

The Association of the MTHFR Gene Polymorphisms with Breast Cancer Susceptibility

Ahmad Hamta^{1*} , Zahra Bozorgi Moghadam¹ 

¹Dept of biology, Faculty of science, Arak University, Arak, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:

Received: 02 January 2022
Revised: 02 June 2022
Accepted: 18 June 2022
Published Online: 21 January 2023

* Correspondence to:

Ahmad Hamta
Dept of biology, Faculty of science,
Arak University, Arak, Iran.
Email:
a-hamta@araku.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Breast cancer is the most common malignancy in women worldwide. It is also the second leading cause of cancer death among women after lung cancer. Considering the relationship among plasma folate levels, the level of uracil, and DNA damage in cell division, methyl tetrahydrofolate reductase (MTHFR) is a suitable candidate for studies on the susceptibility to cancer, including breast cancer. This study aimed to investigate the relationship between two polymorphisms in the MTHFR gene and the risk of breast cancer among women in Markazi Province, Iran.

Material & Methods: This case-control study investigated the rs1801131 and rs1801133 polymorphisms of the MTHFR gene and breast cancer risk in a large population including 80 patients and 80 healthy women in Markazi Province, Iran, using the PCR-RFLP technique. The specimens were genotyped by agarose gel electrophoresis. Finally, the data were analyzed in SPSS software (version 26).

(Ethic code: IR.ARAKMU.REC.1396.25)

Findings: There was a statistically significant difference between the two groups of patients and controls regarding three genotypes of the rs1801133 locus ($P=0.006$). Moreover, the CT genotype ($P=0.001$, $OR=2.471$, $95\% CI=1.229-4.965$) and total TT and CC genotypes ($P=0.000$, $OR=3.375$, $95\% CI=1.716-6.637$) were significantly associated with the risk of breast cancer. However, the TT genotype ($P=0.538$) showed a protective role against breast cancer. In contrast, there was no statistically significant difference between the two groups of patients and controls in terms of three genotypes of the rs1801131 locus ($P=0.149$), which is consistent with the results of some studies.

Discussion & Conclusion: The rs1801133 polymorphism of the MTHFR gene can be used as a marker in clinical prognostic studies related to the risk of breast cancer.

Keywords: Breast cancer, MTHFR, PCR-RFLP, Polymorphism, rs1801131, rs1801133

► How to cite this paper

Hamta A, Bozorgi Moghadam Z. The Association of the MTHFR Gene Polymorphisms with Breast Cancer Susceptibility. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(6): 21-31.



مطالعه همراهی چندشکلی های ژن MTHFR در استعداد ابتلا به سرطان پستان

احمد همتا*^{ID}، زهرا بزرگی مقدم^{ID}

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱

نویسنده مسئول:

احمد همتا

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

Email: a-hamta@araku.ac.ir

مقدمه: سرطان پستان شایع ترین بدخیمی در زنان در سراسر جهان است؛ همچنین این سرطان دومین علت اصلی مرگ ناشی از ابتلا به سرطان در میان زنان، پس از سرطان ریه است. با توجه به ارتباط میان سطح فولات پلاسما، میزان یوراسیل و تخریب DNA در تقسیم سلولی، متیل ترهایدروفولات ردوکتاز (MTHFR) کاندید مناسبی برای مطالعات استعداد ابتلا به سرطان از جمله سرطان پستان است؛ بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی همراهی میان دو چندشکلی ژن MTHFR با خطر ابتلا به سرطان پستان در جمعیت زنان مبتلا در استان مرکزی است.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر، چندشکلی های rs1801131 و rs1801133 ژن MTHFR در جمعیت بزرگی مبتنی بر مطالعه مورد-شاهدی، شامل ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۸۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی و با فن-PCR RFLP ارزیابی شدند و نمونه ها از طریق الکتروفورز ژل آگارز تعیین ژنوتایپ گردیدند. در نهایت، از نرم افزار SPSS vol.16 برای بررسی های آماری استفاده و نتایج نهایی مشخص شد.

یافته ها: از نظر آماری، اختلاف معناداری میان دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه rs1801133 ($P=0.006$) مشاهده گردید. ژنوتیپ CT ($1.229 - 4.965$) ($P=0.001$, OR=2.471, CI= 95%; 1.229 - 4.965) و مجموع ژنوتیپ های TT و CC ($1.716 - 6.637$) ($P=0.000$, OR=3.375, CI=95%; 1.716 - 6.637) ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان دادند، در حالی که ژنوتیپ TT ($P=0.538$) نقشی حفاظتی از خود در برابر ابتلا به سرطان پستان نشان داد. در مقابل، از نظر آماری اختلاف معناداری میان دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه rs1801131 ($P=0.149$) مشاهده نشد که این امر با برخی از مطالعات محققان مطابقت دارد.

بحث و نتیجه گیری: چندشکلی rs1801133 ژن MTHFR می تواند به عنوان نشانگر در مطالعات پیش گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان استفاده گردد.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، سرطان پستان، MTHFR، PCR-RFLP، rs1801131 و rs1801133

استناد: همتا، احمد؛ بزرگی مقدم، زهرا. مطالعه همراهی چندشکلی های ژن MTHFR در استعداد ابتلا به سرطان پستان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی

ایلام، بهمن ۱۴۰۱؛ ۳۰(۶): ۳۱-۲۱.



به نظر می‌رسد انجام تحقیقات در جمعیت‌های دیگر از جمله جمعیت نقاط مختلف در کشور ایران (استان مرکزی)، برای درک صحیح همبستگی میان جایگاه‌های پلی‌مورفیسم مختلف ژن MTHFR با سرطان پستان در مطالعات متاآنالیز، ضروری و باارزش باشد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی شامل ۸۰ نمونه کنترل از میان زنان سالم و ۸۰ نمونه بیمار (این حجم نمونه با استفاده از فرمول کوکران

$$n = \frac{\frac{Z^2 pq}{d^2}}{1 + \frac{1}{N} \left(\frac{Z^2 pq}{d^2} - 1 \right)}$$

به دست آمد) از نمونه‌های زنان مبتلا به سرطان پستان است که به تأیید متخصصان انکولوژیست رسیده بود و از بیمارستان آیت‌الله خوانساری، در بازه زمانی ۷ ماه با کد اخلاق (Ir.arakmu.rec.1396.25) جمع‌آوری شد. اطلاعات جمعیت‌شناختی و عامل‌های هورمونی افراد شامل سن، تحصیلات، شغل، تأهل، یائسگی، مصرف قرص ضدبارداری، رژیم غذایی، سن شروع قاعدگی، داشتن سقط‌جنین، داشتن مرده‌زایی، سن اولین زایمان، تعداد فرزندان و داشتن سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پستان در قالب یک پرسش‌نامه جمع‌آوری گردید. استخراج DNA از خون در این پژوهش با استفاده از کیت DNA Iraizol (cat 1004) صورت گرفت.

معیارهای ورود و خروج؛ معیارهای ورود به مطالعات به شرح ذیل بود: ۱. مطالعات مورد-شاهدی منتشر شده در مجله معتبر؛ ۲. بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های rs1801131 و rs1801133 با سرطان پستان؛ ۳. داده‌های ژنوتیپ بیمار و کنترل کامل باشد؛ ۴. توزیع ژنوتیپ کنترل باید مطابق با هاردی-واینبرگ باشد.

معیارهای خروج به شرح ذیل بود: ۱. مطالعات با داده‌های همپوشانی؛ ۲. بدون اطلاعات دقیق از داده‌های

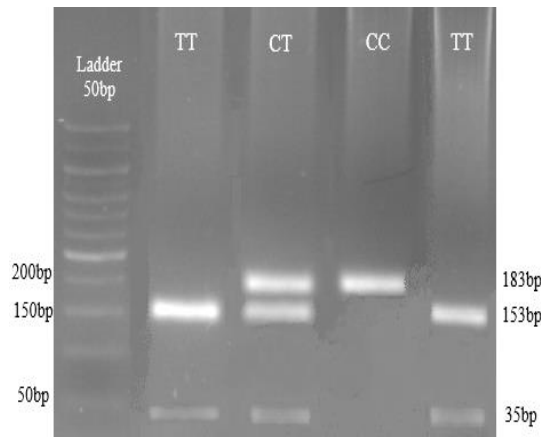
سرطان پستان شایع‌ترین بدخیمی در زنان در سراسر جهان است؛ همچنین سرطان پستان دومین علت اصلی مرگ ناشی از سرطان در میان زنان، پس از سرطان ریه است (۱، ۲). تحقیقات نشان می‌دهد که نداشتن تعادل در متابولیسم فولات ممکن است در استعداد ابتلا به سرطان پستان نقش داشته باشد. مسیر متابولیسم فولات، فولات درون سلولی مورد نیاز را برای سنتز و متابولیسم DNA تنظیم می‌کند (۳). با توجه به ارتباط میان سطح فولات پلاسما، میزان یوراسیل و تخریب DNA در تقسیم سلولی، متیل تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)، کاندید مناسبی برای مطالعات استعداد ابتلا به سرطان از جمله سرطان پستان است (۴). آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) به‌طور برگشت‌ناپذیر تبدیل ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات به ۵-متیل ترا هیدروفولات را کاتالیز می‌کند (۵). جایگاه MTHFR در انسان روی کروموزوم 1p36.3 نقشه‌کشی شده است. توالی DNA این ژن تقریباً ۲/۲ کیلوباز و شامل ۱۱ اگزون است (۶). rs1801133) C667T و (rs1801131) A1298C، دو نوع آلل متداول از ژن MTHFR هستند که به ترتیب برای جایگزینی اسید آمینه Ala222Val و Glu429Ala در تحقیقات مختلف شرح داده شده است (۷). تحقیقات مختلفی در ارتباط با همبستگی میان پلی‌مورفیسم rs1801131 و rs1801133 و سرطان صورت گرفته است که برخی به وجود همبستگی و برخی دیگر به نبود همبستگی اشاره کرده‌اند. در مطالعه راموس سیلوا و همکاران در کشور مکزیک، ارتباط معناداری میان rs1801133 و خطر ابتلا به سرطان وجود داشت (۴). در مطالعه محمدی و همکاران در جمعیت تهران، پلی‌مورفیسم‌های rs1801131 و rs1801133 و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معناداری نشان دادند (۸).

از آنجا که بسیاری از مطالعات نتایج مهم و معناداری در ارتباط با معناداری ارتباط چندشکلی‌های ژن MTHFR و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند،

PCR با ۱ واحد آنزیم برشگر mboII (Thermo Fisher-امریکا) هضم گردید و روی ژل آگارز ۴ درصد ران شد (شکل شماره ۱).

چرخه دمایی به صورت ۹۴°C، ۳۰ دقیقه؛ ۶۱°C، ۳۰ دقیقه (۳۵ چرخه) و ۷۲°C، ۶۰ دقیقه بود و محصول PCR با ۱ واحد آنزیم برشگر HinfI (Thermo Fisher-امریکا) هضم گردید و روی ژل آگارز ۴ درصد ران شد (شکل شماره ۲).

تجزیه و تحلیل آماری و پردازش داده‌ها در بیماران و گروه کنترل با کمک نرم‌افزارهای SPSS و SNP analyzer و با استفاده از روش کای x2 و تعیین هاپلوتایپ ژنوتیپ‌ها صورت گرفت.



(ب)

ژنوتیپ؛ ۳. متاآنالیز و بررسی‌ها؛ ۴. داده‌های ژنوتیپی که در تعادل هاردی-واینبرگ نیستند.

تعیین ژنوتیپ: تکثیر پلی‌مورفیسم‌های rs1801131 و rs1801133 به وسیله فن PCR RFLP صورت گرفت. پرایمرها توسط شرکت راستین ژن سنتز گردید.

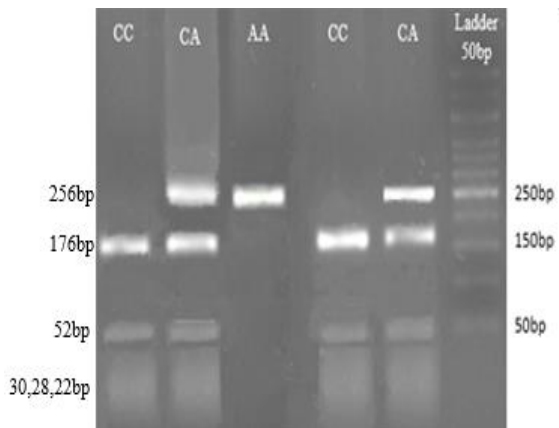
توالی پرایمرهای به کاررفته در این تحقیق به شرح زیر است (۵):

1) rs1801131 (256bp)
F: 5'- CTTCTACCTGAAGAGCAAGTC-3'
R: 5'- CATGTCCACAGCATGGAG -3'

2) rs1801133 (183bp)
F: 5'- GACCTGAAGCACTTGAAGGA -3'
R: 5'- CGAGCTTATGGGCTCTCCTG-3'

چرخه دمایی به صورت ۹۴°C، ۳۰ دقیقه؛ ۶۱°C، ۳۰

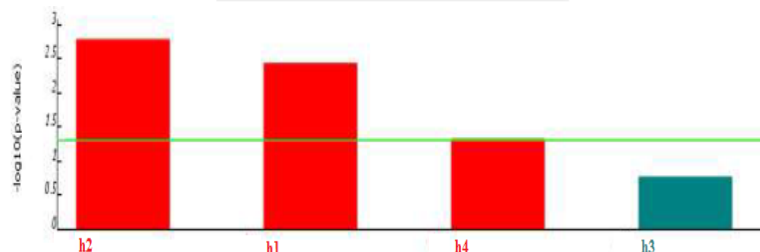
دقیقه (۳۵ چرخه) و ۷۲ °C، ۶۰ دقیقه بود و محصول



(الف)

شکل شماره ۱. تصویر ژل محصول PCR پس از هضم آنزیمی. الف. CA. به صورت هتروزیگوت برش خورده با طول‌های ۲۵۶، ۱۷۶، ۵۲، ۳۰، ۲۸ و ۲۲ جفت باز؛ CC. برش خورده با طول‌های ۱۷۶، ۵۲، ۳۰، ۲۸ و ۲۲ جفت باز؛ A. برش نخورده با طول ۲۵۶ جفت باز؛ ب. CT. به صورت هتروزیگوت برش خورده با طول‌های ۱۸۳، ۱۵۳ و ۳۵ جفت باز؛ CC. برش نخورده با طول ۱۸۳ جفت باز؛ TT. برش خورده با طول ۱۵۳ و ۳۵ جفت باز

Haplo...	Freq	...
h1	0.46281	AC
h2	0.21844	AT
h3	0.19031	CC
h4	0.12844	CT



شکل شماره ۲. بررسی آماری هاپلوتیپ‌ها به وسیله نرم‌افزار SNP Analyser2. هاپلوتیپ‌های h1، h2 و h4 معنی دار است (به رنگ قرمز)؛ اما برای h3 معنی دار نیست (به رنگ سبز).

یافته ها

چندشکلی rs1801133 در دو گروه سالم و بیمار مبتلا به سرطان پستان بررسی شد و آزمون آماری مربع کای حدود اطمینان $P=0.006$ را نشان داد و مشخص گردید که میان ژنوتیپ‌های حاصل و بیماری ارتباط معناداری وجود دارد (جدول شماره ۱).

فراوانی پلی مورفیسم rs1801133(C/T) برای آلل C در گروه کنترل ۷۰/۶۲ و در گروه بیمار ۵۵ درصد محاسبه گردید. این فراوانی برای آلل T در گروه کنترل ۲۹/۳۷ و در گروه بیمار ۴۵ درصد محاسبه شد. بر اساس محاسبات انجام شده، ارتباط معناداری میان فراوانی آللی و بیماری وجود داشت ($P=0.004$).

فراوانی ژنوتیپی در دو گروه کنترل و بیمار به ترتیب برای ژنوتیپ CC، ۵۱/۲۵ و ۲۳/۷۵ درصد، برای ژنوتیپ CT، ۳۸/۷۵ و ۶۲/۵۰ درصد و برای ژنوتیپ TT، ۱۰ و ۱۳/۷۵ درصد به دست آمد.

بر اساس مطالعات آماری انجام شده، ارتباط معناداری میان ژنوتیپ و بیماری دیده شد. با توجه به اینکه توزیع ژنوتیپ‌های CT + TT میان دو گروه کنترل و بیمار معنادار بود.

بنابراین، فراوانی ژنوتیپ CC نیز با همین میزان $P=0.000$ میان دو گروه کنترل و بیمار معنادار است. ($OR=3.375$, $CI=95\%;1.716-6.637$, $P=0.000$) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱. بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های CC و CT و TT با خطر

ابتلا به سرطان پستان به وسیله آزمون مربع کای			
آزمون مربع کای			
P	Df	χ^2	ژنوتیپ
۰/۰۰۶	۲	۱۴/۵۴۲	ژنوتیپ
		۱۶۰	تعداد افراد

df: degree of freedom $P<0.05$ سطح معناداری کمتر از

جدول شماره ۲. بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های AA و AC و CC با خطر

ابتلا به سرطان پستان			
آزمون مربع کای			
F	Df	χ^2	ژنوتیپ
۰/۱۴۹	۴	۶/۷۵۸	ژنوتیپ
		۱۶۰	تعداد افراد

فراوانی ژنوتیپی در دو گروه کنترل و بیمار به ترتیب برای ژنوتیپ AA، ۵۱/۲۵ و ۴۸/۷۵ درصد، برای ژنوتیپ AC، ۳۶/۲۵ و ۳۵ درصد و برای ژنوتیپ CC، ۱۲/۵ و ۱۶/۲۵ درصد به دست آمد. بر اساس مطالعات آماری انجام شده، ارتباط معناداری میان ژنوتیپ و بیماری دیده نشد. آنالیز ژنوتیپ AC، CC و همچنین ترکیب ژنوتیپ‌های CC+AC، هیچ کدام ارتباط معناداری را نشان ندادند (جدول شماره ۳).

درباره چندشکلی rs1801131 در دو گروه سالم و بیمار، آزمون کای-اسکووار حدود اطمینان ۰/۱۴۹ را نشان داد و مشخص شد که میان ژنوتیپ‌های حاصل و بیماری ارتباط معناداری وجود ندارد. فراوانی پلی مورفیسم rs1801131(A/C) برای آلل A در گروه کنترل ۶۶/۸۷ و در گروه بیمار ۵۸/۸۸ درصد محاسبه گردید. بر اساس محاسبات آماری، ارتباط معناداری میان فراوانی آللی و بیماری وجود نداشت ($P=0.550$).

جدول شماره ۳. توزیع ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم‌های ژن MTHFR در بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد کنترل با آزمون مربع کای

ژنوتیپ/آلل	بیمار	%	کنترل	%	P value	OR(CI=95%)	Sig
rs1801133							
CC	۱۹	۲۳/۷۵	۴۱	۵۱/۲۵		رفرنس(۱/۰۰)	
CT	۵۰	۶۲/۵۰	۳۱	۳۸/۷۵		۲/۴۷۱	۰/۰۰۱
TT	۱۱	۱۳/۷۵	۸	۱۰	۰/۳۲۱	۱/۴۳۵	۰/۵۳۸
CT+TT	۶۶	۷۶/۲۵	۳۹	۴۸/۷۵		۳/۳۷۵	۰/۰۰۰
C	۸۸	۵۵	۱۱۳	۷۰/۶۲۵		رفرنس(۱/۰۰)	

ادامه جدول شماره ۳

T	۷۲	۷۲	۴۷	۲۹/۳۷۵	۸/۳۶۲	۱/۹۶۷	۰/۰۰۴
rs1801131							
AA	۳۹	۴۸/۷۵	۴۱	۵۱/۲۵		رفرنس(۱/۰۰)	
AC	۲۸	۳۸	۲۹	۳۶/۲۵		۰/۹۴۷	۰/۸۶۹
CC	۱۳	۱۶/۲۵	۱۰	۱۲/۵۰	۰/۲۹۲	۱/۳۵۸	۰/۴۹۹
AC+CC	۴۱	۵۴/۲۵	۳۹	۴۸/۷۵		۱	۱
A	۱۰۶	۵۸/۸۸	۱۱۱	۶۶/۸۷۵		رفرنس(۱/۰۰)	
C	۵۴	۳۳/۷۵	۴۹	۳۰/۶۲۵	۰/۳۵۸	۱/۱۵۴	۰/۵۵۰

پستان و گروه کنترل در جدول شماره ۵ خلاصه شده است.

نتایج نشان می‌دهد، میانگین سنی بیماران ۴۹ سال، جوان‌ترین بیمار در این تحقیق ۲۴ و مسن‌ترین آن ۷۵ ساله است که در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معناداری را نشان داد ($P=0.004$). ۶/۲۵ درصد از بیماران دست کم در یک نفر از بستگان درجه اول و ۳/۷۵ درصد از آنان نیز حداقل در یکی از بستگان درجه دوم خود سابقه سرطان پستان داشتند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نشان می‌داد ($P=0.007$). رابطه آماری معناداری میان مصرف قرص ضدبارداری در دو گروه وجود نداشت ($P=0.219$). بر اساس تست‌های آماری، تفاوت معناداری میان دو گروه بیمار و کنترل و سن اولین زایمان مشاهده نشد ($P=0.574$)؛ به این معنا که سن اولین زایمان تأثیری روی خطر ابتلا به بیماری ندارد.

مطابق جدول شماره ۴، بر اساس آزمون آماری مربع کای در مقایسه ترکیب ژنوتیپ‌های دو پلی مورفسم مطالعه شده، میان دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معناداری مشاهده گردید؛ به این معنا که برخی از ژنوتیپ‌های ترکیبی مربوط به دو پلی مورفسم مطالعه شده با خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معناداری دارند، به گونه‌ای که داشتن برخی ژنوتیپ‌های ترکیبی خاص، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهند.

بررسی آماری هاپلوتیپ‌ها با نرم‌افزار SNP Analyzer2 نشان داد که بلوک‌های هاپلوتیپی برای جهش‌های AC، AT و CT معنادار است. ضریب لینکاژ میان جهش‌ها برابر ۰/۰۸ بود و در ۸ درصد موارد، دو جهش باهم به ارث می‌رسند (شکل‌های شماره ۲ و ۳). ویژگی جمعیت‌شناسی بیماران مبتلا به سرطان

جدول شماره ۴. بررسی ارتباط میان ترکیب ژنوتیپ‌های دو پلی مورفسم مطالعه شده در دو گروه با خطر ابتلا به بیماری با آزمون مربع کای

متغیر / ترکیب ژنوتیپی	مربع کای	درجه آزادی	مقدار P
AACC	۱۰/۵۰۳	۱	۰/۰۰۱
AACT	۳/۶۴۵	۱	۰/۰۵۶
AATT	۳/۰۵۷	۱	۰/۰۸۰
ACCC	۲/۹۳۹	۱	۰/۰۸۶
ACCT	۱/۵۹۵	۱	۰/۲۰۷
ACTT	۱/۳۴۵	۱	۰/۲۴۶
CCCC	۰/۶۳۹	۱	۰/۴۰۵
CCCT	۰/۷۵۴	۱	۰/۳۸۵
CCTT	۱/۰۲۶	۱	۰/۳۱۱
مقدار کل P	۲۰/۸۸۱	۸	۰/۰۰۷



شکل شماره ۳. بررسی آماری هاپلوتیپ ها به وسیله نرم افزار SNP Analyser2. ضریب جهش عدد ۰/۰۸ را نشان می دهد؛ یعنی در ۸ درصد موارد، دو جهش باهم به ارث می رسند.

جدول شماره ۵. نتایج ارتباط متغیرها با سرطان پستان در دو گروه بیمار و کنترل

متغیر	X ²	P value
سن	۲۵/۵۷۷	۰/۰۰۴
تحصیلات	۲۲/۴۹۰	۰/۰۰۴
شغل	۷/۲۹۰	۰/۲۹۵
وضعیت تاهل	۹/۴۷۲	۰/۰۴۵
یاثستگی	۱۲/۳۹۸	۰/۰۰۰۲
مصرف قرص ضدبارداری	۱/۲۳۴	۰/۲۱۹
رژیم غذایی	۱/۴۸۲	۰/۴۷۷
سن شروع قاعدگی	۳۸/۹۲۱	۰/۰۰۰
داشتن سقط جنین	۱۷/۱۲۲	۰/۰۰۲
داشتن مرده زایی	۱۴/۰۰۲	۰/۰۰۷
سن اولین زایمان	۲/۹۰۲	۰/۵۷۴
تعداد فرزندان	۱/۵۲۹	۰/۸۲۲
سابقه ی فامیلی	۹/۹۴۶	۰/۰۰۷

(۹). در ایران، سرطان پستان ۱۶ درصد از کل سرطان ها را تشکیل می دهد و همچنان در رتبه اول قرار دارد. بروز سرطان پستان در تقریباً همه استان های ایران بسیار بالاست (۱۰). عوامل مختلفی مانند هورمون ها، سبک زندگی، عوامل محیطی و عوامل ژنتیکی در ابتلا به سرطان نقش دارند (۱۱). برخی مطالعات روی جهش های ژنتیکی آنزیم های شرکت کننده در متابولیسم یک کربن با خطر ابتلا به سرطان پستان متمرکز شده اند (۱۲). پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن MTHFR می تواند یک عامل خطر در ابتلا به سرطان پستان باشد (۱۳). متیلن تتراهیدروفولات نقش برجسته ای در تعادل گروه های متیل بین سنتز DNA و متیلاسیون DNA دارد (۱۴). آنزیم MTHFR این نقش را با تسریع تبدیل دائمی ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات (مورد نیاز برای سنتز DNA) به ۵-متیل تتراهیدروفولات (مورد نیاز برای متیلاسیون DNA) انجام

بررسی تعادل هاردی واینبرگ نشان داد که هر دو پلی مورفیسم در تعادل هاردی واینبرگ بودند (جدول شماره ۲). انجام آزمون مربع کای نشان داد که ژنوتیپ هتروزیگوت CT rs1801133 در گروه بیماران (۵/۶۵ درصد) در مقایسه با گروه کنترل (۳۸/۷۵ درصد) افزایش داشته است (P=0.006). (OR=2.634, CI=95%; 1.392 - 4.987, P=0.003)؛ بنابراین، این ژنوتیپ در ارتباط با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می تواند مؤثر باشد. هیچ ارتباط مهمی میان پلی مورفیسم rs1801133 و سرطان پستان مشاهده نشد (جدول شماره ۳).

بحث و نتیجه گیری

سرطان پستان شایع ترین نوع سرطان و علت اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان در سراسر جهان است

می‌دهد؛ پس فعالیت کاهش‌یافته این آنزیم (که ناشی از تغییر نوکلئوتیدی در MTHFR است) به اختلال در فرایند سنتز DNA و ترمیم آن و در نتیجه، به افزایش خطر ایجاد تومور پستان منجر می‌شود (۱۰).

در مطالعه صورت‌گرفته، ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم rs1801133 با خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده شد ($P=0.006$). در این بررسی، آلل T در افراد بیمار با فرکانس بیشتری نسبت به افراد سالم وجود دارد و ژنوتیپ هتروزیگوت CT با بیماری همراهی نشان داد. افراد با حداقل یک آلل T در ژنوتیپ خود (CT+TT)، در معرض خطر ابتلا به سرطان پستان هستند ($P=0.000$, $OR=3.375$). در مطالعه حاضر، ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم rs1801131 با خطر ابتلا به سرطان مشاهده نگردید. ارتباط معناداری میان فراوانی آللی و بیماری وجود نداشت ($P=0.550$). فراوانی ژنوتیپی در دو گروه کنترل و بیمار با بیماری همراهی نشان نداد؛ همچنین در ترکیب ژنوتیپ‌های AC+CC همراهی معناداری دیده نشد.

در مقایسه نتایج حاصل با سایر تحقیقات انجام‌شده باید گفت که اکرم محمد و همکاران (۲۰۱۲) در پاکستان، برای بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم C667T با سرطان پستان تحقیقی انجام دادند. آنان ژنوتیپ ۱۱۰ فرد بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۱۱۰ فرد سالم را با استفاده از روش RFLP و Sequencing analyzer مطالعه کردند. نتایج آنان نشان داد که ژنوتیپ rs1801133 ارتباط معناداری با استعداد ابتلا به سرطان پستان دارد (۸).

در مطالعه وسیم و همکاران (۲۰۱۶)، اشخاص با ژنوتیپ CT ارتباط چشمگیری با ابتلا به سرطان پستان داشتند ($P=0.041$, $OR=1.6$)؛ همچنین ارتباط قابل‌توجهی برای آلل T و افزایش خطر سرطان پستان یافت شد (۳). مطالعه عمران و همکاران در سال ۲۰۲۱ که روی جمعیتی از زنان مصری انجام شد، ارتباط معناداری میان آلل T و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داد (۱۵). مطالعه لیلین هه و همکاران در سال ۲۰۱۷ نیز این ارتباط

را تأیید کرد (۱۶). در سال ۲۰۲۱، لی و همکاران مطالعه‌ای برای بررسی پلی‌مورفیسم rs1801133 انجام دادند و نتیجه گرفتند که میان این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معناداری هست (۱۷). این نتایج با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. در مطالعات دیگری، جمعیت‌های مطالعه‌شده ارتباط معناداری میان این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان نشان ندادند؛ مانند مطالعه مارتینز و همکاران در سال ۲۰۲۱ که شامل ۶۰۶ زن برزیلی (۱۲۸ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۴۷۸ فرد شاهد) بود و با تکنیک توالی‌یابی تعیین ژنوتیپ شدند. نتایج به‌دست‌آمده نشان‌دهنده نبود ارتباط معنادار میان پلی‌مورفیسم rs1801133 و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان بود ($P>0.005$) (۱۸)؛ همچنین در سال ۲۰۲۲، لال و همکاران پلی‌مورفیسم rs1801133 را در ۲۴۷ بیمار سرطان پستان و ۲۴۷ فرد کنترل از جمعیت پنجابی، با استفاده از روش PCR-RFLP تجزیه و تحلیل و بررسی کردند. اگرچه در این مطالعه، ژنوتیپ‌های CT و TT در مواردی بالاتر از گروه کنترل بود؛ اما تفاوت از نظر آماری معنادار نبود. بر اساس این پژوهش، این پلی‌مورفیسم عامل خطرناکی برای سرطان پستان در جمعیت پنجابی نیست (۱۹).

در مطالعه‌ای که در کشور چین، هیی و همکاران (سال ۲۰۱۴) انجام دادند، ارتباط میان پلی‌مورفیسم rs1801131 بررسی گردید و ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم مورد مطالعه و خطر ابتلا به سرطان پستان نیز مشاهده نشد (۲۰)؛ همچنین در سال ۲۰۲۱، برای بررسی اثر پلی‌مورفیسم rs1801131 روی جمعیت ساردین مطالعه‌ای انجام دادند. نتایج بیانگر نبود ارتباط معنادار میان این پلی‌مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان پستان بود ($P>0.005$) (۲۱). با مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱، آجاز و همکاران روی ۱۲۴ فرد مبتلا به سرطان پستان و ۶۳ فرد سالم برای بررسی پلی‌مورفیسم rs1801131 انجام دادند، مشخص گردید که ارتباط معناداری میان این پلی‌مورفیسم با خطر ابتلا به سرطان پستان وجود ندارد. مشاهدات مهم دیگر در مطالعه یادشده، وجود

افزایش سن احتمال ابتلا به سرطان افزایش می‌یابد و داشتن سابقه فامیلی نقش مؤثری در ابتلا به سرطان پستان دارد؛ همچنین بالا رفتن میزان تحصیلات افراد در سطح جامعه باعث آگاهی بیشتر افراد نسبت به وضعیت سلامتی خود می‌شود و افراد با تحصیلات دانشگاهی برای پیدا کردن علائم سرطان پستان، عوامل خطر، خودآزمایی پستان و روش‌های تشخیصی زودرس در خود، آگاهی و تمایل بیشتری نسبت به سایرین دارند.

پژوهش حاضر بر پایه مطالعه مورد-شاهدی، برای بررسی دو پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی ژن MTHFR روی ۸۰ فرد بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۸۰ فرد سالم در جمعیت زنان ساکن استان مرکزی انجام شد. نتیجه این مطالعه بدین صورت بود که ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1801133 و سرطان پستان وجود داشت، درحالی‌که هیچ‌گونه ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1801131 و خطر ابتلا به سرطان پستان مشاهده نگردید. با توجه به اینکه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف این ژن در جمعیت‌ها و نژادهای مختلف، متفاوت است، لازم است برای دستیابی به نتایج قابل اطمینان‌تر، مطالعات گسترده‌تری روی جایگاه‌های مختلف پلی‌مورف این ژن با تعداد نمونه‌های بیشتر و از گروه‌های مختلف جمعیتی انجام پذیرد. علاوه بر این، علی‌رغم ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های ژن MTHFR و سرطان پستان، نقش این پلی‌مورفیسم‌ها در تنظیم مصرف فولات مستحق مطالعه بیشتر در آینده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همه افرادی که در این پژوهش یاری رساندند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تعارض منافع

نتایج این پژوهش با منافع هیچ سازمان یا افرادی تعارض ندارند.

کد اخلاق: IR.ARAKMU.REC.1396.25

نداشتن ژنوتیپ MTHFR 1298CC در بیماران مبتلا به سرطان پستان بود (۲۲). این مطالعات با نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق ما همخوانی دارند.

مژگان حسینی و همکاران در سال ۲۰۱۰، ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های کاندید rs1801131 و استعداد ابتلا به سرطان پستان را در جمعیت استان تهران بررسی کردند. مطالعه آنان نشان داد که ژنوتیپ MTHFR 1298AC به‌عنوان عامل خطر مهمی در این جمعیت عمل می‌کند. آنان همچنین نتیجه گرفتند که میان استعداد ابتلا به سرطان پستان و پلی‌مورفیسم A1298C ممکن است ارتباط معناداری وجود داشته باشد که با نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر همخوانی ندارد (۵)؛ همچنین اکرم و همکاران در سال ۲۰۱۲، با بررسی پلی‌مورفیسم rs1801131 و پلی‌مورفیسم دیگر ژن MTHFR نتیجه گرفتند که هیچ‌گونه ارتباط معناداری میان پلی‌مورفیسم rs1801131 و خطر ابتلا به سرطان پستان نیست (۲۳).

تفاوت نتایج برخی از این مطالعات ممکن است به علت تفاوت در نقشه ژنتیکی متفاوت، عوامل مداخله‌گر غیرقابل کنترل و تفاوت در عامل‌های خطرزای محیطی برای سرطان پستان باشد؛ همچنین در مطالعات پیشین، جمعیت‌های بزرگ‌تری بررسی شده‌اند. برای به‌دست آوردن نتایج دقیق‌تر بهتر است نمونه‌های مورد مطالعه از نواحی مختلف جمعیت ایرانی انتخاب شوند.

بر اساس آزمون آماری مربع کای، در مقایسه ترکیب ژنوتیپ‌های دو پلی‌مورفیسم مطالعه‌شده، میان دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معناداری مشاهده گردید؛ به این معنا که برخی از ژنوتیپ‌های ترکیبی مربوط به دو پلی‌مورفیسم مطالعه‌شده با خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معناداری دارند، به‌گونه‌ای که داشتن برخی ژنوتیپ‌های ترکیبی خاص، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می‌دهند.

در این مطالعه، میان متغیرهایی مانند سن، سابقه فامیلی، تحصیلات، داشتن سقط جنین، قاعدگی زودرس با خطر ابتلا به سرطان پستان همراهی مشاهده شد. درواقع، با

References

- DeSantis C, Ma J, Bryan L, Jemal A. Breast cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2014; 64:52-62. doi: 10.3322/caac.21203.
- Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnani M, Houssami N, Poortmans P, et al. Breast cancer. *Nat Rev Dis Primers* 2019;5:66. doi: 10.1038/s41572-019-0111-2.
- Waseem M, Hussain SR, Kumar S, Serajuddin M, Mahdi F, Sonkar SK, et al. Association of MTHFR (C677T) Gene Polymorphism with Breast Cancer in North India. *Biomark Cancer* 2016; 8:111-7. doi: 10.4137/BIC.S40446.
- Ramos-Silva A, Figuera LE, Soto-Quintana OM, Puebla-Pérez AM, Ramírez-Patiño R, Gutiérrez-Hurtado I, et al. Association of the C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene with breast cancer in a Mexican population. *Genet Mol Res* 2015; 14:4015-26. doi: 10.4238/2015.April.27.16.
- Hosseini M, Houshmand M. MTHFR polymorphisms and breast cancer risk. *Arch Med Sci* 2010; 7, 1: 134-137. doi: 10.5114/aoms.2011.20618.
- Izmirli M. A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk. *Mol Biol Rep* 2013;40:625-37. doi: 10.1007/s11033-012-2101-2.
- Bravatà V. Controversial roles of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and folate in breast cancer disease. *Int J Food Sci Nutr* 2015;66:43-9. doi: 10.3109/09637486.2014.959896.
- Akram M, Malik FA, Kayani MA. Mutational analysis of the MTHFR gene in breast cancer patients of Pakistani population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012;13:1599-603. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.4.1599.
- Li Z, Zhang J, Zou W, Xu Q, Li S, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism is associated with breast cancer subtype susceptibility in southwestern China. *PLoS One* 2021 9;16:e0254267. doi: 10.1371/journal.pone.0254267.
- Hamzeie M, Abdolmaleki A, Zohre-Vand F, Khazayel S. Correlation of a well-known genetic variation in one-carbon metabolism pathway with breast cancer susceptibility in Iranian population. *Cent Asian J Med Pharm Sci Innov* 2021; 1;1:176-84. doi:10.22034/CAJMPSI.2021.04.02.
- Rahimi Z, Bozorgi M, Rahimi Z, Shakiba E, Yari K, et al. MTHFR C677T Polymorphism Is Associated with the Risk of Breast Cancer Among Kurdish Population from Western Iran. *Int J Cancer Manag* 2019; 12:e67895. doi: 10.5812/ijcm.67895.
- Yang M, Efehi N, Jin Y, Zhang Q, Ebadi AG, et al. Hot Water Extraction of Crude Polysaccharide from *Codonopsis pilosula* and Determination of the Rheological Properties. *Rev Chim* 2020; 71: 441-9. doi: 10.37358/RC.20.5.8155
- Liang H, Yan Y, Li T, Li R, Li M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and breast cancer risk in Chinese population: a meta-analysis of 22 case-control studies. *Tumor Biol* 2014; 35:1695-701. doi: 10.1007/s13277-013-1234-9.
- Bao S, Ebadi A, Toughani M, Dalle J, Maselena A, et al. A new method for optimal parameters identification of a PEMFC using an improved version of Monarch Butterfly Optimization Algorithm. *Int J Hydrogen Energy* 2020; 45: 17882-92. doi: 10.1016/j.ijhydene.2020.04.256.
- Ibrahim NE, Ramadan SS. Strong Correlation of MTHFR Gene Polymorphisms with Breast Cancer and its Prognostic Clinical Factors among Egyptian Females. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021;22:617-26. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.2.617.
- He L, Shen Y. MTHFR C677T polymorphism and breast, ovarian cancer risk: a meta-analysis of 19,260 patients and 26,364 controls. *Onco Targets Ther* 2017; 10:227-38. doi:10.2147/OTT.S121472.
- Li Z, Zhang J, Zou W, Xu Q, Li S, et al. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism is associated with breast cancer subtype susceptibility in southwestern China. *Plos one* 2021; 9;16:e0254267. doi: 10.1371/journal.pone.0254267.
- Gimenez-Martins AP, Castanhole-Nunes MM, Nascimento-Filho CH, Santos SP, Galbiatti-Dias AL, et al. Association between folate metabolism polymorphisms and breast cancer: a case-control study. *Genet Mol Biol* 2021; 22; 44. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2020-0485.
- Lal H, Sharma B, Sambyal V, Guleria K, Singh NR, et al. Association of MTHFR 677C> T polymorphism with breast cancer risk: A case-control study and meta-analysis. *J Cancer Res Ther* 2022; 18:1451-60. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_1063_20.
- He JM, Pu YD, Wu YJ, Qin R, Zhang QJ, Sun YS, et al. Association between dietary intake of folate and MTHFR and MTR genotype with risk of breast cancer. *Genet Mol Res* 2014;13:8925-31. doi: 10.4238/2014.October.31.7.
- Floris M, Sanna D, Castiglia P, Putzu C, Sanna V, et al. MTHFR, XRCC1 and OGG1 genetic polymorphisms in breast cancer: a case-control study in a population from North Sardinia. *BMC cancer* 2020; 20:1-5. doi: 10.1186/s12885-020-06749-w.
- Ajaz S, Ali SM, Siddiq A, Memon MA, Abid A, et al. Independent and Combined

Associations of 677C/T and 1298A/C Polymorphisms in the MTHFR gene with Breast Cancers in a South-Asian Population. Medrxiv 2021; 03.13.21253512. doi:10.1101/2021.03.13.21253512.

23. Akram M, Malik FA, Kayani MA. Mutational analysis of the MTHFR gene in breast cancer patients of Pakistani population. Asian Pac J Cancer Prev 2012;13:1599-603. doi: 10.7314/apjcp.2012.13.4.1599.