

بررسی همبستگی پلی مورفیسم جایگاه‌های *FokI* و *BsmI* ژن گیرنده ویتامین D با خطر سرطان روده بزرگ در بیماران ایرانی مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی تهران

پدرام عظیم زاده^۱، مهدی منتظر حقیقی^۲، سیدرضا محبی^۳، سارا رومانی^۴، سیدرضا فاطمی^۵،
محمد امین پور حسینقلی^۶، فاطمه نعمتی ملک^۷، محمدرضا زالی^۸

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۲ دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۳ دکترای تخصصی ویروس شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۵ استادیار، فوق تخصص گوارش، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۶ دکترای آمار زیستی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۷ پزشک عمومی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^۸ استاد، فوق تخصص گوارش، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D و سرطان روده بزرگ، سینه و پروستات مشخص شده است. در این مطالعه همبستگی دو پلی مورفیسم ژن *VDR* در جایگاه‌های برش آنزیمی *BsmI* و *FokI* با خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ بیماران ایرانی بررسی شد. **روش بررسی:** در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۱۰ نمونه *DNA* افراد مبتلا به سرطان روده بزرگ و ۱۱۰ نمونه افراد شاهد سالم جمع‌آوری شد. تعیین ژنوتیپ به روش *PCR-RFLP* انجام شد و برای تأیید نتایج *RFLP*، ژنوتایپ پنج درصد آنها با روش تعیین توالی مستقیم تعیین شد. **یافته‌ها:** فراوانی در پلی مورفیسم‌های جایگاه‌های *BsmI* و *FokI* ژن گیرنده ویتامین D میان بیماران و افراد شاهد سالم تا حد زیادی مشابه بود. توزیع اللی نیز در هر دو گروه مشابه گزارش شد. از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری میان بیماران دو گروه یافت نشد. **نتیجه‌گیری:** میان پلی مورفیسم *BsmI* و *FokI* ژن گیرنده ویتامین D و خطر سرطان روده بزرگ در بیماران ایرانی رابطه معنی‌داری وجود ندارد. برای تأیید این نتایج و تعمیم آن به همه جمعیت ایرانی به انجام مطالعات گسترده با حجم نمونه بالاتری نیاز است. **واژگان کلیدی:** *FokI*، *BsmI*، گیرنده ویتامین D، سرطان روده بزرگ.

مقدمه

و چهارمین سرطان شایع در بین هر دو جنس در ایران می‌باشد (۳). ویتامین D محلول در چربی است و در مواد غذایی مثل تخم مرغ و روغن کبد ماهی یافت می‌شود، اما نوع D_3 آن در پوست انسان و هنگام قرارگیری در معرض پرتو فرابنفش خورشید تولید می‌شود (۴). با این پیش فرض که ویتامین D در سلول‌های اپی‌تلیال کشت شده، تکثیر را کاهش و تمایز را افزایش می‌دهد (۵) و همچنین در رده‌های سلولی توموری روده بزرگ مرگ برنامه ریزی شده سلولی را القاء می‌کند (۶-۹)،

سرطان روده بزرگ تومور بدخیم بافت سنگفرشی روده است (۱) و شایع‌ترین نوع سرطان در کشورهای توسعه یافته می‌باشد (۲). رخداد سرطان روده در سال‌های اخیر در ایران افزایش یافته است

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پدرام عظیم زاده (email: Azimzadeh.pedram@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۲/۲۹

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۵/۱۲

ورود ۱۱۰ نمونه شاهد به مطالعه نیز، دارا بودن نتایج کولونوسکوپی و پاتولوژی منفی برای سرطان روده بزرگ بودند و افراد دارای سابقه هر نوع سرطان از مطالعه خارج شدند. نمونه‌های مورد مطالعه از نظر سن و جنس همسان‌سازی شدند و همه نمونه‌ها از نظر نژادی بررسی و ایرانی بودن آنها تأیید گردید. همه بیماران و افراد شاهد در جریان اختیاری بودن شرکت در طرح قرار گرفته و فرم کتبی رضایت‌نامه مورد تأیید کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش و کبد دانشگاه شهید بهشتی را امضاء کردند.

استخراج DNA ژنومی از خون محیطی افراد با روش استاندارد فنل-کلروفورم انجام شد و برای تکثیر با روش PCR مورد استفاده قرار گرفت. واکنش PCR برای هر یک از SNP ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی انجام شد و محصول PCR تحت اثر آنزیم‌های محدودالایتر قرار گرفت.

توالی پرایمرها برای جایگاه FokI (۶) 5'-AGCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3' و 5'-ATGGAACACCTTGCTTCTTCTCCCTC-3' با محصولی به طول ۲۶۵ جفت باز و توالی پرایمرها برای جایگاه BsmI (۷) 5'-GGCAACCTGAAGGGGAGACGTA-3' و 5'-CTCTTTGGACCTCATCACCGAC-3' با محصولی به طول ۴۶۱ جفت باز می‌باشد. تکثیر ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با ۲/۵ میکرولیتر بافر حاوی ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ و ۰/۵ میکرولیتر از مخلوط حاوی ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP، ۵ پیکومول از هر پرایمر (Bioneer) و ۲/۵ واحد آنزیم Taq پلیمرز (ژن فن آوران) استفاده شد.

محصولات PCR های فوق به ترتیب به مدت ۱۴ تا ۱۶ ساعت تحت هضم آنزیمی با آنزیم محدود کننده Fok I با دمای انکوباسیون ۵۵ درجه سانتی‌گراد و BsmI با دمای انکوباسیون ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (Fermentas International Inc) و محصول RFLP بر روی ژل ۲٪ آگارز LE شرکت Roche با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید آنالیز شد. اطلاعات استخراج شده از پایگاه داده‌ها مربوط به طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی در هر دو جایگاه پلی مورف مورد بررسی در جدول ۱ آمده است.

همسان‌سازی نمونه‌ها در انتهای مطالعه به صورت گروهی با استفاده از روش آماری رگرسیون لوجستیک چند متغیره انجام شد. بررسی نمونه‌های بیمار و شاهد از نظر توزیع اللی نشان داد که فراوانی در هر دو گروه مطابق تعادل هاردی-واینبرگ است. مقایسه توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی با استفاده از آزمون کای دو انجام شد و تفاوت در عوامل دموگرافیک با استفاده از آزمون t یا کای دو محاسبه شد. تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶

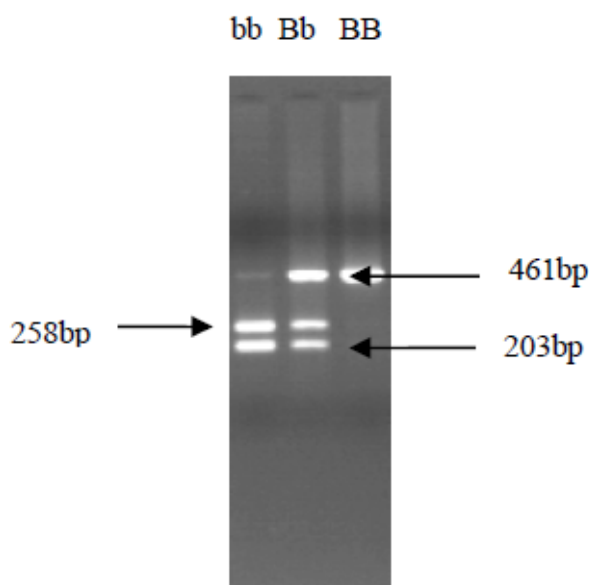
عملکرد آن در تعاریف کلاسیک ضد سرطان قرار می‌گیرد. در مطالعات اخیر نقش احتمالی افزایش ویتامین D در کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ تحت بررسی قرار گرفته است (۱۱،۱۰). ویتامین D نقش زیستی خود را از طریق شکل فعال ۱،۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D ایفا می‌کند و فعالیت آن به اتصال به گیرنده درون سلولی اختصاصی ویتامین D (Vitamin D Receptor) وابسته است، که توالی نوکلئوتیدی آن در ژنوم انسان به عنوان یک ناحیه ژنی بسیار پلی مورف شناخته می‌شود. ژن رمز کننده VDR بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۲ قرار گرفته و ۱۴ اگزون دارد. عملکرد این گیرنده ارتباط مستقیمی را با مقدار ویتامین D فعال در گردش خون و مقادیر اندازه‌گیری شده در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد (۱۲،۱۳). همچنین پروتئین VDR به عنوان یک عامل تسهیل کننده ایجاد تومور در مراحل ابتدایی بیماری شناخته می‌شود، زیرا میزان آن در بافت‌های توموری به استثناء مرحله پیشرفته آن، افزایش می‌یابد (۱۴). یکی از جایگاه‌های پلی مورف این ژن، FokI (T>C۲۷۸۲۳) است که در اگزون ۲ واقع شده و منجر به تغییر در رونویسی ژن و اضافه شدن ۳ اسید آمینه به انتهای پروتئین می‌شود (۱۵). جایگاه BsmI (G>A ۶۰۸۹۰) در اینترون ۸ واقع شده است و مطالعات متعددی بر روی پلی مورفیسیم آن در بیماری‌های مختلف از جمله سرطان پستان (۵)، سرطان پروستات (۱۶) و سرطان بافت سنگفرشی رحم (۶) انجام شده است.

با توجه به اثر مولکولی این تغییرات ژنی بر رونویسی و میزان بیان پروتئین گیرنده ویتامین D و از طرفی تاثیر مستقیم گیرنده ویتامین D بر عملکرد ویتامین D در کاهش تکثیر سلول‌های بافت اپیتلیوم (۱۷)، می‌توان این پلی مورفیسیم‌ها را به عنوان کاندیدایی برای افزایش خطر سرطان‌های بافت اپیتلیوم مانند سرطان روده بزرگ نام برد. هدف از این مطالعه تعیین ژنوتیپ دو پلی مورفیسیم مهم ژن گیرنده ویتامین D در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ و افراد شاهد سالم و امکان سنجش دخالت این تغییرات ژنی در افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ در جمعیت ایرانی می‌باشد.

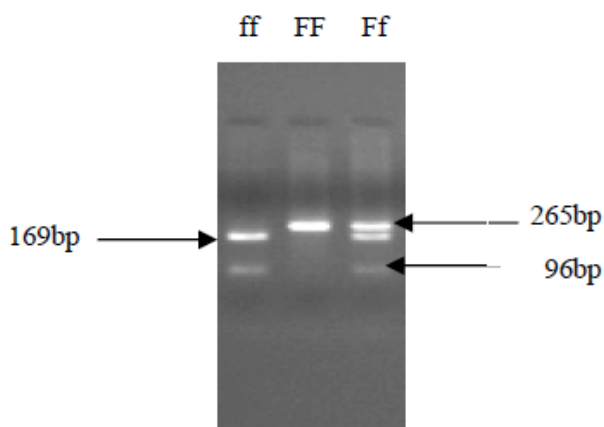
مواد و روشها

در این مطالعه مورد-شاهدی، از بیماران ارجاع شده به بخش گوارش بیمارستان طالقانی تهران تعداد ۱۱۰ فرد که سرطان روده بزرگ در آنها با نتایج کولونوسکوپی و پاتولوژی تأیید شده بود، برای ورود به مطالعه انتخاب شدند. معیار خروج افراد بیمار از مطالعه نیز نتایج پاتولوژی منفی برای سرطان، در نظر گرفته شد. معیار

در شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب باندهای به دست آمده بر روی ژل آگارز ۲٪، از انجام هضم آنزیمی به روش RFLP بر روی محصول PCR در جایگاه‌های BsmI و FokI مشاهده می‌شود. این نتایج با محاسبات تئوریک مطابقت دارد. نتایج نمونه‌های واجد ژنوتیپ‌های مختلف هموزیگوت و هتروزیگوت بر روی ژل دارای چند شکلی طولی متفاوتی هستند که مبنای تعیین ژنوتیپ قرار می‌گیرد.



شکل ۱ - نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR با BsmI. ستون سمت چپ با دو قطعه به طول ۲۵۸ و ۲۰۳ جفت باز نشانگر ژنوتایپ bb. ستون وسط با سه قطعه ۲۵۸، ۲۰۳، ۴۶۱ جفت باز نشانگر ژنوتایپ Bb و ستون سمت راست با یک قطعه ۴۶۱ جفت بازی محصول PCR برش نخورده، نشانگر ژنوتایپ BB است.



شکل ۲ - نتیجه هضم آنزیمی محصول PCR با FokI. ستون سمت چپ با دو قطعه به طول ۱۶۹ و ۹۶ جفت باز نشانگر ژنوتایپ ff. ستون وسط با یک قطعه ۲۶۵ جفت باز نشانگر ژنوتایپ Ff و ستون سمت راست با سه قطعه ۹۶، ۱۶۹ و ۲۶۵ جفت بازی محصول PCR برش نخورده، نشانگر ژنوتایپ FF است.

انجام شد و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای همه نمونه‌ها نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان (CI) ۹۵٪ آن محاسبه شد.

جدول ۱- ژنوتیپ و طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی.

آنزیم	ژنوتایپ	طول قطعات بر اساس جفت باز
FokI	هموزیگوت برش نخورده	۲۶۵
	هموزیگوت برش خورده	۱۶۹-۹۶
	هتروزیگوت	۲۶۵-۱۶۹-۹۶
BsmI	هموزیگوت برش نخورده	۴۶۱
	هموزیگوت برش خورده	۲۵۸-۲۰۳
	هتروزیگوت	۴۶۱-۲۵۸-۲۰۳

یافته‌ها

میانگین سنی بیماران ۵۳/۷ سال (محدوده ۲۰ تا ۸۳ سال) و افراد سالم ۴۵/۲ سال (محدوده ۱۵ تا ۹۰ سال) بود. پیشینه افراد از نظر مصرف سیگار و میانگین شاخص توده بدن در هر دو گروه در جدول ۲ خلاصه شده است و رابطه معنی‌داری میان متغیرهای جنس و مصرف سیگار با افزایش خطر ابتلاء به سرطان روده بزرگ یافت نشد. ولی میانگین سن افراد گروه مبتلا به سرطان نسبت به گروه شاهد سالم بالاتر بود. میانگین شاخص توده بدن نیز در دو گروه تحت بررسی بسیار نزدیک به هم بود.

جدول ۲- مشخصات جمعیت مورد مطالعه.

گروه	بیمار	شاهد	p-value
سن	۵۳/۷±۱۴*	۴۵/۲±۱۸/۳	۰/۰۰۱
جنسیت			۰/۲۸
مرد	۵۹(۵۳/۶)†	۵۱(۴۶/۴)	
زن	۵۱(۴۶/۴)	۵۹(۵۳/۶)	
مصرف سیگار			۰/۳۲
غیر سیگاری	۸۶(۷۸/۲)	۹۴(۸۵/۵)	
سیگاری سابق	۱۳(۱۱/۸)	۶(۵/۵)	
سیگاری کنونی	۱۱(۱۰)	۱۰(۹/۱)	
شاخص توده بدن	۲۴/۷‡	۲۵/۱	۰/۱۸

* میانگین ± انحراف معیار (سال)؛ † تعداد (درصد)؛ ‡ میانگین (کیلوگرم بر مترمربع)

جدول ۳- فراوانی ژنوتیپ ها و الل ها در جمعیت مورد بررسی.

گروه	شاهد	بیمار	p-value	† (95% CI) OR همسان سازی شده*
ژنوتیپ‌های BsmI گیرنده ویتامین D				
BB	۱۷(۱۵/۵) [‡]	۱۹(۱۷/۳)	۰/۹	۱/۰۳ (۰/۴۵ - ۲/۳۶)
Bb	۵۵(۵۰)	۵۱(۴۶/۴)		
bb	۳۸(۳۴/۵)	۴۰(۳۶/۴)		
الل‌های BsmI				
B	(۴۰)	(۴۰)	۱	--
b	(۶۰)	(۶۰)		
ژنوتیپ‌های FokI گیرنده ویتامین D				
FF	۶۵(۵۹/۱)	۶۴(۵۸/۲)	۰/۹۵	۰/۹۵ (۰/۲۵ - ۳/۶۵)
Ff	۴۰(۳۶/۴)	۴۱(۳۷/۳)		
ff	۵(۴/۵)	۵(۴/۵)		
الل‌های FokI				
F	(۷۷)	(۷۷)	۱	--
f	(۲۳)	(۲۳)		

* همسان سازی شده برای سن، جنس و شاخص جرم بدن توسط روش‌های آماری در انتهای مطالعه؛ † نسبت شانس (فاصله اطمینان ۹۵ درصد)؛ ‡ تعداد (درصد)

فرضیه‌ای که وجود دارد، ویتامین D میزان تکثیر سلول‌های اپی تلیال را کاهش داده و آنها را به سمت تمایز سوق می‌دهد. همچنین می‌دانیم که ویتامین D تاثیر خود را از طریق پروتئین گیرنده‌اش اعمال می‌کند (۱۹، ۱۸).
تأثیر تغییرات در سطح ژنوم در جایگاه‌های FokI و BsmI بر افزایش خطر سرطان‌های مختلفی مثل پروستات، سینه و روده بزرگ در جمعیت‌های مختلفی بررسی شده است (۲۰-۲۲، ۱۱).
لی و همکارانش در چین مطالعه‌ای برای تعیین همبستگی پلی مورفیسیم‌های VDR با سرطان کولون و رکتوم انجام دادند. الل B جایگاه BsmI در بیماران سرطان روده بزرگ کمتر از افراد شاهد سالم بود و این اختلاف معنی‌دار را این‌طور تفسیر کردند که الل B می‌تواند نقش حفاظتی در برابر این نوع از سرطان داشته باشد و ژنوتایپ BB را کهنه‌دهنده خطر سرطان کولون و رکتوم معرفی کردند (۱). در حالی که بر خلاف نتایج مطالعه لی و همکارانش، در جمعیت ایرانی مورد مطالعه در مقاله حاضر، الل B در ژنوتایپ BB در گروه بیماران اندک افزایشی نشان داد (جدول ۳)، گرچه این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود.

در چند مطالعه نشان داده شده که پلی مورفیسیم جایگاه BsmI در 3 ژن با ابتلا به سرطان روده مرتبط است و تغییر در الل FokI در سمت 5' اگزون ۲ تاثیر در خطر ابتلا به این سرطان ندارد (۲۴، ۲۳، ۱۱، ۵).

در گروه شاهد توزیع ژنوتایپ BsmI به صورت BB ۱۵/۵ درصد، Bb ۵۰ درصد و bb ۳۴/۵ درصد و برای FokI به صورت FF ۵۹/۱ درصد، Ff ۳۶/۴ درصد و ff ۴/۵ درصد تعیین شد و در بیماران سرطانی روده بزرگ توزیع ژنوتایپ BsmI به صورت BB ۱۷/۳ درصد، Bb ۴۶/۴ درصد و bb ۳۶/۴ درصد و برای FokI به صورت FF ۵۸/۶ درصد، Ff ۳۶/۸ درصد و ff ۴/۵ درصد بود.
ژنوتایپ BB در جایگاه BsmI بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ نسبت به نمونه‌های شاهد اندکی افزایش نشان داد، اما در این میان اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در مورد جایگاه FokI نتایج تعیین ژنوتایپ در هر دو گروه کاملاً مشابه بود.
نتایج نشان داد که در جمعیت ایرانی مورد بررسی میان پلی مورفیسیم جایگاه‌های FokI و BsmI و خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

همان‌طور که در جدول ۳ نیز نشان داده شده است، بین توزیع الل‌ها در هر یک از جایگاه‌های پلی مورف و در میان دو گروه بیماران و افراد شاهد سالم اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

بحث

در تعیین توالی مجددی که اخیراً روی ژن گیرنده ویتامین D صورت گرفته، ۱۹۴ پلی مورفیسیم تعیین شده است، اما تاثیر عملی این تغییرات هنوز مبهم و نامشخص است (۱). بنا بر

همان طور که می‌توان انتظار داشت و در مطالعه اینگلز نیز به آن اشاره شده است، توزیع ژنوتایپ‌ها در بین نژادهای مختلف ایرانی، ترک و شرق آسیا متفاوت است. حتی در مورد مطالعاتی که در یک نژاد خاص انجام شده‌اند، احتمال اختلاف نتایج به دلیل تفاوت جمعیت‌های تحت بررسی و تعداد نمونه‌های بررسی شده، وجود دارد. در نهایت با توجه به اینکه علت اصلی یعنی سرطان کولون و رکتوم در همه مطالعات مذکور ثابت بوده و متغیرهای موجود مثل تفاوت نژادی و جمعیتی هستند، نمی‌توانیم نتایج به دست آمده از یک مطالعه در جمعیتی خاص را به همه تعمیم داده و علت‌شناسی (اتیولوژی) سرطان روده بزرگ را بر اساس آن نتایج ترسیم کنیم. اما روش دیگری هم قابل تأمل است که مطابق آن می‌توانیم علت‌شناسی هر بیماری مرتبط با تغییرات ژنی را با توجه به تأثیر عوامل محیطی - تغذیه ای، در مناطق مختلف دنیا به صورت مجزا انجام دهیم. با استفاده از این روش می‌توانیم یک تغییر ژنی را در نژاد یا جمعیتی خاص مرتبط با ایجاد نوعی از بیماری مثل سرطان کولون و رکتوم بدانیم و در جمعیت یا نژاد دیگر این ارتباط را رد نماییم. البته هنوز روش معینی در علت‌شناسی سرطان‌های دارای منشأ ژنتیکی مثل سرطان روده بزرگ (کولون و رکتوم) به صورت استاندارد طلایی وجود ندارد.

یافته‌های این مطالعه نشان دهنده عدم ارتباط دو پلی‌مورفیسم ژن گیرنده ویتامین D با افزایش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ است. با توجه به اینکه از تعیین ژنوتایپ پلی‌مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D در نژادها و جمعیت‌های مختلف نتایج متفاوتی به دست آمده است، برای دستیابی به یک نتیجه قابل اتکاء تر و قابل تعمیم به همه افراد از مناطق مختلف دنیا به انجام مطالعات گسترده‌تری با تعداد نمونه‌های بیشتر نیازمند هستیم.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاران بخش بانک DNA مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، خانم‌ها نرگس ابراهیمی و شهره الماسی و کارشناس بخش بیوشیمی، سرکار خانم پروانه محمدی تشکر و قدردانی می‌نماییم.

REFERENCES

- Li C, Li Y, Gao LB, Wang YY, Zhou B, Lu ML, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 634-39.
- Kim HS, Newcomb PA, Ulrich CM, Keener CL, Bigler J, Farin FM, et al. Vitamin D polymorphism and the risk of colorectal adenomas: evidence of interaction with dietary vitamin D and calcium. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001; 10: 869-74.
- Moghimi-Dehkordi B, Safaee A, Zali MR. Prognostic factors in 1,138 Iranian colorectal cancer patients. *Int J Colorectal Dis* 2008; 23: 683-88.

اما یافته‌های ایشبیر و همکارانش در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم های ژن گیرنده ویتامین D در بیماران سرطان روده در استانبول ترکیه، از معدود دست آوردهایی است که ارتباط مستقیم ژنوتایپ‌های هموزیگوت جایگاه FokI با خطر ابتلا به سرطان روده را نشان می‌دهد. در بیماران مورد بررسی این محققان، ژنوتایپ ff بیشتر از افراد شاهد بود (۷). در حالی که در مطالعات اینگلز در سال ۱۹۹۷ و پیترز در سال ۲۰۰۱ هیچ داده‌ای مبنی بر ارتباط پلی‌مورفیسم جایگاه FokI و سرطان روده بزرگ به دست نیامد (۹-۱۱). یافته‌های مطالعه حاضر نیز مطابق این دو بررسی است و با نتایج ایشبیر مخالف می‌باشد، به عبارتی تغییر ژنی جایگاه FokI را با افزایش خطر سرطان روده بزرگ مرتبط نمی‌داند (جدول ۳). شاخص توده بدن و جنس افراد از ابتدای ورود به مطالعه تفاوت معنی‌داری نداشت و به دلیل اندک تفاوت سن افراد بیمار و شاهد این متغیرها با روش‌های آماری همسان سازی شدند. با توجه به همسان‌سازی داده‌های دموگرافیک، مانند سن و جنس و شاخص جرم بدن در هنگام محاسبات آماری، در بررسی تفاوت‌های میان دو گروه وارد شده به مطالعه این متغیرها اثرگذار نیستند.

اختلاف نتایج تعیین ژنوتایپ و تعیین همبستگی ژنوتایپ‌ها با افزایش یا کاهش خطر ابتلا را در چند متغیر می‌توان جستجو کرد، به ویژه در توجیه نتایج تعیین ژنوتایپ جایگاه BsmI ژن گیرنده ویتامین D که توزیع یک ال در یک جمعیت در بیماران کمتر بوده و در جمعیت دیگر همان ژنوتایپ اندک افزایشی در گروه بیماران نشان می‌دهد. اول اینکه پلی‌مورفیسم جایگاه BsmI ژن گیرنده ویتامین D بر توالی اسید آمینه‌ای این گیرنده پروتئینی اثر گذار نیست و هنوز برای مکانیسم دقیق اثر این تغییر ژنی بر عملکرد گیرنده ویتامین D و متعاقب آن ویتامین D توضیح مشخصی وجود ندارد (۸). دلیل دیگر را می‌توان در مطالعه دومی که از اینگلز و همکارانش در سال ۱۹۹۷ و مطالعه دفاریا و همکارانش در سال ۲۰۰۸ منتشر شده است، جستجو کرد. از نظر این محققان تفاوت‌های نژادی افراد باید مبنای تشخیص همبستگی پلی‌مورفیسم‌های این ژن با ناهنجاری‌ها قرار گیرد (۲۶،۲۵).

4. Park KS, Woo M, Nam JH, Kim JC. Start codon polymorphisms in the vitamin D receptor and colorectal cancer risk. *Can Let* 2006; 237: 199-206.
5. Sinotte M, Rousseau F, Ayotte P, Dewailly E, Diorio C, Brisson J. Vitamin D receptor polymorphisms (FokI, BsmI) and breast cancer risk: association replication in two case-control studies within French Canadian population. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 975-83.
6. Potter JD. Colorectal cancer: molecules and populations. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 916-32.
7. Diaz GD, Paraskeva C, Thomas M, Binderup L, Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D3 and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res* 2000; 60: 2304-12.
8. Clendenena TV, Arslana AA, Zeleniuch-Jacquottea A, Enquistd K, Wirgina I, Agren A. Vitamin D receptor polymorphisms and risk of epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett* 2008; 18: 209-15.
9. Cox DG, Pontes C, Guino E, Navarro M, Osorio A, Canzian F, et al. Polymorphisms in prostaglandin synthase2/cyclooxygenase2(PTGS2/COX2) and risk of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004; 91: 339-43.
10. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998; 78: 1193-231.
11. Sakulpipatsin W, Verasertniyom O, Nantiruj K, Totemchokchayakarn K, Lertsrisatit P, Janwityanujit S. Vitamin D receptor gene BsmI polymorphisms in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* 2006; 8: R48.
12. Chatterjee M. Vitamin D and genomic stability. *Mutat Res* 2001; 475: 69-88.
13. Slattery ML, Neuhausen SL, Hoffman M, Caan B, Curtin K, Ma KN, et al. Calcium, vitamin D, VDR genotypes and colorectal cancer. *Int J Cancer* 2004; 111: 750-56.
14. Peters U, McGlynn KA, Chatterjee N, Gunter E, Garcia-Closas M, Rothman N, et al. Calcium, vitamin D receptor polymorphism in colorectal adenomas. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001; 10: 1267-74.
15. Yaylim-Eraltan, Arzu Ergen H, Arikan S, Okay E, Oztürk O, Isbir T. Investigation of the VDR gene polymorphisms association with susceptibility to colorectal cancer. *Cell Biochem Funct* 2007; 25: 731-37.
16. Ingles SA, Ross RK, Yu MC, Irvine RA, La Pera G, Coetzee GA. Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 166-70.
17. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 1980; 9: 227-31.
18. Ye WZ, Reis AF, Velho G. Identification of a novel Tru9I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J Hum Genet* 2000; 45:56-57.
19. Kally E, Pietschmann P, Toyokuni S, Banja E, Hahn P, Mazzucco K, et al. Characterization of a vitamin D receptor knockout mouse as a model of colorectal hyperproliferation and DNA damage. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1429-35.
20. Grau MV, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Beach ML, Church TR, et al. Vitamin D, calcium supplementation, and colorectal adenomas: results of a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1765-71.
21. Jiang Q, Chen K, Ma X, Li Q, Yu W, Shu G, et al. Diets, polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase, and the susceptibility of colon cancer and rectal cancer. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 146-54.
22. Grundberg E, Brandstrom H, Ribom EL, Ljunggren O, Kindmark A, Mallmin H. A polyadenosine repeat in the human vitamin D receptor gene is associated with bone mineral density in young Swedish women. *Calcif Tissue Int* 2003; 73: 455-62.
23. Kadiyska T, Yakulov T, Kaneva R, Nedin D, Alexandrova A, Gegova A, et al. Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in Bulgaria. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 395-400.
24. Harris SS, Eccleshall TR, Gross C, Dawson-Hughes B, Feldman D. The vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in premenopausal American Black and White women. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1043-48.
25. Ingles Sa, Haile RW, Henderson BE, Kolonel LN, Nakaichi G, Shi CY, et al. Strength of linkage disequilibrium between two vitamin D receptor markers in five ethnic groups: implications for association studies. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1997; 6: 93-98.
26. de Faria ICJ, de Faria EJ, Adyleia ADC, Toro AADC, Ribeiro JD, Bertuzzo CS. Association of TGF-β1, CD14, IL-4, IL-4R and ADAM33 gene polymorphisms with asthma severity in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2008; 84: 203-10.