

# The Association of the MTHFR Gene Polymorphisms with Breast Cancer Susceptibility

Ahmad Hamta<sup>1\*</sup> , Zahra Bozorgi Moghadam<sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Dept 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

---

## A B S T R A C T

**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.



© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

## مطالعه همراهی چندشکلی‌های ژن MTHFR در استعداد ابتلا به سرطان پستان

احمد همتا<sup>۱\*</sup>, زهرا بزرگی مقدم<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

### چکیده

#### نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۱۱/۰۱

**مقدمه:** سرطان پستان شایع‌ترین 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 پلاسماء، میزان یوراسیل و تخریب DNA در تقسیم سلوی، متیل تراهیدروفولات 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 روش‌ها:** در مطالعه حاضر، چندشکلی‌های rs1801131 و rs1801133 ژن MTHFR در جمعیت بزرگی مبتنی بر مطالعه موردد شامل ۸۰ بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۸۰ فرد سالم از زنان ساکن استان مرکزی و با فن-PCR ارزیابی شدند و نمونه‌ها از طریق الکتروفورز ژل آگارز تعیین ژنوتیپ گردیدند. درنهایت، از نرم افزار SPSS vol.16 برای بررسی‌های آماری استفاده و نتایج نهایی مشخص شد.

**یافته‌ها:** از نظر آماری، اختلاف معناداری میان دو گروه بیمار و کنترل برای سه ژنوتیپ جایگاه rs1801133 ( $P=0.006$ ) و مشاهده گردید. ژنوتیپ CT (OR=2.471, CI= 95%; 1.229 - 4.965) و مجموع ژنوتیپ‌های TT و CC (OR=0.000, OR=3.375, CI=95%; 1.716 - 6.637) ارتباط معناداری با خطر ابتلا به سرطان پستان از خود نشان دادند، درحالی که ژنوتیپ TT (OR=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 نتیجه‌گیری:** چندشکلی ژن MTHFR rs1801133 می‌تواند به عنوان نشانگر در مطالعات پیش‌گویی بالینی در ارتباط با خطر ابتلا به سرطان پستان استفاده گردد.

### واژه‌های کلیدی:

استناد: همتا، احمد؛ بزرگی مقدم، زهرا. مطالعه همراهی چندشکلی‌های ژن MTHFR در استعداد ابتلا به سرطان پستان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، بهمن ۱۴۰۱؛ ۰۶(۳۰): 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 بالارزش 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

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

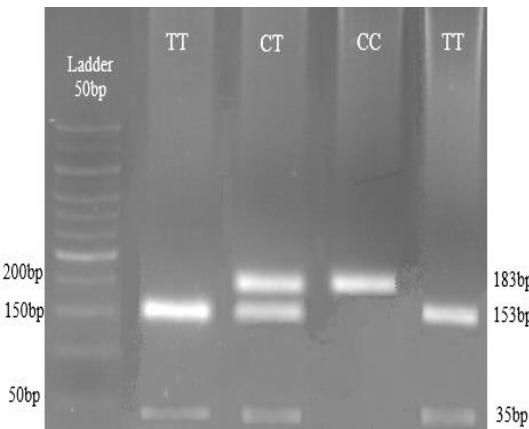
به دست آمد) از نمونه‌های زنان مبتلا به سرطان پستان است که به تأیید مخصوصان انکولوژیست رسیده بود و از بیمارستان آیت‌الله خوانساری، در بازه زمانی ۷ ماه با کد اخلاق (Ir.arakmu.rec.1396.25) جمع‌آوری شد. اطلاعات جمعیت‌شناختی و عامل‌های هورمونی افراد شامل سن، تحصیلات، شغل، تأهل، یائسگی، مصرف قرص ضدبارداری، 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 (cat 1004) Iraizol 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 ژنتیک بیمار و کنترل کامل باشد؛ ۴. توزیع ژنتیک 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 درون‌سلولی موردنیاز را برای سنتز و متابولیسم DNA تنظیم می‌کند (۳). با توجه به ارتباط میان سطح فولات پلاسمای میزان یوراسیل و تخریب DNA در تقسیم سلولی، متیل تراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)، کاندید مناسی برای مطالعات استعداد ابتلا به سرطان از جمله سرطان پستان است (۴). آنزیم متیل تراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) به طور برگشت‌ناپذیر تبدیل ۵-متیل تراهیدروفولات به ۵-متیل تراهیدروفولات را کاتالیز می‌کند (۵). جایگاه MTHFR در انسان روی کروموزوم ۱p36.3 نقشه‌کشی شده است. توالی DNA این ژن تقریباً ۲/۲ کیلوباز و شامل ۱۱ اگزون است (۶). rs1801131 C667T و A1298C (rs1801133) و rs1801131 نوع آلل متداول از ژن MTHFR هستند که به ترتیب برای جایگزینی اسید آمینه Ala222Val و Ala222Glu 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 سیلو 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 آنجاکه بسیاری از مطالعات نتایج مهم و معناداری در ارتباط با معناداری ارتباط چندشکلی‌های ژن MTHFR و خطر ابتلا به سرطان پستان نشان داده‌اند،

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

چرخه دمایی به صورت  $94^{\circ}\text{C}$ ،  $61^{\circ}\text{C}$ ،  $30$  دقیقه؛  $72^{\circ}\text{C}$  و  $60$  دقیقه بود و محصول PCR با ۱ واحد آنزیم برشگر (Thermo Fisher) Hinfl 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<sup>۲</sup> و تعیین هاپلوتاپ ژنوتیپ‌ها صورت گرفت.



(ب)

ژنوتیپ؛ ۳. متا‌آنالیز و بررسی‌ها؛ ۴. داده‌های ژنوتیپی که در تعادل هارדי-واینرگ نیستند.

تعیین ژنوتیپ: تکشیر پلی‌مورفیسم‌های rs1801131 و rs1801133 به وسیله فن PCR RFLP صورت گرفت.

پرایمرها توسط شرکت راستین ژن سنتر گردید. توالی پرایمرهای به کاررفته در این تحقیق به شرح زیر است (۵):

1) rs1801131 (256bp)

F: 5'- CTTCTACCTGAAGAGCAAGTC-3'

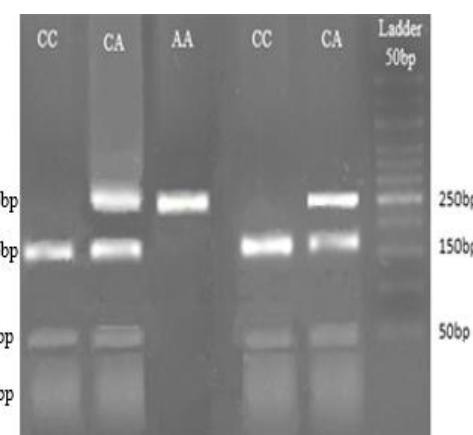
R: 5'- CATGTCCACAGCATGGAG -3'

2) rs1801133 (183bp)

F: 5'- GACCTGAAGCACTTGAAGGA -3'

R: 5'- CGAGCTTATGGGCTCTCCTG-3'

چرخه دمایی به صورت  $94^{\circ}\text{C}$ ،  $61^{\circ}\text{C}$ ،  $30$  دقیقه؛  $72^{\circ}\text{C}$  و  $60$  دقیقه بود و محصول



(الف)

شکل شماره ۱. تصویر ژل محصول PCR پس از هضم آنزیمی. الف. به صورت هتروزیگوت برش خورده با طول‌های  $28, 30, 52, 176, 28, 30, 52$  و  $22$  جفت باز؛ CC. برش خورده با طول‌های  $176, 52, 28, 30$  و  $22$  جفت باز؛ A. برش نخورده با طول  $256$  جفت باز؛ B. CT. به صورت هتروزیگوت برش خورده با طول‌های  $183, 153$  و  $35$  جفت باز؛ CC. برش نخورده با طول  $183$  جفت باز؛ TT. برش خورده با طول  $153$  و  $35$  جفت باز.



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

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 TT + CT 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 ۲.** بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های AA و AC و CC با خطر ابتلا به سرطان پستان

آزمون مریع کای			
ژنوتیپ	$\chi^2$	Df	P
تعداد افراد	۶/۷۵۸	۴	۰/۱۴۹

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، هیچ‌کدام ارتباط معناداری را نشان ندادند (جدول شماره ۳).

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

ژنوتیپ/آل	بیمار	%	کنترل	%	P value	OR(CI=95%)	Sig
rs1801133							
CC	۱۹	۲۳/۷۵	۴۱	۵۱/۲۵		۱/۰۰۰ (رفنس)	
CT	۵۰	۶۲/۵۰	۳۱	۳۸/۷۵		۲/۴۷۱	۰/۰۰۱
TT	۱۱	۱۳/۷۵	۸	۱۰	۰/۳۲۱	۱/۱۳۵	۰/۰۵۳۸
CT+TT	۶۶	۷۶/۲۵	۳۹	۴۸/۷۵		۳/۳۷۵	۰/۰۰۰
C	۸۸	۵۵	۱۱۳	۷۰/۶۲۵		۱/۰۰۰ (رفنس)	

## یافته‌ها

چندشکلی rs1801133 در دو گروه سالم و بیمار مبتلا به سرطان پستان بررسی شد و آزمون آماری مریع 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 (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).

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

ابتلا به سرطان پستان به وسیله آزمون مریع کای

آزمون مریع کای			
ژنوتیپ	$\chi^2$	Df	P
تعداد افراد	۱۴/۵۴۲	۲	۰/۰۰۶

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

دریاره چندشکلی rs1801131 در دو گروه سالم و بیمار، آزمون کای-اسکوار حدود اطمینان ۰/۱۴۹ را نشان داد و مشخص شد که میان ژنوتیپ‌های حاصل و بیماری ارتباط معناداری وجود ندارد. فراوانی پلی مورفیسم (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).

### ۱۵امه جدول شماره ۳

۲۶

T	۷۲	۷۲	۴۷	۲۹/۳۷۵	۸/۳۶۲	۱/۹۶۷	۰/۱۰۴
rs1801131							
AA	۳۹	۴۸/۷۵	۴۱	۵۱/۴۵		رفرنس(۱/۱۰۰)	
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(۱/۱۰۰)	
C	۵۴	۳۳/۷۵	۴۹	۳۰/۶۲۵	۰/۳۵۸	۱/۱۵۴	۰/۵۵۰

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

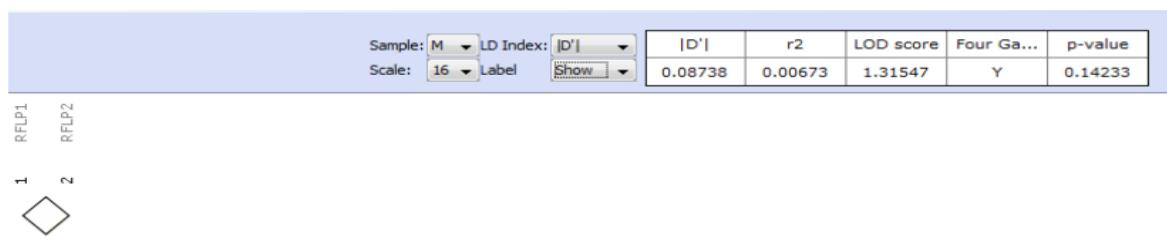
نتایج نشان می دهد، میانگین سنی بیماران ۴۹ سال، جوان ترین بیمار در این تحقیق ۲۴ و مسن ترین آن ۷۵ ساله است که در مقایسه با گروه کنترل، تفاوت معناداری را نشان داد ( $P=0.004$ ). درصد از بیماران دست کم در یک نفر از بستگان درجه اول و ۳/۷۵ درصد از آنان نیز حداقل در یکی از بستگان درجه دوم خود سابقه سرطان پستان داشتند که در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معناداری نشان می داد ( $P=0.007$ ). رابطه آماری معناداری میان مصرف قرص ضدبارداری در دو گروه وجود نداشت ( $P=0.219$ ). بر اساس تست های 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 ژنتیپ های دو پلی مورفیسم مطالعه شده، میان دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معناداری مشاهده گردید؛ به این معنا که برخی از ژنتیپ های ترکیبی مربوط به دو پلی مورفیسم مطالعه شده با خطر ابتلا به سرطان پستان ارتباط معناداری دارند، به گونه ای که داشتن برخی ژنتیپ های ترکیبی خاص، خطر ابتلا به سرطان پستان را افزایش می دهد.

بررسی آماری هاپلوتیپ ها با نرم افزار SNP Analyzer2 نشان داد که بلوک های هاپلوتیپی برای جهش های AC، AT و CT معنادار است. ضریب لینکائی میان جهش ها برابر  $0/۰۸$  بود و در ۸ درصد موارد، دو جهش باهم به ارث می رستند (شکل های شماره ۲ و ۳). ویژگی جمعیت شناسی بیماران مبتلا به سرطان

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

متغیر / ترکیب ژنتیپی	مربع کای	درجه آزادی	مقدار P
AACC	۱۰/۰۳	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 هاپلوتیپ‌ها به وسیله نرم‌افزار SNP Analyser 2. ضریب جهش عدد ۰/۰۸ را نشان می‌دهد؛ یعنی در ۸ درصد موارد، دو جهش باهم به ارث می‌رسند.

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

متغیر	X <sup>2</sup>	P value
سن	۲۵/۵۷۷	۰/۰۰۴
تحصیلات	۲۲/۴۹۰	۰/۰۰۴
شغل	۷/۲۹۰	۰/۲۹۵
وضعیت تأهل	۹/۴۷۲	۰/۰۴۵
یاشنگی	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 مردہ زایی	۱۴/۰۰۲	۰/۰۰۷
سن اولین زایمان	۲/۹۰۲	۰/۵۷۴
تعداد فرزندان	۱/۵۲۹	۰/۸۲۲
سابقه‌ی فامیلی	۹/۹۴۶	۰/۰۰۷

(۹). در ایران، سرطان پستان ۱۶ درصد از کل سرطان‌ها را تشکیل می‌دهد و همچنان در رتبه اول قرار دارد. بروز سرطان پستان در تقریباً همه استان‌های ایران بسیار بالاست (۱۰). عوامل مختلفی مانند هورمون‌ها، سبک زندگی، عوامل محیطی و عوامل ژنتیکی در ابتلا به سرطان نقش دارند (۱۱). برخی مطالعات روی چهش‌های ژنتیکی آنژیم‌های شرکت‌کننده در متابولیسم یک کربن با خطر ابتلا به سرطان پستان متمرکز شده‌اند (۱۲). پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی ژن MTHFR می‌تواند یک عامل خطر در ابتلا به سرطان پستان باشد (۱۳). میان تراهیدروفولات نقش برجسته‌ای در تعادل گروه‌های متیلین بین سنتر DNA و متیلاسیون DNA دارد (۱۴). آنژیم MTHFR این نقش را با تسريع تبدیل دائمی ۵-۱۰-متیلین تراهیدروفولات (موردنیاز برای سنتز DNA) به ۵-متیلین تراهیدروفولات (موردنیاز برای متیلاسیون DNA) انجام

بررسی تعادل هارדי واینبرگ نشان داد که هردو پلی‌مورفیسم در تعادل هارדי واینبرگ بودند (جدول شماره ۲). انجام آزمون مریع 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 (OR=2.634, P=0.006). آنژیم ژنوتیپ در ارتباط با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان می‌تواند مؤثر باشد. هیچ ارتباط مهمی میان پلی‌مورفیسم rs1801133 و سرطان پستان مشاهده نشد (جدول شماره ۳).

## بحث و نتیجه‌گیری

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

می دهد؛ پس فعالیت کاهش یافته این آنزیم (که ناشی از تغییر نوکلئوتیدی در MTHFR است) به اختلال در فرایند سنتز DNA و ترمیم آن و درنتیجه، به افزایش خطر ایجاد تومور پستان منجر می شود (۱۰).

در مطالعه صورت گرفته، ارتباط معناداری میان پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم 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 انجام شده باید گفت که اکرم محمد و همکاران (۲۰۱۲) در پاکستان، برای بررسی ارتباط پلی مورفیسم 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 ( $OR=1.6$ ،  $P=0.041$ )؛ همچنین ارتباط قابل توجهی 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 پلی مورفیسم rs1801133 انجام دادند و نتیجه گرفتند که میان این پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم و خطر ابتلا به سرطان نشان ندادند؛ مانند مطالعه مارتینز و همکاران در سال ۲۰۲۱ که شامل ۶۰۶ زن بزرگی (۱۲۸) بیمار مبتلا به سرطان پستان و ۴۷۸ فرد شاهد) بود و با تکنیک توالی یابی تعیین ژنوتیپ شدند. نتایج به دست آمده نشان‌دهنده نبود ارتباط معنادار میان پلی مورفیسم rs1801133 و افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان بود ( $P>0.005$ ) (۱۸)؛ همچنین در سال ۲۰۲۲، لال و همکاران پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم عامل خطرناکی برای سرطان پستان در جمعیت پنجابی نیست (۱۹).

در مطالعه‌ای که در کشور چین، هی و همکاران (سال ۲۰۱۴) انجام دادند، ارتباط میان پلی مورفیسم rs1801131 بررسی گردید و ارتباط معناداری میان پلی مورفیسم موردمطالعه و خطر ابتلا به سرطان پستان نیز مشاهده نشد (۲۰)؛ همچنین در سال ۲۰۲۱، برای بررسی اثر پلی مورفیسم rs1801131 روی جمعیت ساردن مطالعه‌ای انجام دادند. نتایج یانگر نبود ارتباط معنادار میان این پلی مورفیسم 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 پلی مورفیسم rs1801131 انجام دادند، مشخص گردید که ارتباط معناداری میان این پلی مورفیسم 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 سابقهٔ 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 پایهٔ مطالعهٔ 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. نتیجهٔ این مطالعه بدین صورت بود که ارتباط معناداری میان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs1801133 و سرطان پستان وجود داشت، در حالی که 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 گستره‌تری 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 مطالعهٔ بیشتر در آینده است.

### تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همهٔ 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 ۱۸۰۱۱۳۱ و استعداد ابتلا به سرطان پستان را در جمعیت استان تهران بررسی کردند. مطالعه آنان نشان داد که ژنوتیپ MTHFR 1298AC به عنوان 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 ۱۸۰۱۱۳۱ 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 نقشهٔ ژنتیکی متفاوت، عوامل مداخله گر غیرقابل‌کنترل 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 موردمطالعه از نواحی مختلف جمعیت ایرانی انتخاب شوند.

بر اساس آزمون آماری مربع کای، در مقایسهٔ 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، سابقهٔ فامیلی، تحصیلات، داشتن سقط‌جنین، قاعدگی زودرس با خطر ابتلا به سرطان پستان همراهی مشاهده شد. درواقع، با

## References

1. 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.
2. Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N, Poortmans P, et al. Breast cancer. Nat Rev Dis Primers 2019;5:66. doi: 10.1038/s41572-019-0111-2.
3. 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.
4. 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.
5. Hosseini M, Houshmand M. MTHFR polymorphisms and breast cancer risk. Arch Med Sci 2010; 7, 1: 134-137. doi: 10.5114/aoms.2011.20618.
6. 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.
7. 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.
8. 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/apjc.2012.13.4.1599.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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
13. 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.
14. Bao S, Ebadi A, Toughani M, Dalle J, Maseleno 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
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.
21. 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.
22. 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.