

Polimorfizm *MTHFR* 677C>T nie wpływa na ryzyko rozwoju raka jajnika u nosicielek mutacji *BRCA1* z Wielkopolski

No association between *MTHFR* 677C>T polymorphism and ovarian cancer risk in *BRCA1* mutation carriers in Wielkopolska region

Magnowski Piotr¹, Seremak-Mrozikiewicz Agnieszka^{2,3},
Nowak-Markwitz Ewa¹, Kurzawińska Grażyna³, Drews Krzysztof², Spaczyński Marek¹

¹ Klinika Onkologii Ginekologicznej, UM w Poznaniu

² Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, UM w Poznaniu

³ Pracownia Biologii Molekularnej, Klinika Perinatologii i Chorób Kobięcych, UM w Poznaniu

Streszczenie

Wstęp: Coraz więcej dowodów wskazuje na rolę czynników genetycznych w rozwoju nowotworów. Wiadomo, że mutacje w genie *BRCA1* odpowiadają za podwyższone ryzyko rozwoju raka jajnika. Znaczenie innych zaburzeń genetycznych, takich jak wariantów polimorficznych genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*) w podwyższeniu ryzyka rozwoju nowotworów, jest ciągle jeszcze badane. Nieprawidłowa metylacja wydaje się być istotna w patogenezie raka jajnika. *MTHFR* katalizuje konwersję 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu, kosubstratu w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny. W wyniku mutacji powstają termolabilne warianty białka *MTHFR* o obniżonej aktywności enzymatycznej.

Cel badania: Ocena częstości występowania polimorfizmu 677C>T genu *MTHFR* w grupie kobiet chorych na raka jajnika w powiązaniu z nosicielstwem mutacji w genie *BRCA1* oraz ocena wpływu polimorfizmu *MTHFR* 677C>T na ryzyko rozwoju raka jajnika.

Metody: Do badania włączono 153 pacjentki z rozpoznanym rakiem jajnika z Wielkopolski (rasa kaukaska, populacja polska). U wszystkich oznaczono występowanie 3 mutacji: 5382insC, C61G oraz 4153delA w genie *BRCA1* oraz częstość występowania genotypów w zakresie polimorfizmu 677C>T w genie *MTHFR*.

Analizę częstości występowania genotypów wykonano z zastosowaniem metody PCR/RFLP.

Wyniki: Do badania zakwalifikowano 127 chorych bez mutacji w genie *BRCA1* i 26 pacjentek z jedną z trzech badanych mutacji 5382insC, C61G oraz 4153delA. W grupie z mutacją w genie *BRCA1* wykazano 3 pacjentki na 26 z genotypem zmutowanym TT w zakresie polimorfizmu 677C>T (12%). Genotyp heterozygotyczny CT występował u 13 na 26 chorych (50%) a genotyp homozygotyczny CC u 10 na 26 osób (38%).

Adres do korespondencji:

Piotr Magnowski
Klinika Onkologii Ginekologicznej
GPSK UM w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33
tel. 61 841 92 71, fax 61 841 96 45
piotrek.magnowski@poczta.fm

Otrzymano: 10.02.2010
Zaakceptowano do druku: 20.06.2010

Magnowski P, et al.

W badanej grupie 127 pacjentek z rakiem jajnika bez mutacji w genie *BRCA1* uzyskano odpowiednio genotyp zmutowany TT w zakresie polimorfizmu 677C>T u 5 kobiet (4%). Genotyp heterozygotyczny CT występował u 61 (48%) podobnie jak genotyp homozygotyczny CC u 61 (48%). Najsilniejszą wartość OR=3,18 uzyskano porównując grupy chorych z genotypem homozygotycznym TT. Obliczone wartości nie miały istotności statystycznej ($p < 0,05$).

Wnioski: W badanej grupie kobiet polskich z rakiem jajnika polimorfizm *MTHFR* 677C>T, mimo sugerowanego w wielu pracach związku z hipermetylacją i inaktywacją supresorowego genu *BRCA1*, nie wykazywał wpływu na modyfikację ryzyka rozwoju tego nowotworu u nosicielek mutacji w genie *BRCA1*.

Słowa kluczowe: rak jajnika / *BRCA1* / *MTHFR* / ryzyko / polimorfizm /

Abstract

Background: Increasing evidence indicates that genetic factors are involved in the process of carcinogenesis. *BRCA1* mutation has been proven to be responsible for increased risk of ovarian cancer. However, the importance of other genetic disorders, such as *MTHFR* polymorphism for increased risk of carcinogenesis, is still to be determined. Abnormal methylation seems to play a significant role in ovarian cancer pathogenesis. *MTHFR* catalyses the conversion of 5,10- methylenetetrahydrofolate into 5- methyltetrahydrofolate which is a co-substrate in homocysteine remethylation into methionine. Thermolabile *MTHFR* protein variants with lower enzymatic activity are the effects of the mutation.

Aim: The evaluation of 677C>T *MTHFR* polymorphism frequency in the group of ovarian cancer women with *BRCA1* mutation. The assessment of the *MTHFR* 677C>T polymorphism influence on ovarian cancer risk.

Methods: A group of 153 patients with ovarian cancer (Caucasian, Polish population in Wielkopolska region) were included into the study. 3 mutations: 5382insC, C61G and 4153delA in *BRCA1* gene, and genotype frequency within 677C>T *MTHFR* polymorphism, were identified. The analysis of genotype frequency was performed by means of PCR/RFLP method.

Results: 127 women without *BRCA1* mutation and 26 with one of the mutations: 5382insC, C61G or 4153delA were qualified for the investigation. In the group with *BRCA1* mutation, 3 out of 26 patients were with TT genotype mutation of 677C>T polymorphism (12%). Heterozygotic genotype CT appeared in 13 cases out of 26 (50%), homozygotic CC in 10 out of 26 (38%). In the group of 127 ovarian cancer patients without *BRCA1* mutation, TT genotype in 677C>T polymorphism was present in 5 women (4%). Heterozygotic genotype CT appeared in 61 cases (48%), similarly to homozygotic genotype CC - 61 (48%). The highest value (OR=3.18) was obtained when comparing the homozygotic TT genotype groups. None of the obtained values was statistically significant.

Conclusion: Contrary to numerous suggestions in various publications, we did not confirm the correlation between *MTHFR* 677C>T polymorphism and the influence on the risk of ovarian cancer in *BRCA1* mutation carriers in the investigated group of Polish women.

Key words: ovarian cancer / *BRCA1* / *MTHFR* / risk / polimorphism /

Wstęp

Rak jajnika jest nowotworem złośliwym kobiecych narządów płciowych [1]. Wykrywany jest w zaawansowanych stadiach a wyniki jego leczenia są złe [2]. Brak jest tanich testów skriningowych pozwalających wykryć wczesne postacie nowotworu. Badania epidemiologiczne prowadzone przez wiele lat nie wyodrębniły z ogólnej populacji grupy kobiet szczególnie narażonych na zachorowanie na raka jajnika. Od dawna natomiast znane jest zjawisko rodzinnej predyspozycji do zachorowania na różnego typu nowotwory, w tym raka jajnika. Ocenia się, że około jedna trzecia wszystkich nowotworów złośliwych powstaje z powodu predyspozycji genetycznych [3, 4]. Odkrycie sekwencji genomu człowieka, sklonowanie wielu genów i szybki rozwój technik molekularnych pozwoliły na precyzyjne poszukiwanie oraz identyfikację mutacji w genach, które mogą odpowiadać za dziedziczną predyspozycję do zachorowania na nowotwory [5]. W 1994 roku opublikowano wyniki międzynarodowego badania dokumentującego związek mutacji *BRCA1* z rakiem jajnika [6].

Gen *BRCA1* odkryto w 1990r a sklonowanie nastąpiło w cztery lata później [7,8]. Jest to duży gen (100 tysięcy pz DNA) zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 17 (17q21) należący do klasy genów supresorowych. Nieprawidłowe funkcjonowanie genu *BRCA1* w komórce jest przyczyną dziedzicznej predyspozycji do zachorowania na raka piersi i jajnika. Mutacje mogą występować wzdłuż całego genu *BRCA1*. W populacjach etnicznie niezróżnicowanych obserwuje się jednak tzw. efekt założyciela, czyli nowe mutacje spotyka się rzadko. Zjawisko to ma niezwykle istotne znaczenie w poszukiwaniu mutacji w genie *BRCA1* w danej populacji. U kobiet polskich najczęściej występują mutacje polegające na insercji cysteiny w pozycji 5382 (5382insC), delecji adeniny w pozycji 4153 (4153delA) oraz zamianie cysteiny na glicynę w pozycji 61 (C61G) [9,10,11]. Insercja cytozyny w pozycji nukleotydu 5382 eksonu 20 (kodon 1794) powoduje zakończenie syntezy białka w pozycji aminokwasowej 1829. Podobnie delecja adeniny (nukleotyd 4153) w eksonie 11 (kodon 1345) genu *BRCA1*

jest mutacją zmiany ramki odczytu (ang. *frameshift mutation*) i wywołuje zakończenie syntezy białka aminokwasowym kodonie 1465. Trzeci z badanych polimorfizmów to transwersja tyminy na guaninę w pozycji nukleotydowej 300 (ekson 5). Powoduje to zmianę sekwencji łańcucha aminokwasowego – w pozycji 61 zamiast cysteiny zostaje wbudowywana glicyna (*C61G*). Obecność glicyny w tej pozycji prawdopodobnie zakłóca integralność i funkcjonowanie domeny białkowej na N-końcu, nazywanej palec RING [12, 13].

Coraz więcej dowodów wskazuje na rolę czynników genetycznych w rozwoju nowotworów [14]. Wiadomo, że mutacje w genie *BRCA1* odpowiadają za podwyższone ryzyko rozwoju raka jajnika. Znaczenie innych zaburzeń genetycznych, takich jak wariantów polimorficznych genu reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (*MTHFR*) w podwyższeniu ryzyka rozwoju nowotworów, jest ciągle jeszcze badane [15]. Nieprawidłowa metylacja wydaje się być istotna w patogenezie raka jajnika. *MTHFR* katalizuje konwersję 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu, kosubstratu w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny. Gen *MTHFR* kodujący białko enzymu ma ponad 20 kpz i znajduje się na chromosomie 1 (1p36.3). Wykazano, że *MTHFR* może odgrywać rolę w karcinogenezie. W 1995 roku Frost i wsp. opisali mutację w domenie regulacyjnej genu *MTHFR* powodującą zmianę w białku – wbudowanie walinu w pozycji 222 w miejsce alaniny (A222V) [16]. Mutacja jest zlokalizowana w eksonie czwartym i spowodowana punktową transzycją cytozyny w pozycji 677 na tyminę (*677C>T*).

Polimorfizm ten znajduje się w miejscu wiążącym kofaktor *MTHFR-FAD* [17]. W wyniku mutacji powstaje termolabilny wariant białka *MTHFR* o obniżonej aktywności u nosicieli genotypu *TT* do około 30%, genotyp heterozygotyczny *CT* posiada 60% aktywności enzymu *MTHFR in vitro*. Cytoplazmatyczny enzym *MTHFR* jest homodimerem, złożonym z dwóch podjednostek o wielkości ok. 77 kDa. Całkowity brak aktywności *MTHFR* występuje bardzo rzadko i prowadzi do ciężkiej hiperhomocysteinemii, w której stężenie homocysteiny jest porównywalne z występującym w homocysteinurii spowodowanej niedoborem syntazy cystationiny.

Model mechanizmu genetycznej selekcji oparty jest prawdopodobnie na wzajemnej interakcji pomiędzy dostępnością folianów i wariantem polimorficznym *677C>T* genu *MTHFR* [18]. Równowaga pomiędzy zużywaniem 5,10-metylenotetrahydrofolianu do syntezy DNA lub tworzenia metioniny zależy od występowania allele *C* lub *T* polimorfizmu *677C>T* i stężenia folianów. W przypadku występowania wariantu *677T* genu *MTHFR* i przy dostatecznej podaży folianów jednostki jednowęglowe są głównie zużywane do syntezy DNA, a nie metioniny. Obecność allele *677T* w sytuacji deficytu kwasu foliowego powoduje akumulację uracylu i jego błędne wbudowywanie na miejsce tyminy. W konsekwencji prowadzi to do zaburzeń sekwencji kodu genetycznego i łamliwości chromosomów.

Cel badania

Ocena częstości występowania polimorfizmu *677C>T* genu *MTHFR* w grupie kobiet chorych na raka jajnika w powiązaniu z nosicielstwem mutacji w genie *BRCA1* oraz ocena wpływu polimorfizmu *MTHFR 677C>T* na ryzyko rozwoju raka jajnika.

Metody

Materiał do badań stanowiła krew żylna pobrana od 153 pacjentek z Wielkopolski chorych na nabłonkowy złośliwy nowotwór jajnika, które leczono w Klinice Onkologii Ginekologicznej Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu od 2003 do 2007.

Na badanie uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Probówki z krwią były przechowywane do czasu izolacji zamrożone w temperaturze -20°C.

Do badania włączono 153 pacjentki z rozpoznaniem rakiem jajnika z Wielkopolski (rasa kaukaska, populacja polska). U wszystkich oznaczono wcześniej występowanie najczęstszych mutacji w genie *BRCA1*: *5382insC*, *C61G* oraz *4153delA* [19].

Oceniono następnie występowanie genotypów w zakresie polimorfizmu *677C>T* w genie *MTHFR*, które wykonano w Pracowni Biologii Molekularnej Kliniki Perinatologii i Chorób Kobięcych Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

Metoda wykrywania mutacji w genie *BRCA1* i *MTHFR*.

Oznaczenie trzech najczęstszych mutacji genu *BRCA1* występujących w Polsce wykonano z zastosowaniem techniki multiplex PCR. Mutacje *5382insC* i *4153delA* wykrywane były z użyciem starterów specyficznych dla mutacji. Mutacja *C61G* oznaczana była metodą PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*) poprzez analizę produktów hydrolizy fragmentu eksonu 5 genu *BRCA1* przy użyciu enzymu restrykcyjnego *AvaII*. Zmiana ta wytwarza nowe miejsce kodowania enzymu restrykcyjnego.

Celem wizualizacji 5µl produktu PCR poddawano elektrofozie na 1,5% żelu agarozowym stabilizowanym bromkiem etyldyny (Seatem FMC, bufor 1X TBE, 25µg/ml bromku etyldyny) przy napięciu 6V/cm przez 30 minut. Oddzielone produkty były uwidocznione w świetle UV. Warunki enzymatycznej hydrolizy: Cys61Gly *BRCA1* – 10µl produktu reakcji PCR inkubowano 16h w 37°C z enzymem restrykcyjnym *AvaII*. Polimorfizm *677C>T* genu *MTHFR* również badano metodą RFLP. Reakcję PCR przeprowadzano używając termocykler Dyad DNA Engine (BioRad, USA). Produkt o wielkości 198 par zasad poddawano trawieniu enzymem restrykcyjnym *HinfI* (Eurz, Polska). Po dodaniu buforu obciążającego nakładano próbki na 2,5% żel agarozowy (TiB-MolBiol, Polska). Elektroforezę prowadzono w buforze 1xTBE przy napięciu 210V, następnie żel barwiono bromkiem etyldyny i odczytywano genotypy.

Metody opracowania statystycznego

Opracowanie statystyczne zostało wykonane przy użyciu pakietu STATISTICA v. 7.0 firmy StatSoft oraz programu Microsoft Excel. Weryfikację zależności pomiędzy dwiema cechami jakościowymi przeprowadzono za pomocą testu niezależności Chi-kwadrat ewentualnie z poprawką Yatesa. Do porównania rozkładu wieku w dwóch grupach chorych stosowano test U Manna-Whitneya. Wyniki uznawano za istotne statystycznie wtedy, gdy ich poziom istotności *p* był nie większy od 0,05. Obliczenia ilorazu szans (OR) oraz 95-procentowego przedziału ufności (95%CI) dla OR wykonywane były z użyciem funkcji zaimplementowanych w MS Excel.

Tabela I. Polimorfizm w genie *MTHFR 677C>T* u nosicielek i nienosicielek mutacji w genie *BRCA1* u pacjentek chorych na raka jajnika..

<i>MTHFR 677C>T</i>	Kobiety nosicielki mutacji <i>BRCA1</i>	Kobiety bez obecności mutacji <i>BRCA1</i>	OR	95%CI	p
CC	10/26 (39%)	61/127 (48%)	0,68	0,26-1,76	0,26
CT	13/26 (50%)	61/127 (48%)	1,09	0,43-2,79	0,49
TT	3/26 (12%)	5/127 (4%)	3,18	0,46-17,53	0,14
CC+CT	23/26 (89%)	122/127 (96%)	0,31	0,05-2,18	0,14

Wyniki

Do badania zakwalifikowano 127 pacjentek bez mutacji w genie *BRCA1* i 26 pacjentek z jedną z trzech badanych mutacji *5382insC*, *C61G* oraz *4153delA*. Średnia wieku zachorowania dla nosicielek mutacji *BRCA1* wynosiła 46,9 (SD=7,7) w porównaniu do 54,1 (SD=10,2) dla chorych bez mutacji. W grupie z mutacją w genie *BRCA1* wykazano 3 pacjentki na 26 z genotypem zmutowanym *TT* w zakresie polimorfizmu *677C>T* (12%). Genotyp heterozygotyczny *CT* występował u 13 na 26 chorych (50%) a genotyp homozygotyczny *CC* u 10 na 26 osób (38%). W badanej grupie 127 pacjentek z rakiem jajnika bez mutacji w genie *BRCA1* uzyskano odpowiednio genotyp zmutowany *TT* w zakresie polimorfizmu *677C>T* u 5 kobiet (4%). Genotyp heterozygotyczny *CT* występował u 61(48%) podobnie jak genotyp homozygotyczny *CC* u 61(48%). Najsilniejszą wartość OR=3,18 uzyskano porównując grupy chorych z genotypem homozygotycznym *TT*. Obliczone wartości nie miały istotności statystycznej ($p<0,05$).

Dyskusja

MTHFR katalizuje konwersję 5,10-metylenotetrahydrofolianu do 5-metylenotetrahydrofolianu, kosubstratu w procesie remetylacji homocysteiny do metioniny. W wyniku mutacji powstaje termolabilny wariant białka *MTHFR* o obniżonej aktywności enzymu. Całkowity brak aktywności *MTHFR* występuje bardzo rzadko i prowadzi do ciężkiej hiperhomocysteinemii. Stwierdzono, że kobiety z homocysteinurią, wrodzonym niedoborem syntazy cystationinowej i znacząco podwyższonym stężeniem homocysteiny, są narażone na utratę ciąży prawie o 50% częściej niż zdrowe kobiety [20]. Hiperhomocysteinemia, czyli obecność w surowicy krwi zbyt wysokich stężeń homocysteiny całkowitej, uważa się za czynnik ryzyka rozwoju wielu chorób, głównie sercowo-naczyniowych, neurodegeneracyjnych, powikłań towarzyszących ciąży, wad rozwojowych płodu oraz wielu nowotworów. Może być ona spowodowana uwarunkowanym genetycznie spadkiem aktywności enzymów biorących udział w przemianach homocysteiny, niedoborami w żywieniu, lub niektórymi chorobami.

W wielu krajach wzbogaca się żywność kwasem foliowym lub zaleca się suplementację, głównie kobietom planującym ciążę lub będącym w ciąży. Munoz-Moran i wsp. w grupie 695 osób zamieszkujących południowe regiony Hiszpanii wykazali znaczną różnicę w występowaniu zmutowanego allele *T* wśród

różnych grup wiekowych, zwłaszcza duży wzrost częstości występowania genotypu *TT* zaobserwowali oni u ludzi poniżej 20 roku życia [21]. Związane jest to prawdopodobnie ze wzrostem rozpoczętej w latach 80. XX wieku suplementacji kwasu foliowego wśród kobiet ciężarnych. Sugerują oni także, że różnica w występowaniu zmutowanego allele pomiędzy Europą Północną a Południową może być związana z bogatą w foliany dietą śródziemnomorską. Pomimo pozytywnego z jednej strony, wpływu tych działań zwiększenie w przyszłości procentu nosicieli zmutowanego genotypu *TT* może prowadzić do częstszych zachorowań na choroby sercowo-naczyniowe i większe ryzyko występowania wielu nowotworów w populacji [22].

W badanej grupie polskich kobiet z rakiem jajnika polimorfizm *MTHFR 677C>T*, nie wykazywał wpływu na modyfikację ryzyka rozwoju tego nowotworu u nosicielek mutacji w genie *BRCA1*. Sugeruje się jednak możliwość występowania związku pomiędzy hipermetylacją i inaktywacją supresorowego genu *BRCA1*. Do tej pory zależność taką znaleziono w dwóch opublikowanych badaniach.

W pracy autorstwa Gershoni-Baruch i wsp. z 2000 roku oceniano częstość występowania polimorfizmu *MTHFR 677C<T* w zależności od pochodzenia nowotworu. Badanie przeprowadzono z udziałem 491 kobiet narodowości żydowskiej chorych na raka piersi i/lub jajnika. Nowotwory oceniono jako sporadyczne ($n=355$; 72%) lub dziedziczne ($n=136$; 28%). Opisane grupy porównano z 69 asymptomatycznymi nosicielkami mutacji *BRCA1/2* genotypowanymi w kierunku trzech najczęstszych mutacji założycielskich (*185delAG*, *5382insC*, *6174delT*) [23].

Homozygoty *677T* były rozłożone po równo wśród kobiet chorych na sporadyczne raki piersi i jajnika (71/355; 20,0%) i wśród nosicielek mutacji *BRCA1/2* (43/205; 21,0%). Podobną obserwację poczyniono wobec homozygot *677T* wśród kobiet z rakiem piersi zdiagnozowanym przed (22/122; 18,0%) i po 42 roku życia (42/243; 17,3%).

Zbliżony wynik uzyskano porównując nosicielki mutacji *BRCA1/2* gdzie liczba homozygot *677T* u chorych (32/136; 23,5%) i zdrowych nosicielek (11/69; 15,9%) nie była istotnie różna. Liczba homozygot *677T* (24/72; 33,3%) była istotnie wyższa ($p=0,0026$) wśród kobiet z dwustronnym rakiem piersi oraz chorych na raka piersi i jajnika w porównaniu z pacjentkami chorymi na raka piersi po jednej stronie (64/365; 17,5%).

Różnice w śmiertelności w badanych grupach były głównie związane z homozygotami *677T* i częściowo z nosicielkami mutacji *BRCA1/2*.

Polimorfizm MTHFR 677C>T nie wpływa na ryzyko rozwoju raka jajnika...

Autorzy dowodzą, że genotyp homozygotyczny 677T jest relatywnie częstszy u kobiet chorych na raki obu piersi lub przy współistnieniu raka piersi i jajnika u tej samej pacjentki.

W pracy autorstwa Jakubowskiej i wsp z 2007 badano polimorfizmy 677C>T i 1298A>C genu MTHFR. Oceniano ich wpływ na ryzyko rozwoju raka piersi i jajnika wśród polskich nosicielek mutacji w genie BRCA1 [24]. Do badania włączono 319 chorych z rakiem piersi, 146 z rakiem jajnika i 290 zdrowych nosicielek. Wykazano, że polimorfizm MTHFR 677C>T był związany z podwyższonym ryzykiem zachorowania na raka piersi i jajnika. Polimorfizm MTHFR 1298A>C powodował obniżenie ryzyka rozwoju raka piersi. Badacze oceniają, że polimorfizm genu MTHFR modyfikuje ryzyko rozwoju raka piersi i może potencjalnie zmieniać ryzyko rozwoju raka jajnika u kobiet z dziedzicznymi predyspozycjami.

W konkluzji autorzy zaznaczają, że ich praca dostarcza dowodów na rolę polimorfizmów MTHFR 677C>T i MTHFR 1298A>C w modyfikacji ryzyka rozwoju raka piersi i jajnika u polskich kobiet nosicielek mutacji BRCA1. Zdaniem Jakubowskiej i wsp jeśli ten związek potwierdzi się w większych badaniach, ocena polimorfizmu MTHFR razem z innymi genami o niskiej penetracji może dostarczyć dodatkowych wskazówek do oceny ryzyka, poradnictwa genetycznego i postępowania z takimi kobietami.

Wnioski

W badanej grupie polskich kobiet z rakiem jajnika polimorfizm MTHFR 677C>T, mimo sugerowanego w wielu pracach związku z hipermetylacją i inaktywacją supresorowego genu BRCA1, nie wykazywał wpływu na modyfikację ryzyka rozwoju tego nowotworu u nosicielek mutacji w genie BRCA1.

13. Friedman L, Ostermeyer E, Szabo C, [et al.]. Confirmation of BRCA1 by analysis of germline mutations linked to breast and ovarian cancer in ten families. *Nat Genet.* 1994, 8, 399-404.
14. Szymańska-Pasternak J, Szymańska A, Mędrak K. [et al.]. CHEK2 variants predispose to benign, borderline and low-grade invasive ovarian tumors. *Gynecol Oncol.* 2006, 102, 429-431.
15. Magnowski P, Medrek K, Magnowska M, [i wsp.]. Mutacja 3020insC w genie NOD2 u chorych z rakiem jajnika. *Ginekol Pol.* 2008, 79, 544-549.
16. Frosst P, Blom H, Milos R, [et al.]. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet.* 1995, 10, 111-113.
17. Guenther B, Sheppard C, Tran P, [et al.]. The structure and properties of methylenetetrahydrofolate reductase from *Escherichia coli* suggest how folate ameliorates human hyperhomocysteinemia. *Nat Struct Bio.* 1999, 6, 359-365.
18. Kurzawińska G. Polimorfizm genów warunkujących trombofiliję wrodzoną w grupie kobiet z poronieniami w I trymestrze ciąży. *Rozprawa doktorska.* Pracownia Biologii Molekularnej w Klinice Perinatologii i Chorób Kobięcych UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 2008.
19. Magnowski P. Epidemiologia molekularna raka jajnika i raka endometrium oraz analiza wybranych cech patologiczno-klinicznych. *Rozprawa doktorska.* Klinika Onkologii Ginekologicznej Katedry Ginekologii i Położnictwa UM im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 2007.
20. Mudd S, Skovby F, Levy H, [et al.]. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1985, 37, 1-31.
21. Munoz-Moran E, Dieguez-Lucena J, Fernandez-Arcas N, [et al.]. Genetic selection and folate intake during pregnancy. *Lancet.* 1998, 352, 1120-1121.
22. Lucock M, Yates Z. Folic acid - vitamin and panacea or genetic time bomb? *Nat Rev Genet.* 2005, 6, 235-240.
23. Gershoni-Baruch R, Dagan E, Israeli D, [et al.]. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with breast and/or ovarian cancer risk in Jewish women. *Eur J Cancer.* 2000, 36, 2313-2316.
24. Jakubowska A, Gronwald J, Menkiszak J, [et al.]. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms modify BRCA1-associated breast and ovarian cancer risks. *Breast Cancer Res Treat.* 2007, 104, 299-308.

Piśmiennictwo

1. Spaczyński M, Bidziński M, Basta A, [i wsp.]. Rekomendacje PTG dotyczące raka jajnika. *Ginekol Pol.* 2006, 77, 495-501.
2. Nowak M, Szpakowski M, Malinowski A, [i wsp.]. Rak jajnika I. Epidemiologia, objawy, klasyfikacja FIGO. *Ginekol Pol.* 2000, 71, 1179-1183.
3. Lynch H, Fusaro R, Lynch J. Hereditary cancer in adults. *Cancer Detect Prev.* 1995, 19, 219-233.
4. Lichtenstein P, Holm N, Verkasalo P, [et al.]. Environmental and heritable factors in the causation of cancer - analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark and Finland. *N Engl J Med.* 2000, 343, 78-85.
5. Menkiszak J, Gorski B, Jakubowska A, [et al.]. Clinical characteristics of hereditary ovarian cancers (HOC) in Poland. *Ginekol Pol.* 2002, 73, 733-739.
6. Steichen-Gersdorf E, Gallon H, Ford D, [et al.]. Familial site-specific ovarian cancer is linked to BRCA1 on 17q12-21. *Am J Hum Genet.* 1994, 55, 870-875.
7. Hall J, Lee M, Newman B, [et al.]. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990, 250, 1684-1689.
8. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, [et al.]. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science.* 1994, 266, 66-71.
9. Górski B, Byrski T, Huzarski T, [et al.]. Founder mutations in the BRCA1 gene in Polish families with breast-ovarian cancer. *Am J Hum Genet.* 2000, 66, 1963-1968.
10. Grzybowska E, Zientek H, Jasińska A, [et al.]. High frequency of recurrent mutations in BRCA1 and BRCA2 genes in Polish families with breast and ovarian cancer. *Hum Mutat.* 2000, 16, 482-490.
11. Grzybowska E, Siemińska M, Zientek H, [et al.]. Germline mutations in the BRCA1 gene predisposing to breast and ovarian cancers in Upper Silesia population. *Acta Biochim Pol.* 2002, 49, 351-356.
12. Chang S, Biswas K, Martin B, [et al.]. Expression of human BRCA1 variants in mouse ES cells allows functional analysis of BRCA1 mutations. *J Clin Invest.* 2009, 119, 3160-3171.