پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۲، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۷، صفحات ۱۹۳ تا ۱۹۹

مقاله پژوهشی
(Original Article)

بررسی همبستگی پلی‌مورفیسم ژن MTHFR (C677T) و سرطان کولورکتال غیر فامیلی

مهدی منتظرحقیقی[1*]، روحا... نجارصادقی[1]، دکتر سیدرضا محبی[1]، فاطمه خاتمی[1]، بیژن مقیمی دهکردی[1]، دکتر سمیه غیاثی[1]، دکتر محمدرضا زالی[1]

[1]مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

چکیده

سابقه و هدف: سرطان کولورکتال، یکی از شایعترین سرطان‌ها در بین کشورهای در حال توسعه و توسعه‌یافته محسوب می‌شود. هم‌اکنون مطالعات زیادی در زمینه ارتباط این نوع سرطان، و ژن ۱۰ و ۵ متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) در دنیا در حال انجام است. این آنزیم، در متیلاسیون، سنتز و تعمیر DNA نقش دارد. علاوه بر آن، این آنزیم نقش مهمی را در متابولیسم فولات بر عهده دارد. حدود ۸۰٪ موارد سرطان کولورکتال، به صورت غیر ارثی است. بنابراین محتمل به نظر می‌رسد که پلی‌مورفیسم‌های این ژن، با اتیولوژی سرطان و از جمله سرطان کولورکتال غیر فامیلی که به صورت شایعتری دیده می‌شود، مرتبط باشند. از آنجا که این سرطان در کشور ما نیز شیوع بسیار بالایی دارد، ارتباط بین ژنوتایپ‌های ژن MTHFR و احتمال خطر ابتلا به سرطان کولورکتال غیر فامیلی را در تعدادی از افراد مبتلا به این سرطان، مورد ارزیابی قرار دادیم.

روش بررسی: برای بررسی پلی‌مورفیسم ژنوتایپ‌های ژن MTHFR در ۱۱۸ نمونه بیمار (با نتیجه کولونوسکوپی و پاتولوژی مثبت از نظر ابتلا به سرطان کولورکتال) و ۱۸۹ نمونه کنترل (که نتیجه کولونوسکوپی آنان از نظر ابتلا به سرطان کولورکتال، منفی بود) با روش Pyrosequencing بررسی شدند.

یافته‌ها: در نمونه‌های بیماران، فراوانی ژنوتایپ‌های CC، CT و TT در ژن MTHFR به ترتیب ۵۱/۷٪، ۲۸٪ ، ۲۰/۳٪ و فراوانی این پلی‌مورفیسم‌ها در نمونه‌های کنترل، به ترتیب ۴۷/۱٪ ، ۲۷٪ و ۲۵/۹٪ بود. فراوانی آلل T در نمونه‌های بیمار، ۳۴٪ و فراوانی آلل C، ۶۶٪ بود. همچنین فراوانی آلل T در نمونه‌های کنترل، ۳۹٪ و فراوانی آلل C، ۶۱٪ محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: تحقیق حاضر، به طور جالبی، بین بروز سرطان کولورکتال و ژنوتایپ TT، رابطه عکس را نشان داد. نتایج این یافته‌ها برای هر دو جنس، یکسان بود.

واژگان کلیدی: سرطان غیر فامیلی کولورکتال، آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز، پلی‌مورفیسم، Pyrosequencing.

مقدمه

سرطان کولون، چهارمین عامل مرگ‌های ناشی از سرطان در جهان است که توزیع جغرافیایی آن، بیشتر، بیماران کشورهای در حال توسعه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. پاتوژنز کارسینومای کولورکتال، پیچیده و چندعاملی می‌باشد و بدیهی است که چندین ژن در مسیرهای ژنتیکی در پیشرفت و توسعه سرطان دخالت دارند (۲-۱).

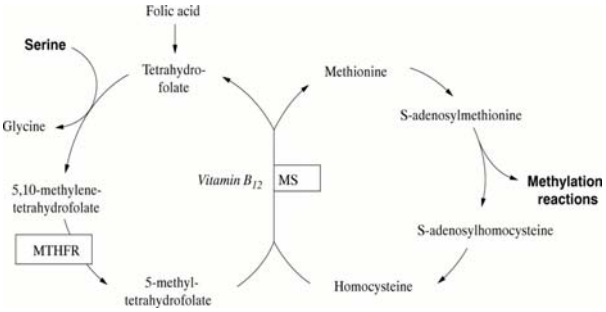
سرطان کولورکتال از طریق یک سری تغییرات بافتی که هر کدام با یک تغییر ژنتیکی خاص همراه است، ایجاد می‌شود. احتمالاً سرطان کولورکتال غیر فامیلی با پلی‌مورفیسم‌های موجود در لوکوس‌های ژن‌ها در ارتباط است. یکی از شایعترین پلی‌مورفیسم‌هایی که امروزه در تمام جهان برای تعیین ارتباط

***نویسنده مسئول مکاتبات:** مهدی منتظرحقیقی؛ تهران، اوین، بیمارستان آیت‌ا... طالقانی، طبقه ششم، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بخش کانسر؛ **پست الکترونیک:** mah_haghighi@hotmail.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۶/۱۰/۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۷/۵/۱۵

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

آن با سرطان‌ها و بیماری‌های گوناگون مورد مطالعه قرار می‌گیرد SNP می‌باشد (۴-۳). SNPها، تغییراتی در سکانس DNA هستند که از تغییر در یک نوکلیوتید (A، T، C یا G) ایجاد می‌شوند. به عنوان مثال ممکن است توالی DNA از AAGGCTAA به ATGGCTAA تغییر کند. برای اینکه یک تغییر به عنوان SNP در نظر گرفته شود، باید حداقل در ۱٪ جمعیت وجود داشته باشد. SNPها که حدود ۹۰٪ از تمام تغییرات ژنتیکی انسان را شامل می‌شوند، در هر ۱۰۰ تا ۳۰۰ باز اتفاق می‌افتند. دو سوم ازSNPها، از جایگزین‌شدن سیتوزین به جای تیمین ایجاد می‌شوند. SNPها می‌توانند در مناطق کدکننده و غیر کدکننده ژن‌ها وجود داشته باشند. بسیاری از SNPها، تأثیری بر عملکرد سلول ندارند؛ ولی دانشمندان معتقدند که برخی از آنها می‌توانند فرد را مستعد ابتلا به بیماری کرده و یا پاسخ به درمان آنها را تحت تأثیر قرار دهند. یافتن ارتباط بین بیماری‌ها و SNP با روش‌های معمول مشکل است؛ زیرا یک ژن ممکن است تنها نقش کوچکی در روند بیماری‌زایی داشته باشد. افرادی که SNP خاص و یا تعدادی از SNPها را دارا هستند، ممکن است هنگامی که در معرض مواد سرطان‌زا مانند پرتوهای سرطان زا قرار می‌گیرد حساستر باشند. یک SNP به تنهایی می‌تواند خطر سرطان را افزایش دهد؛ اما وجود چند منطقه پلی‌مورفیک، افزایش بیشتر احتمال بروز سرطان را به دنبال دارد.

آنزیم ۵ و ۱۰ متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز که توسط ژن MTHFR (5,10 Methylenetetrahydrofolate reductase) کد می‌شود و بر روی کروموزوم ۱ (1p36.3) قرار دارد، در تبدیل ۵ و۱۰ متیلن تتراهیدرفولات به ۵- متیل تتراهیدروفولات نقش دارد؛ که این محصول، یک سوبسترای مناسب است برای تبدیل هموسیستئین به متیونین. همانطور که می‌دانیم، متیونین هم پیش‌سازی است برای تولید S- آدنوزیل متیونین (SAM) که اصلی‌ترین دهنده متیل در بدن برای متیلاسیون DNA است (نمودار ۱). علاوه بر این، به ۵ و۱۰ متیلن تترا هیدروفولات سوبسترای MTHFR برای ساخت پورین و تیمیدیلات مورد نیاز می‌باشد (شکل۱) (۶-۵). همانطور که اشاره شد، به وضوح مشخص شده که ژن‌ها نقش کلیدی در ایجاد سرطان کولورکتال دارند. اما اینکه مشخصاً چه ژنی بیشترین نقش را به خود اختصاص می‌دهد، هنوز معلوم نشده است. بنابراین، برای تعیین این ژن‌ها، محققان در سراسر دنیا به مطالعه ژنوتایپ ژن‌های کاندید در ایجاد این سرطان نظیر MTHFR می‌پردازند و برای این منظور، از SNPهای این ژن‌ها که بیشترین پلی‌مورفیسم را در جوامع نشان داده‌اند، استفاده می‌کنند (۷). یک SNP مهم (rs1801133) در این ژن، C677T می‌باشد که دارای هتروزیگوسیتی بالا (۰/۴۰۹) بوده و ارتباط ژنوتایپ TT این SNP با بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی، ناهنجاری‌های مادرزادی و سرطان کولورکتال در جوامع گوناگون مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۱-۸).



شکل ۱) چرخه فولات و نقش آنزیم MTHFR

جهش C677T (آلانین به والین) سبب کاهش عملکرد آنزیم MTHFR می‌شود، که در نتیجه آن، متابولیسم فولات تغییر کرده و دسترسی به ۵ متیل تتراهیدورفولات برای واکنش‌های متیلاسیون ۵ و ۱۰ متیلن تتراهیدروفولات لازم برای سنتز و تعمیر DNA کم می‌گردد که احتمالاً این تغییر به سرطان کولورکتال منجر می‌گردد (۱۵و۱۲).

همانطور که اشاره شد، جهش 677C→T در اگزون ۴ این ژن، با کاهش فعالیت آنزیم MTHFR و در نتیجه با کاهش متابولیسم فولات مرتبط می‌باشد. در افراد واجد ژنوتایپ 677 TT، فعالیت آنزیم تقریباً ۳۰٪ آنزیم در حالت نرمال (CC) و در افراد هتروزیگوت (CT)، ۶۵٪ فعالیت آنزیم در حالت نرمال می‌باشد (۱۹-۱۶). با توجه به موارد گفته شده بر آن شدیم که تا همبستگی پلی‌مورفیسم کدون 677C→T را با سرطان کولورکتال غیر فامیلی در بیماران مبتلا بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

انتخاب بیمار و کنترل: در این مطالعه، با استفاده از فرمول حجم نمونه جهت مطالعات مورد- شاهدی غیر همسان، تعداد حجم نمونه برای گروه‌های بیمار و کنترل، به ترتیب ۹۰ و ۱۸۰(نسبت ۱ به ۲) محاسبه گردید. بیماران به صورت آینده‌نگر از افراد مراجعه‌کننده به بخش کولونوسکوپی بیمارستان طالقانی در دوره زمانی یک ساله از ۸۵/۱/۱ لغایت ۸۶/۱/۱، که نتیجه کولونوسکوپی در آنها از نظر وجود بافت

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

تومورال با استفاده از آزمایش‌های پاتولوژی نیز تأیید شده بود، انتخاب شدند؛ و در نهایت، تعداد ۱۱۸ بیمار به عنوان گروه مورد، وارد مطالعه شدند.گروه کنترل نیز از سایر افراد مراجعه‌کننده به بخش فوق در همان دوره زمانی و با توجه به نتیجه کولونوسکوپی منفی در ایشان وارد مطالعه شدند. بیماران و کنترل‌ها با سابقه فامیلی ابتلا به سرطان کولورکتال در بستگان درجه اول (پدر، مادر، برادر، خواهر و فرزند) و درجه دوم (پدربزرگ، مادربزرگ، عمه، خاله، عمو، دایی و نوه) از مطالعه خارج شدند. به کلیه بیماران و کنترل‌ها، در مورد نحوه استفاده از نتایج و داوطلبانه بودن حق شرکت یا عدم شرکت در این مطالعه توضیح داده شد و از داوطلبین شرکت در مطالعه، رضایت‌نامه آگاهانه کتبی اخذ گردید. فرم رضایت‌نامه اخلاقی شرکت افراد در مطالعه، توسط کمیته اخلاق مرکز تحقیقات گوارش وکبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تصویب شده و مورد استفاده قرار گرفت. کلیه بیماران، توسط پزشک آموزش‌دیده، مورد مشاوره قرار گرفته و اطلاعات دموگرافیک، کلینیکی و شرح حال ایشان کسب گردید و در فرم‌های اطلاعاتی مربوطه وارد شد. از تمامی بیماران و کنترل‌ها، نمونه خون محیطی به میزان ده سی‌سی جهت انجام آزمایشات ژنتیکی اخذ شد.

انجام PCR: با استفاده از DNA استخراج شده از خون محیطی (با استفاده از روش استاندارد فنل- کلروفروم) ناحیه مورد نظر از ژن MTHFR (شماره دستیابی ژن NC-000001) توسط یک جفت پرایمر که یکی از آنها (پرایمر فوروارد) بیوتینه شده بود، تکثیر یافت. مشخصات مربوط به پرایمرها در جدول ۱ آمده است. شرایط PCR برای یک واکنش با حجم نهایی ۲۵µl به این شرح بود: ۱µl از DNA ژنومی (۱۰۰ ng)، ۲۰ µM از هر پرایمر، ۰/۲ mmol از هر dNTP، mM ۲ MgCl2 و ۰/۰۲ U/µl از Ampli taq Gold پلیمراز. PCR مطابق با برنامه زیر انجام گرفت:

۵ دقیقه		۹۴ درجه سانتی‌گراد
۳۵ سیکل	۳۰ ثانیه	۹۴ درجه سانتی‌گراد
	۴۵ ثانیه	۶۲ درجه سانتی‌گراد
	۴۰ ثانیه	۷۲ درجه سانتی‌گراد
۱۰ دقیقه		۷۲ درجه سانتی‌گراد

Pyrosequencing: این تکنیک، یک روش جدید و دقیق برای تعیین چندشکلی‌های تک‌نوکلوتیدی Single Nucleotide Polymorphism (SNP) می‌باشد. اساس این روش، توالی‌یابی DNA تک‌رشته‌ای از طریق ساخت رشته مکمل آن می‌باشد و تشخیص اینکه کدام باز در هر مرحله اضافه شده است. DNA الگو تثبیت شده و محلول‌های حاوی نوکلوتیدهای T، A، C و G به طور مرتب اضافه می‌شوند. در واقع، در تکنیک Pyrosequencing، پیروفسفات (PPi) حاصله از سنتز DNA در طی چند واکنش آنزیمی پی در پی سبب ساطع‌شدن نور مرئی می‌شود. بدین صورت که ابتدا PPi بوسیله آنزیم ATP سولفوریلاز (ATP Sulfurylase)، به ATP تبدیل می‌شود و ATP حاصله نیز از آنزیم لوسیفراز که لوسیفرین را به اکسی لوسیفرین تبدیل می‌کند، استفاده کرده و نور تولید می‌گردد. بنابر این نور وقتی تولید می‌شود که فقط نوکلئوتید محلول، مکمل اولین باز باشد و با توجه به نور و سیگنالی که تولید می‌شود می‌توان توالی DNA مورد نظر را تعیین کرد.

Pyrosequencing دارای مزایای زیادی می‌باشد نظیر دقت، انعطاف‌پذیری و پردازش بطور موازی؛ بطوری که این قابلیت را دارد که آنالیز ۹۶ نمونه را تنها درمدت زمان ۲۰ دقیقه انجام دهد و نیازی به پرایمر و نوکلئوتید نشاندار و الکتروفورز ندارد (۲۱). در این مطالعه، Pyrosequencing با استفاده از محصول PCR و یک پرایمر Sequencing انجام شد (جدول ۱).

آنالیز SNP مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار مخصوص (SNP Software) صورت گرفت. بدین صورت که پیک‌های حاصله بر اساس الگوی پاچش (dispensation)، ارزیابی و تعیین ژنوتایپ بوسیله نرم‌افزار PSQ96MA V2.1.1 صورت گرفت.

بنابراین در این مطالعه با روش Pyrosequencing که یک دستاورد جدید برای تعیین ژنوتایپ از طریق روش جدید bioluminometric است و بدون احتیاج به الکتروفورز، سکانس DNA را توالی‌یابی می‌کند، استفاده شد. این روش دارای قابلیت تعیین فراوانی آلل‌ها در نمونه‌ها، آنالیز موتاسیون، آنالیز متیلاسیون، هاپلوتایپینگ ملکولی، مطالعات همبستگی و کشف SNPها می‌باشد.

این مطالعه، اولین تحقیق برای بررسی بین پلی‌مورفیسم‌های ژن MTHFR و ابتلا به سرطان کولون در ایران است. علاوه بر این، برای تعیین ژنوتایپ‌ها، برای اولین بار در بین کشورهای خاورمیانه، از تکنیک Pyrosequencing استفاده شد.

آنالیز آماری: ۱۴۷ نمونه بیمار و ۱۹۳ نمونه سالم برای انجام این مطالعه انتخاب شدند. از میان آنها، ۲۹ بیمار و ۴ کنترل، حاضر به شرکت در این مطالعه نشدند. بنابراین، در مطالعه حاضر، ژنوتایپ C677T مربوط به ۱۱۸ نمونه بیمار و ۱۸۹ نمونه کنترل بوسیله Pyrosequencing مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد، ۷۳ نفر مرد و ۴۵ نفر زن در نمونه‌های بیمار، و ۱۰۸ نفر مرد و ۸۱ نفر زن در نمونه‌های کنترل قرار داشتند. برای آنالیز آماری، از تکنیک‌های استاندارد مطالعات

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

مورد- شاهدی حالت غیر همسان (Unmatch) استفاده شد. تجزیه و تحلیل متغیرهای گروه‌بندی شده با آزمون مجذور کای و متغیرهای کمی، با آزمون t-student صورت پذیرفت. همچنین نسبت شانس (OR) و حدود اطمینان ۹۵٪ توسط رگرسیون لجستیک محاسبه گردید. هموزایگوت‌های TT، به عنوان گروه مواجهه (exposure) و مجموع هموزایگوت‌های (CC) نرمال به همراه هتروزایگوت‌های CT، به منظور افزایش توان آنالیز آماری به عنوان گروه عدم مواجهه (unexposed) در نظر گرفته شدند (۲۲). همبستگی بین ژنوتایپ‌های ژن MTHFR و سرطان کولورکتال در تمام افراد در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام P-values، دوطرفه و از نظر آماری، P<۰/۰۵، معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

میانگین سنی برای گروه مبتلا به سرطان، ۶۹/۳ و برای گروه شاهد، ۵۷/۱ بود. ۲۴ نمونه بیمار (۲۰٪) و ۴۹ نمونه سالم (۲۶٪) برای ژنوتایپ TT هوموزایگوت بودند. جدول شماره ۳، نمایانگر رابطه عکس بین ژنوتایپ TT و سرطان کولون می‌باشد. فراوانی ژنوتایپ‌های 677TT، 677CT و 677CC در بیماران، به ترتیب ۲۰/۳، ۲۸ و ۵۱/۷ درصد بود. فراوانی ژنوتایپ 677TT در بین بیماران در مقایسه با نمونه‌های کنترل کمتر بود (P<۰/۰۵).

جدول ۱) پرایمرهای PCR و Pyrosequencing استفاده‌شده در ژنوتایپ C677T ژن MTHFR

پرایمر	مشخصات	توالی	n	Tm
→	Forward	GAGGCTGACCTGAAGCACTTGA	۲۲	۶۵/۱
←	Reverse	ATGCCTTCACAAAGCCCAAGA	۲۱	۶۵
←	Sequencing	CGTGATGATGAAATCG	۱۶	۵۱

جدول ۲) مشخصات افراد بیمار و کنترل در جمعیت مورد مطالعه

ریسک فاکتور		بیمار		P	کنترل		P
		CT/CC	TT		CT/CC	TT	
سن(میانگین±انحراف معیار)		۵۸/۴±۵/۸	۶۱/۲±۷/۲	۰/۱۱	۵۹/۵±۶/۶	۵۸/۳±۶/۸	۰/۲۸
جنسیت(٪)	مرد	۳۵(۲۹/۶۷)	۱۰(۸/۴۷)	۰/۶۸	۶۸ (۳۶)	۲۳(۱۲/۲)	۰/۸۴
	زن	۵۹(۵۰)	۱۴(۱۱/۸۶)		۷۲ (۳۸/۱)	۲۶ (۱۳/۷)	
محل تومور(٪)	دیستال	۵۲ (۴۴/۱)	۱۵ (۱۲/۷)	۰/۵۲	-	-	-
	پروکسیمال	۴۲ (۷/۶)	۹ (۳۵/۶)		-	-	

جدول ۳) شیوع ژنوتایپ C677T و اثرات اصلی در بیماران ایرانی مبتلا به سرطان کولورکتال غیر فامیلی

ژنوتایپ	بیمار	کنترل	OR[a]	فاصله اطمینان ۹۵٪
CC	۶۱	۸۹	۱	مرجع
TT	۲۴	۴۹	۰/۹۶	۰/۵۹-۰/۹۸
CT	۳۳	۵۱	۱/۱۲	۰/۷۷-۱/۰۷
TT/CT+CC	۲۴/۹۴	۴۹/۱۴۰	۱/۱۵	۰/۷۳-۱/۹۵

a: تطبیق‌یافته برای سن و جنس

بحث

در این مطالعه، ارتباط میان ژنوتایپ C677T از ژن MTHFR و سرطان کولورکتال غیر فامیلی در جمعیت بیمار و سالم بررسی شد و مشخص گردید که ریسک بروز سرطان کولورکتال در افراد واجد ژنوتایپ 677TT، حدود ۳۸٪ نسبت به افراد واجد ژنوتایپ 677CC کمتر است؛ و این همبستگی در هر دو جنس مشابه بود. علاوه بر این مشخص شد که رابطه معنی‌داری بین محل تومور و بیماران واجد ژنوتایپ 677TT

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

وجود ندارد. این یافته، خلاف نتایج به دست آمده از یک مطالعه دیگر بود که در ایتالیا انجام شده است. در این مطالعه، رابطه معنی‌داری بین محل تومور پروکسیمال و ژنوتایپ 677TT گزارش شده است (۲۳). لذا پیشنهاد می‌گردد برای بررسی دقیق‌تر، این مطالعه با حجم نمونه بیشتری انجام شود (جدول ۲).

براساس یافته‌های این تحقیق، بین بروز سرطان کولورکتال غیر فامیلی و ژنوتایپ 677TT، رابطه عکس وجود دارد؛ و در واقع این ژنوتایپ باعث یک اثر محافظتی در مقابل سرطان می‌شود. این نتیجه قبلاً نیز در دو تحقیق گزارش شده بود (۲۴و۲۵). از ۵ مطالعه مورد- شاهدی، ۴ مطالعه ارتباط بین فولات و ژنوتایپ TT را نشان داده‌اند. همچنین این بررسی‌ها مشخص کردند که این پیوستگی معکوس، در افرادی بیشتر است که میزان جذب فولات بالاتری از رژیم غذایی داشته‌اند و یا سطح بالاتری از فولات پلاسما را نشان دادند (۲۵). فرضیه‌ای که برای علت این پیوستگی معکوس بین سرطان کولورکتال غیر فامیلی با ژنوتایپ TT ژن MTHFR وجود دارد این است که فعالیت کم MTHFR منجر به افزایش ۵ و۱۰ متیلن تترا هیدروفولات می‌شود که این امر به نوبه خود باعث افزایش تبدیل دی اکسی‌یوریدین مونوفسفات (dUMP) به دی‌اکسی تیمیدین مونوفسفات (dTMP) می‌گردد و به دنبال، آن احتمالاً کاهش تجمع دی‌اکسی‌یوریدات سبب آسیب کمتری به DNA می‌شود.

در افراد واجد ژنوتایپ 677TT (والین/ والین) آنزیم MTHFR در تبدیل ۱۰ و ۵ متیلین تترا هیدوفولات به ۵ متیلن تترا هیدروفولات، چندان مؤثر نمی‌باشد. بنابراین میزان ذخیره ۱۰ و ۵ متیلن تتراهیدروفولات بالا می‌رود که متعاقباً برای ساخت نوکلئوتیدهای مورد نیاز سنتز DNA استفاده می‌گردد. در نتیجه، سلول‌های واجد ژنوتایپ TT کمتر در معرض استرس ناشی از کاهش داکسی نوکئوتید تری فسفات (dNTP) که می‌تواند منجر به تغییرات ژنتیکی منتج به سرطان شود، قرار می‌گیرند. بعنوان مثال، کاهش سطح متیل می‌تواند سبب افزایش سطح یوراسیل و بالتبع، باعث افزایش شکست‌های کروموزومی در DNA لوکوسیت‌ها شود (۲۹-۲۵). سرطان کولورکتال غیر فامیلی، پس از انتشار بیماری به روده بزرگ چندان قابل درمان نیست. وجود آلل C می‌تواند علت مرگ و میر بالای سرطان کولورکتال غیر فامیلی به ویژه در جمعیت‌های با سطح پایین فولات رژیم غذایی باشد. همچنین مشخص شده است که آلل TT در آمریکایی‌های آفریقایی‌تبار و هاوایی‌تبارها، فرکانس کمتری دارد. این آلل، به طور ویژه‌ای، اثر محافظتی در برابر سرطان کولورکتال دارد و با تظاهرات دیرهنگام و بقای پایین‌تر (که در این اقوام دیده می‌شود) توأم است (۳۶-۳۰).

بطور کلی، یافته‌های این مطالعه نتایج قبلی را مبنی بر همبستگی معکوس بین ژنوتایپ 677TT ژن MTHFR با سرطان کولورکتال غیر فامیلی به ویژه در صورت مصرف بالای فولات، تأیید می‌کند. در خاتمه، لازم به یادآوری است که ما در انجام این تحقیق با محدودیت‌هایی روبرو بودیم؛ از جمله عدم اطلاع دقیق از مصرف الکل در افراد مورد مطالعه و همچنین عدم اندازه‌گیری میزان فولات پلاسما و فولات درون گلبول‌های قرمز و فولات موجود در رژیم غذایی. لذا پیشنهاد می‌شود محققان دیگر برای انجام مطالعه مشابه، این متغیرها را نیز در نظر بگیرند. از دیگر محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به تعداد نسبتاً کم نمونه‌های مورد بررسی، به دلیل محدویت‌های اجرایی اشاره نمود. لذا با پیش‌فرض قابل تعمیم‌نبودن مطالعه، نتایج حاصله می‌بایست با احتیاط تفسیر شوند. انجام مطالعات مشابه با تعداد نمونه بیشتر در جهت تأیید یا رد نتایج مطالعه حاضر پیشنهاد می‌گردد.

REFERENCES

1. Giovannucci E, Rimm EB, Ascherio A, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. Alcohol, Low-Methionine-Low-Folate Diets, and Risk of Colon Cancer in Men. J. Nati. Cancer Inst 1995;87:265-73.

2. Fearon ER, Vogelstein BA. A Genetic Model for Colorectal Tumorigenesis. Cell 1990;61:759-67.

3. Issa JP, Ottaviano YL, Celano P, Hamilton SR, Davidson NE, Baylin SB. Methylation of the Oestrogen Receptor CpG Island Links Aging and Neoplasia in Human Colon. Nat Genet 1994;7:536-40.

4. Greenblau MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Clues to Cancer Etiology and Molecular Pathogenesis. Cancer Res 1994;54:4855-78.

5. Goodman JE, Mechanic LE, Luke BT, Ambs S, Chanock S, Harris CC. Exploring SNP-SNP Interactions and Colon Cancer Risk Using Polymorphism Interaction Analysis. Int J Cancer 2006;118(7):1790-7.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

6. Loïc Le Marchand, Lynne R Wilkens, Laurence N Kolonel, Brian E Henderson. The MTHFR C677T Polymorphism and Colorectal Cancer: The Multiethnic Cohort Study. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2005; 14:1198-203.

7. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chu Chen, Bostick R, et al. Lack of association between the C677T MTHFR polymorphism and colorectal hyperplastic polyps. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention 2000;9:427-33.

8. Abee L. Boyles, Allen J. Wilcox, Jack A. Taylor, Klaus Meyer, Åse Fredriksen, Per Magne Ueland, et al. Folate and One-Carbon Metabolism Gene Polymorphisms and Their Associations With Oral Facial Clefts. Am J Med Genet A 2008;146(4):440–49.

9. Konings EJ, Goldbohm RA, Brants HA, Saris WH, van den Brandt PA. Intake of dietary folate vitamers and risk of colorectal carcinoma: results from The Netherlands Cohort Study. Cancer 2002;95:1421-33.

10. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M. Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;8:513-8.

11. Su LJ, Arab L. Nutritional status of folate and colon cancer risk: evidence from NHANES I epidemiologic follow-up study. Ann Epidemiol 2001;11:65-72.

12. 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.

13. Harnack L, Jacobs DR Jr, Nicodemus K, Lazovich D, Anderson K, Folsom AR. Relationship of folate, vitamin B-6, vitamin B-12, and methionine intake to incidence of colorectal cancers. Nutr Cancer 2002;43:152-8.

14. Frosst P, Blom HJ, Milos P, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat. Genet 1995;10:111-3.

15. Starinsky S, Figer A, Ben-Asher E, Geva R, Flex D, Fidder HH, et al. Genotype phenotype correlations in Israeli colorectal cancer patients. Int J Cancer 2005;114:58-73.

16. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. J Nutr 2000;130:129-32.

17. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani R, Rozen R. A second polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. Mol Genet Metab 1998;64:169-72.

18. Temitope Keku, Robert Millikan, Kendra Worley, Scott Winkel, Allison Eaton, Lorna Biscocho**,** et al. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase codon 677 and 1298 polymorphisms and colon cancer in African Americans and whites. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002;11:1611-21.

19. Lievers KJ, Boers GH, Verhoef P, den Heijer M, Kluijtmans LA, van der Put NM, et al. A second common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine, and cardiovascular disease risk. J Mol Med 2001;79:522-8.

20. T. langaee, M.Ronaghi .Genetic variation analysis by Pyrosequencing. Mutation Research 2005;573:96-102.

21. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase [letter]. Nat Genet 1995;10:111–13.

22. Mostafa Ronaghi. Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. Genome Res 2001; 11: 3-11.

23. Giuseppe Toffoli, Roberta Gafà, Antonio Russo, Giovanni Lanza, Riccardo Dolcetti, Franca Sartor, et al. Methylenetetrahydrofolate Reductase 677C→T Polymorphism and Risk of Proximal Colon Cancer in North Italy. Clin Cancer Res 2003; 9:743-8.

24. Ma J, Stampfer MJ, Giovannucci E, Artigas C, Hunter DJ, Fuchs C,et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions and risk of colorectal cancer. Cancer Res 1997;57:1098-102.

25. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. Circulation 1996;93:7-9.

26. Levine AJ, Siegmund KD, Ervin CM, Diep A, Lee ER, Frankl HD et al. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T polymorphism and distal colorectal adenoma risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2000;9:657-63.

27. Marugame T, Tsuji E, Inoue H, Shinomiya S, Kiyohara C, Onuma K, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of colorectal adenomas. Cancer Lett 2000;151:181-6.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]

28. Delgado-Enciso I, Martinez-Garza SG, Rojas-Martinez A, Ortiz-Lopez R, Bosques-Padilla F, Calderon-Garciduenas AL, et al. 677T mutation of the MTHFR gene in adenomas and colorectal cancer in a population sample from the Northeastern Mexico. Preliminary results. Rev Gastroenterol Mex 2001;66:32-7.

29. Giovannucci E, Chen J, Smith-Warner SA, Rimm EB, Fuchs CS, Palomeque C, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase, alcohol dehydrogenase, diet, and risk of colorectal adenomas. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003;12:970-9.

30. Chen VW, Fenoglio-Preiser CM, Wu XC, Coates RJ, Reynolds P, Wickerham DL, et al. Aggressiveness of colon carcinoma in blacks and whites. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997;6:1087-93.

31. Wegner EL, Kolonel LN, Nomura AMY, Lee J. Racial and socioeconomic status differences in survival of colorectal cancer patients in Hawaii. Cancer 1982;49:2208-16.

32. Eaton AM, Sandler R, Carethers JM, Millikan RC, Galanko J, Keku TO. 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677 and 1298 polymorphisms, folate intake, and microsatellite instability in colon cancer Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14:2023-9.

33. Le Marchand L, Donlon T, Hankin JH, Kolonel LN, Wilkens LR, Seifried A. B-vitamin intake, metabolic genes and colorectal cancer risk. Cancer Causes Control 2002;13:239-48.

34. Slattery ML, Potter JD, Samowitz W, Schaffer D, Leppert M. Methylenetetrahydrofolate reductase, diet, and risk of colon cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1999;8:513-8.

35. Pagano IS, Morita SY, Dhakal S, Hundahl SA, Maskarinec G. Time dependent ethnic convergence in colorectal cancer survival in Hawaii BMC Cancer 2003; 3:1-10.

36. Poirier L, Wise C, Delongchamp R, Sinha R. Blood determinations of S-adenosylmethionine. S-adenosylhomocysteine, and homocysteine: correlations with diet. Cancer Epidemiol Biomark. Prev 2002;10:649–55.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-10]