

ASSOCIATION OF METHYLTETRAHYDROFOLATE HOMOCYSTEINE METHYLTRANSFERASE (*MTR*) A2756G GENE POLYMORPHISM IN FEMALES WITH BREAST CANCER

SUMMARY

Breast cancer is by far the most common cancer among women of both developed and developing countries accounting for 25% of all female cancers. Breast cancer is the most frequently diagnosed cause of death from cancer in women worldwide, the second leading cause of death from cancer in women in developed countries, and the leading cause of death from cancer in low- and middle-income countries, where a high proportion of women present with advanced disease, which leads to a poor prognosis. Established risk factors for breast cancer include age, family or personal history of breast cancer or of precancerous lesions, reproductive factors, hormonal treatment, alcohol consumption, obesity (for postmenopausal breast cancer only), exposure to ionizing radiation, and genetic predisposition.

Methionine synthase (MTR or MS), Cobalamin-dependent methionine synthase catalyzes the transfer of a methyl group from N5-methyltetrahydrofolate to homocysteine, producing tetrahydrofolate and methionine. Insufficient accessibility of cobalamin, or inhibition of methionine synthase by exposure to nitrous oxide, leads to diminished activity of this enzyme. In humans, severe inhibition of methionine

synthase results in the development of megaloblastic anemia, and eventually in subacute combined degeneration of the spinal cord. It also results in diminished intracellular folate levels and a redistribution of folate derivatives

This study is a case control study that was carried out at the Faculty of Medicine, Beni- Suef University.

The study was conducted on 66 subjects divided into 2 groups:

Group I (patient group):

Included 37 females with breast cancer with mean age 48.9 ± 10.9 ranging from 30-63 years from those attending the oncology department of Beni-Seuf University Hospital.

Group II (control group):

Included 29 healthy female volunteers with mean age 45.6 ± 5.6 ranging from 23-51 years .

Patients and control groups were subjected to:

- **Full history taking**
- **General examination**
- **Local examination**
- **Pathology**
- **Abdominal& vaginal ultrasound**
- **Bone scan: For metastasis.**
- **Chest x-ray**

- **Contralateral mammography**

- **Laboratory investigations:**

- 1) Routine laboratory investigations:**

- Complete CBC.
- Urea, creatinine.
- Liver enzymes (ALT, AST & Alkaline phosphatase).

- 2) Tumour markers:**

- ER (estrogen receptor)
- PR (progesterone receptor)
- Her 2

- 2) Genetic analysis:**

Genomic DNA extraction and analysis for MTR A2756G polymorphism using polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method.

The present study aimed to investigate the association between polymorphisms of the MTR gene and risk of breast cancer in blood samples of breast cancer female patients using polymerase chain reaction followed by restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method.

The results of this study showed that G allele frequency was higher in breast cancer patients group than the control group 30/37 (40.6%) versus 6/29 (10.3%), while A allele frequency was higher in control group than breast cancer patients group, the control group 52/29 (89.7%) versus patients group 44/37 (59.4%), with a statistical significant difference (**P<0.05**).

The present study showed that the mutant AG & GG genotypes frequencies of MTR 2756 gene were higher in breast cancer patients than the control group (AG 20/37 (54.1%) versus 6/29 (20.7%); GG 5/37(13.5%) versus 0/29(0%) respectively), while the control group had higher wild AA genotype frequencies than the breast cancer patients 23/29 (79.3%) versus 12/37 (32.4%) , these differences reach statistical significance (**P<0.05**).

The study showed that MTR 2756 (AG) genotypes were **0.15** times more risky for developing breast cancer than AA genotypes, while MTR 2756 (GG) genotypes showed **0.05** times more risky for developing breast cancer than AA genotypes(**OR=0.15 ,95%CI (0.04-0.5),P=0.001& OR=0.05 ,95%CI (0.002-0.94),P=0.046 respectively**).

G Allele is **0.16**times more risky for developing breast cancer than A Allele (**OR=0.16, 95%CI (0.064-0.44), P=0.003**). Statistical significance as risk factors for breast cancer (**P =0.003**).

We concluded that there is an association between MTR A2756G polymorphism and the risk for breast cancer and a higher frequency of carriers of the G allele variant in females with breast cancer compared to females without any history of cancer.

The potential effect of the Methionine Synthase A2756G polymorphism deserves further investigations in similar designed studies. Large scale studies including a large number of cases with different

histopathological types & TNM staging of the disease may allow a more detailed assessment of the predictive ability of methionine synthase gene.

Another studies of other enzymes involved in folate metabolism, their plasma concentrations and other derivatives could contribute to a better understanding of the factors involved in the etiology of breast cancer.

الملخص العربي

يعتبر سرطان الثدي إلى حد بعيد أكثر أنواع السرطان شيوعا بين النساء في كل من البلدان المتقدمة والبلدان النامية فهو يمثل 25% من جميع سرطانات الإناث. سرطان الثدي هو السبب الأكثر تشخيصا للوفاة بسبب السرطان بين النساء في جميع أنحاء العالم، والسبب الرئيسي الثاني للوفاة بسبب السرطان بين النساء في الدول المتقدمة، والسبب الرئيسي للوفاة من السرطان في البلدان المنخفضة والمتوسطة الدخل، حيث أن نسبة كبيرة من النساء يتم اكتشافهن في مراحل متقدمة من المرض، الأمر الذي يؤدي إلى سوء التشخيص. ان عوامل الخطر المسببة لسرطان الثدي تشمل العمر أو التاريخ العائلي لسرطان الثدي أو الآفات السابقة للسرطان، والعوامل الإنجابية، العلاج الهرموني، واستهلاك الكحول، السمنة (لسرطان الثدي بعد انقطاع الطمث فقط)، والتعرض للإشعاع المؤين، والأستعداد الوراثي.

يعتبر أن إنزيم الميثيونين سينسيز (أم تي ار أو إم اس)، يعتمد على (كوبالامين ميثيونين سينسيز) يحفز نقل مجموعة الميثيل من (إن-5-ميثيل تتراهيدروفولات) إلى (الحمض الاميني)، وإنتاج (رباعي هيدروفوليت وميثيونين). إن عدم توافر الكوبالامين، أو تثبيط الميثيونين سينسيز عن طريق التعرض لأكسيد النيتروز، يؤدي إلى تقلص نشاط هذا الانزيم. التثبيط الشديد للميثيونين سينسيز في البشر يؤدي إلى فقر الدم الضخم (الأرومات)، وأيضا تآكل الحبل الشوكي. كما أنه يؤدي إلى تقلص مستويات الفوليت في الخلايا وإعادة توزيع لمشتقات حمض الفوليك.

هذه الدراسة هي دراسة الحالات والشواهد التي أجريت في كلية الطب جامعة بنى سويف.
وقد أجريت الدراسة على 66 حالة مقسمة إلى مجموعتين:

• مجموعة I (المرضى):

وشملت عدد 37 من الإناث المصابات بسرطان الثدي بمتوسط عمر 48.9 ± 10.9
تتراوح أعمارهم بين 30-63 عاما من اللاتي يحضرن الى قسم الأورام في مستشفى جامعة بنى
سويف.

• مجموعة II (المجموعة الضابطة):

وشملت عدد 29 متطوعة صحية بمتوسط عمر 45.6 ± 5.6 تتراوح 23-51 عاما.

تعرض المرضى و المجموعة الضابطة إلى:

أخذ التاريخ الكامل

الفحص العام

الفحص الموضعى

علم الأمراض

موجات فوق الصوتية على البطن والمهبل

فحص العظام.

أشعة سينية على الصدر

التصوير الشعاعي للثدي على الجانبين

إجراء الفحوص المختبرية:

1) الفحوص المختبرية الروتينية:

• صورة دم كاملة.

• اليوريا، والكرياتينين.

• إنزيمات الكبد (الأنين ترنسفيريز، أسيرتات ترنسفيريز والفوسفاتيز القلوي).

2) دلالات الأورام:

- مستقبلات هرمون الاستروجين
- مستقبلات هرمون البروجسترون
- هير 2

(3) التحليل الجيني:

استخراج الحمض النووي والتحليل الجيني لتعدد أشكال (ام تي ار 2756 جى) باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل تليها طريقة طول تقييد جزء تعدد الأشكال (بى سى ار -رفلب). هدفت الدراسة إلى تحليل العلاقة بين الأشكال المتعددة للجين وخطر الإصابة بسرطان الثدي في عينات الدم من السيدات المصابة بسرطان الثدي باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل تليها طول تقييد جزء تعدد الأشكال (بى سى ار -رفلب).

كما أظهرت النتائج أيضا أن تردد (جى أليل) أعلى في المرضى المصابين بسرطان الثدي من المجموعة الضابطة (37/30) (40.6%) مقابل (29/6) (10.3%). في حين كان تردد (اى أليل) أعلى في المجموعة الضابطة من مجموعة مرضى سرطان الثدي، حيث أن المجموعة الضابطة (29/52) (89.7%) مقابل مجموعة المرضى (37/44) (59.4%). مع وجود فرق إحصائي عالي الدلالة (بى >0.05) .

وأظهرت نتائج هذه الدراسة أن تردد الأنماط الوراثية (اى جى) و(جى جى) كانوا أعلى لدى مرضى سرطان الثدي من المجموعة الضابطة (اى جى) (37/20) (54.1%) مقابل (29/6) (20.7%); جى جى (37/5) (13.5%) مقابل (29/0) (0%) على التوالي، وهذه الاختلافات تصل إلى دلالة إحصائية عالية (بى >0.05)

أظهرت الدراسات أن التراكيب الوراثية (ام تي ار 2756) (اى جى) يمثل 00.15 مرة أكثر خطورة للإصابة بسرطان الثدي من التراكيب الوراثية (اى جى)، في حين التراكيب الوراثية (ام تي ار 2756) (جى جى) يمثل 0.05 مرة أكثر خطورة للإصابة بسرطان الثدي من

التراكيب الوراثية (ايى ايبى) (نسبة الخطورة = 0.15 ، 95%معدل الثقة =0.04-0.15
، 0.001=بى; ونسبة الخطورة = 0.05 ، 95%معدل الثقة = (0.002-0.094)،بى=0.064
على التوالي).

بينما (جى) أليل يمثل 00.16 مرة أكثر خطورة للإصابة بسرطان الثدي من (ايى)أليل
(نسبة الخطورة = 00.16 ، 95%معدل الثقة = (00.064-00.44) ومن ثم يعتبر دلالة إحصائية
عن عوامل الخطر لسرطان الثدي (بى= 0.003).

ومن هنا استنتجنا أن هناك ارتباط بين تعدد الأشكال ام تى ارأىى 2756جى وخطر
الإصابة بسرطان الثدي وارتفاع وتيرة حامله ال(جى) أليل البديل في الإناث المصابات بسرطان
الثدي مقارنة مع النساء دون أي تاريخ من السرطان.

التأثير المحتمل لتعدد الأشكال الميثيونين سينسيز أي 2756جى يستحق المزيد من
التحقيقات في دراسات مماثلة. نحتاج أيضا لدراسات واسعة النطاق بما في ذلك عدد كبير من
الحالات مع مختلف أنواع الأنسجة المرضية ومراحل أكثر تنوعا للمرض تتيح تقييم أكثر تفصيلا
عن القدرة التنبؤية لجين ميثيونين سينسيز.

أيضا دراسات أخرى على الإنزيمات الأخرى المشاركة في عملية الأيض حمض الفوليك،
وتركيزات البلازما الخاصة بهم وغيرها من المشتقات يمكن أن يسهم في فهم أفضل للعوامل التي
تشارك في المسببات لسرطان الثدي.

