حددت عدد من الدراسات ان نسبة تركيز أنزيم يعد مؤشراً وعامل تشخيصي مهم للفشل الكيموحيوي والتكرار السريري لسرطان البروستات (PC) prostate cancer [11]، إذ استخدم بصورة رئيسية لمراقبة الاستجابة للنهج العلاجية وتحديد الحالة السريرية للمرضى فالمستويات العالية للأنزيم ترتبط مع زيادة تطور المرض وانتشاره [12]. واثبت McNeel وجماعته ان لقاح الحامض النووي DNA يشفر لـ PAP والذي يمكن ان يثير استجابة خلية مستضد محدد T في المرضى بسرطان البروستات [13]. وعلاوة على ذلك فقد صمم Small وجماعته منتج كعلاج مناعي لتحفيز خلايا T المناعية ضد PAP [14]، لذا يعد PAP انزيما مهما فيما يتعلق بتشخيص سرطان البروستات [15].

نظراً لقلة الدراسات المتعلقة بأنزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي PAP وعلاقته بسرطان الثدي عند النساء ، لذلك فقد ارتأينا في الدراسة الحالية دراسة مستوى انزيمي الفوسفاتيز الحامضي AP والفوسفاتيز الحامضي البروستاتي PAP للمصابات بسرطان الثدي في المراحل العمرية المختلفة.

٢- العينات وطرائق العمل (Experimental)

مجموعة السيطرة *Control Group*

تضمنت الدراسة (58) عينة من مصل الدم للإناث الأصحاء بعد التأكد من تمتعهن بصحة جيدة ولايعانين من اية امراض ، تراوحت اعمارهن ما بين (20-80) سنة.

مجموعة المرضى *patient group*

جمع (58) عينة دم من النساء المصابات بمرض سرطان الثدي بعد تشخيصهن من قبل اخصائيين ومراجعتن الدورية للعلاج ، وتراوحت اعمارهن بين (17-80) سنة من مستشفى آزادي التعليمي في كركوك.

تحضير مصل الدم *Preparation of Serum*

تم سحب (5 mL) من عينات الدم في أنابيب بلاستيكية disposable tube جافة ونظيفة وفصل الجزء المتخثر عن المحلول الرائق باستعمال جهاز الطرد المركزي بسرعة (2500)

Web Site: www.kujss.com Email: kirkukjournsci@yahoo.com,

kirkukjournsci@gmail.com



دورة/دقيقة لمدة عشرة دقائق إذ يمثل المحلول الرائق مصل الدم. استخدم مباشرة لقياس فعالية انزيمي PAP و ACP .

قياس فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي *prostatic acid phosphatase*

المبدأ الأساس: *Principle*

استعملت الطريقة المطورة من قبل (Fishman & Lerner ,1952) [16]، إذ يعمل انزيم الفوسفاتيز الحامضي بوسط حامضي على تحلل paranitrophenylphosphate(PNPP) الى phosphate و paranitrophenol ، اما عند وجود L-Tartrate ، يكون non prostatic acid phosphatase (NPAP) فعال. يتم إيقاف التفاعل بوسط قاعدي ، وتقاس شدة المعقد الملون عند الطول الموجي 405 نانوميتر.

Total acid phosphatase :

$$TAP (IU/L) = A1 \times 54$$

Prostatic acid phosphatase:

$$PAP (IU/L) = (A1 - A2) \times 54$$

٣- النتائج والمناقشة (Results & Discussion)

شملت الدراسة على (58) حالة مرضية للنساء المصابات بسرطان الثدي اللواتي سبق وان شخصت حالتهم من قبل الاخصائيين في مستشفى آزادي التعليمي في كركوك . تراوحت اعمارهن ما بين (17 - 80) سنة. كما شملت الدراسة على (58) عينة من نساء سليمات كمجموعة ضابطة ، وتراوحت اعمارهن بين (20 - 80) سنة.

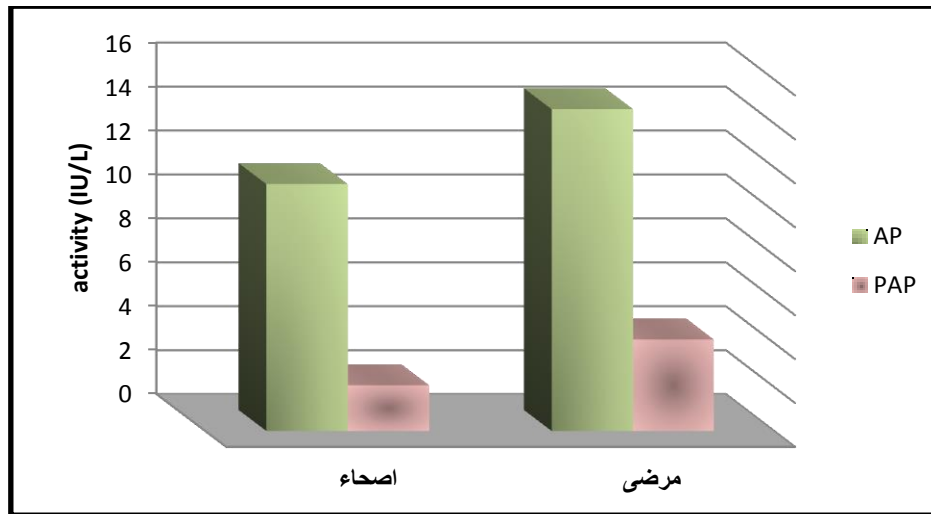
مستوى فعالية انزيمي الفوسفاتيز الحامضي (AP) والفوسفاتيز الحامضي البروستاتي (PAP) في النساء المصابات بسرطان الثدي:

شملت الدراسة قياس فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي والفوسفاتيز البروستاتي في امصال النساء المصابات بسرطان الثدي والأصحاء باستخدام طريقة (Fishman & Lerner (1952), [16] . إذ يبين الجدول (1) معدل فعالية الانزيمين AP و PAP في امصال المصابات بسرطان الثدي والأصحاء .

الجدول (1): المتوسطات \pm الانحراف المعياري لفعالية الانزيمين AP و PAP في امصال الاصحاء والمصابات بسرطان الثدي

الحالاً	العدد	AP (IU/L) Mean \pm SD	PAP (IU/L) Mean \pm SD
الأصحاء	58	11.24 \pm 4.41	2.08 \pm 1.40
المرضى	58	14.65 \pm 6.89	4.17 \pm 3.67
P value		0.05	0.05

وعند اجراء المقارنة احصائياً تبين وجود ارتفاعاً معنوياً في فعالية كلا الانزيمين مقارنة مع الأصحاء بمستوى احتمالية $P < 0.05$ ، ويتوضح ذلك من خلال الشكل (1).



الشكل (1): يوضح فعالية AP و PAP في امصال دم النساء الاصحاء والمصابات بسرطان الثدي

كذلك تم دراسة تأثير العمر على فعالية كلا الانزيمين (AP) و (PAP) اذ أظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) وجود زيادة معنوية في تركيز الانزيمين في مصل دم المصابات بسرطان الثدي مع تقدم العمر مقارنة بالأصحاء.

الجدول (2): المتوسطات \pm الانحراف المعياري لفعالية الانزيمين AP و PAP في امصال المصابات بسرطان الثدي ومقارنته بالأصحاء حسب العمر



PAP (IU/L)		AP (IU/L)		الفئات العمرية
Mean ± SD		Mean ± SD		
المرضى	الإصحاء	المرضى	الإصحاء	
3.244±3.471	2.061±1.432	12.807±7.203	10.740±3.963	20-40
4.271±3.622	2.199±1.426	14.906±7.042	12.437±5.058	41-60
4.158±4.091	1.350±0.764	14.555±6.737	9.855±7.369	61-80

تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه Tavassoli وجماعته (1981) [17] و Filmus وجماعته (1984) [18] من ازدياد فعالية أنزيم الفوسفاتيز الحامضي الكلي AP في أورام الثدي الخبيثة أكثر من انسجة الثدي السليمة. وكذلك أشارت دراسات سابقة Koudstall (1975) [19] [20] Machinami(1976) [20] من خلال استخدام التقنيات النسيجية زيادة مستويات AP الكلي في أورام انسجة الثدي الخبيثة نسبة الى الاورام الحميدة والأنسجة السليمة ، وكذلك وجد العديد من الباحثين زيادة مستويات AP الكلي في مصل الدم في عدد كبير من المرضى الذين يعانون من سرطان الثدي الخبيث [21] [22].

وتتفق نتائج دراستنا الحالية بارتفاع مستوى انزيم الفوسفاتيز الحامضي البروستاتي مع ما توصل اليه Yam وجماعته (1981) [23] و Wang وجماعته (2005) [24] بأن هذا الارتفاع لا يعود فقط الى سرطان البروستات وانما في امراض اخرى مثل ابيضاض الخلايا الحبيبية granulocytic leukemia وسرطان الثدي والقولون .

استخدم PAP بصورة رئيسية لمراقبة استجابة النهج العلاجية وتحديد الحالة السريرية للمرضى فالمستويات العالية ترتبط مع زيادة تطور المرض وانتشاره [25]. اذ ان لمستويات PAP امرا مهما في اتخاذ القرارات العلاجية كتوقع كفاءة الجراحة على مريض معين [26].



ولاحظ Wernert وجماعته (1999) [27] وجود أدلة تشير بأن المستضد الخاص بالبروستات (Prostate-specific antigen(PSA) غير متخصص بالبروستات عند الرجال وذلك لوجوده في أنسجة أخرى عند النساء كالثدي والمبيض .

وقد توصل Diamandis وجماعته (1994) [28] بأن إنتاج PSA من الثدي ينظم بميكانيكية تتضمن تشويش التوازن بين الهرمونات الستيرويدية وبالأخص الأندروجين والبروجسترون ومستقبلاتها. وكذلك لوحظ بان موانع الحمل الفموية تلعب دوراً مهماً في تحفيز إنتاج PSA في الثدي [29] ، في حين توصل Diamandis (1996) [30] الى وجود المستضد الخاص بالبروستات (Prostate-specific antigen(PSA) في انسجة الورم الحميد والخبيث للثدي.

وجد PAP بكميات كبيرة في سائل تكيس الثدي (BCF) [31]. اذ قد يوحي وجوده في سائل تكيس الثدي لدوره المحتمل في تطوير سرطان الثدي من امراض الثدي الكيسي، مما يشير الى دور PAP في حماية العديد من الاورام السرطانية عن طريق تنشيط Transforming growth factor- Beta(TGF-B) كجزيء مماثل ل PSA [32].



(References) المصادر

- [1] Sariego, J. (2010) "*Breast cancer in the young patient* " The American surgeon,76(12):١٤٠ –١٣٩٧ .
- [2] Jemal, A.; Siegel R.; Ward E.; Xu, J. (2010). "*Cancer Statistics, 2010*" CA Cancer Journal for Clinicians. 60, 277 - 300.
- [3] Wong, S.C.; Chan, C.M.; Ma, B.B. (2009). "*Advanced photometric technologies for biomarker discovery*" Expert Rev. proteomics, 6(2):123-134
- [4] Vincent, J.B.; Crowder, M.W.; Averill, B.A. (1992). "*Hydrolysis of phosphate monoesters: a biological problem with multiple chemical solutions*" Trends Biochem. Sci., 17(3):105-10.
- [5] Grundig, E.; Czitober, H.; Schobel, B. (1965). "*Comparative examination of 'acid' plasma phosphatase in various bone disease*" Clin. Chim. Acta., 12: 157-169.
- [6] Mercer, D. (1977)." *Separation of tissue and serum acid phosphatase isoenzymes by ion-exchange column chromatography*" Clin. Chem., 23 (4):653-8.



[7] Gutman, A. and Gutman, E. (1938). "***An acid phosphatase occurring in the serum of patients with metastasizing carcinoma of the prostate gland***" J. Clin. Invest., 17(4): 473-478.

[8] Lin, M.F.; Lee, C.L.; Li, S.S.; Chu, T.M. (1983). "***Purification and characterization of a new human prostatic acid phosphatase isoenzyme***" Biochemistry, 22:1055–1062.

[9] Walter F.B. (2003). "***Medical Physiology: A Cellular And Molecular Approach***" Elsevier/Saunders. p. 1300. Page 1135-1136.

[10] Azumi, N.; Traweek, S.T.; Battifora, H. (1991). "***Prostatic acid phosphatase in carcinoid tumors. Immunohistochemical and immunoblot studies***" Am. J. Surg. Pathol., 15(8): 785 – 790.

[11] TAIRA, A.; MERRICK, G.; WALLNER, K.; DATTOLI, M. (2007).
REVIVING THE ACID PHOSPHATASE TEST FOR PROSTATE CANCER"
ONCOLOGY,21:1003–1010.

[12] Soletormos, G.; Semjonow, A.; Sibley, P.E.C.; Lamerz, R. (2005). "***Biological Variation of Total Prostate-Specific Antigen: A Survey of Published Estimates and Consequences for Clinical Practice***" Clinical Chemistry, 51(8):1342-1351

[13] McNeel, D.G.; Dunphy, E.J.; Davies, J.G. *et al.* (2009). "***Safety and immunological efficacy of a DNA vaccine encoding prostatic acid phosphatase in patients with stage D0 prostate cancer***" J. Clin. Oncol. 27(25): 4047–4054.

[14] Small, E.J.; Schellhammer, P.F.; Higano, C.S. *et al.* (2006). "***Placebo-controlled Phase III trial of immunologic therapy with***



sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer" J. Clin. Oncol., 24(19): 3089–3094.

[15] Saito, T.; Kitamura, Y.; Komatsubara, S. (2006). "*Prognosis of prostate cancer with elevated prostatic acid phosphatase*" Hinyokika Kyo, 52(3): 177–180.

[16] Fishman W.H. & Lerner, F.(1952). "*A new method for estimating serum acid phosphatase of prostatic origin applied to the clinical investigation of cancer of the prostate*" J.Bio.Chem., 200: 89

[17] Tavassoli, M.; Rizo, M.; Johnson, R.B. (1981). "*Acid phosphatase activity in the cytosol fraction of the breast cancer tissue*" Cancer, 47(5):895-898.

[18] Filmus, J. E.; Podhajcer, O. L.; Mareso, E.; Guman, N.; Mordoh, J. (1984). "*Acid phosphatase in human breast cancer tissue*" Cancer, 53(2): 301-305.

[19] Koudstaal, J.; Makkink, B.; Overdiep, S.H. (1975). "*Enzyme histochemical patterns in human tumors: 1. Hydrolytic enzymes in carcinoma of the colon and breast*" Europ. J. Cancer Clin. Oncol, 11:105-109.

[20] Machinami, R. (1976). "*Histological grading, histochemistry, and electron microscopy of scirrhous carcinoma of the breast*" Gan, 67: 11-24.

[21] Jegatheesan, K.A.; Joplin, G.F. (1962). "*Correlation of serum glycolytic enzymes and acid phosphatases with sites of metastases in mammary carcinomatosis*" Br Med J, 12331-834.

[22] Tavassoli, M.; Rizo, M.; Yam, L.T. (1980). "*Elevation of serum acid phosphatase in cancer with bone metastases*" Cancer, 45:2400-2403.



- [23] Yam, L.T.; Janckila, A.J.; Li, C.Y.; Lam, W.K. (1981). ***"Presence of "prostatic" acid phosphatase in human neutrophils"*** Invest Urol, 19: 34-8.
- [24] Wang ,Y.; Harada, M.; Yano, H.; Ogasawara, S.; Takedatsu, H. *et al.* (2005). ***"Prostatic acid phosphatase as a target molecule in specific immunotherapy for patients with nonprostate adenocarcinoma"*** J. Immunother, 28:535–541
- [25] Wu, J. (1997). ***"Individual tumor markers. In Human Circulating Tumor Markers.*** (Wu, J., Nakamura, R., ed.). 179-214. Chicago, IL: American Society of Clinical Pathologists
- [26] Soletormos, G.; Semjonow, A.; Sibley, P.E.C.; Lamerz, R. (2005). ***"Biological Variation of Total Prostate-Specific Antigen: A Survey of Published Estimates and Consequences for Clinical Practice "*** Clinical Chemistry, 51(8):1342-1351
- [27] Wernert, N.; Albrech, M.; Sesterhenn, J. *et al.* (1992). ***"The Female Prostate : Location morphology , immunohistochemical characteristics and significance"*** Eur. Urol., 22: 64-69.
- [28] Yu, H.; Diamandis, E.P.; Zarghami, N.; Grass, L.(1994). ***"Induction of prostate specific antigen production by steroids and tamoxifen in breast cancer cell lines"*** Breast Cancer Res Treat, 32: 291-300.
- [29] Yu, H.; Diamandis, E.P.; Monne, M.; Croce, C.M. (1995).***"Oral contraceptive-induced expression of prostate specific antigen in the female breast"*** J. Biol. Chem., 270: 6615-6618.
- [30] Yu, H.; Diamandis, E.P.; Levesque, M.; Giai, M.; Roagna, R.; *et al.* (1996). ***"Prostate specific antigen in breast cancer, benign breast disease and normal breast tissue"*** Breast cancer research and treatment, 40(2): 171-178.



[31] Erbas, H.; Erten, O.; Irfanoglu, M.E. (2007). "*Prostatic acid phosphatase in breast cyst fluid*" Malays J Pathol, 29(2): 95-9.

[32] Lai, L. C.; Erbas, H.; Lennard, T. W.; Peaston, R. T. (1996). "*Prostate-specific antigen in breast cyst fluid: Possible role of prostate-specific antigen in hormone-dependent breast cancer*" International journal of cancer, 66(6): 743-746.