
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Rolul vitaminei D în determinarea riscului de apariție a polipilor colorectali

Doctorand **George Ciulei**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Lucia Maria Procopciuc**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	15
1. Carcinogeneza colorectală	17
1.1 Epidemiologie	17
1.2 Factori de risc	17
1.2.1 Vârsta	17
1.2.2 Bolile inflamatorii intestinale	18
1.2.3 Mutații genetice	18
1.2.4 Obezitate și sedentarism	18
1.2.5 Diabetul zaharat	19
1.2.6 Fumatul	19
1.2.7 Dieta	19
1.2.8 Alți factori	20
1.3 Inițierea oncogenezei colorectale	20
1.4 Polipii colorectali	22
1.4.1 Adenoamele colorectale	22
1.4.2 Polipii سراți	23
1.4.3 Strategii de screening pentru adenoame colorectale și CCR	24
2. Rolul vitaminei D în oncogeneza colorectală	26
2.1 Metabolism vitamina D	26
2.2 Efectele anti-neoplazice ale vitaminei D	28
2.3 Incidența hipovitaminozei D și riscul de CCR	29
2.4 Polimorfismelor genetice ale VDR	30
3. Sistemul metabolic insulină/IGF	32
3.1 Componentele axei insulină/IGF	32
3.2 Rolul axei IGF în dezvoltarea CCR	34
3.3 Interacțiunea dintre sistemul insulină/IGF și vitamina D	35
4. Potențiale direcții de cercetare	35
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	37
1. Ipoteza de lucru	38
2. Metodologie generală	41
2.1 Populația studiată și criteriile de incluziune/excluziune	41
2.2 Prelevarea și procesarea eșantioanelor de sânge	42
2.3 Analiza genotipurilor prin PCR-RFLP	42
2.4 Determinarea serologică a metaboliților vitaminei D, IGF1, IGF1BP-3	45
2.5 Determinare expresie VDR la nivelul polipilor colonici	45
2.6 Analiza statistică	46
3. Studiul 1 - Deficiența de vitamina D și riscul de adenom colorectal	49
3.1 Introducere	49
3.2 Ipoteza de lucru	50

3.3 Material și metodă	51
3.4 Rezultate	51
3.5 Discuții	60
3.6 Concluzii	63
4. Studiul 2 - Influența polimorfismelor genetice <i>BsmI</i>-VDR și <i>NsiI</i>-A/G-INSR asupra riscului de adenom colorectal	65
4.1 Introducere	65
4.2 Ipoteza de lucru	66
4.3 Materiale și metode	67
4.4 Rezultate	67
4.5 Discuții	77
4.6 Concluzii	79
5. Studiul 3 - Interacțiunea calcitriolului cu IGF-1, IGFBP-3 și expresia VDR în adenoamele colorectale	81
5.1 Introducere	81
5.2 Ipoteza de lucru	82
5.3 Materiale și metode	83
5.4 Rezultate	83
5.5 Discuții	95
5.6 Concluzii	97
6. Discuții generale	99
7. Concluzii generale	103
8. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	105
REFERINȚE	107

Cuvinte cheie: Vitamina D, adenoame colorectale, receptor vitamina D, polimorfisme genetice, factor de creștere insulin-like

INTRODUCERE

Cancerul colorectal (CCR) este unul dintre cele mai răspândite tipuri de cancer, având o incidență ridicată și o rată mare a mortalității la nivel global. Dezvoltarea CCR implică o succesiune de modificări genetice și epigenetice, fiind influențată de factori genetici, dietă, stil de viață și agenți de mediu. Cercetările recente au evidențiat rolul vitaminei D și al receptorului său (VDR) în prevenția și evoluția acestui tip de cancer, vitamina D având proprietăți anti-proliferative și anti-inflamatorii.

Prezenta lucrare explorează legătura dintre deficitul de vitamina D, polimorfismele genetice ale VDR și riscul de dezvoltare a CCR. A fost investigată expresia VDR în polipi colorectali și s-au analizat variantele genetice ale VDR și receptorului de insulină (INSR), care, alături de axa insulină/factor de creștere insulin-like (IGF), pot influența susceptibilitatea la adenom colorectal. Rezultatele sugerează că polimorfismul *BsmI* al VDR este asociat cu un risc crescut de adenom, iar polimorfismul *Nsil-A/G* influențează vârsta diagnosticării.

Am mai observat de asemenea o corelație inversă între IGF-1 și vitamina D, sugerând că vitamina D poate influența indirect căile de semnalizare ce favorizează creșterea tumorală. Aceste constatări ar putea sprijini dezvoltarea unor programe de screening și prevenție personalizate, concentrându-se pe identificarea persoanelor cu anumite polimorfisme sau niveluri serice scăzute de vitamina D. În continuare, studiile ar putea examina potențialul suplimentării cu vitamina D în reducerea riscului de CCR, rolul polimorfismelor VDR în oncogeneză și posibilitatea utilizării IGF-1 ca biomarker pentru riscul de adenom colorectal.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CCR este una dintre principalele cauze de mortalitate la nivel global. Procesul de dezvoltare implică modificări genetice și epigenetice ce favorizează transformarea neoplazică, în special în prezența factorilor de risc genetici, de mediu și stil de viață. Sunt identificate două tipuri principale de polipi precursori pentru CCR: adenoamele colorectale și polipii serati. Vitamina D, pe lângă rolul cunoscut în metabolismul calciului, prezintă efecte anti-proliferative și anti-inflamatorii. Nivelurile serice reduse de vitamina D sunt asociate cu un risc crescut de CCR, iar mecanismul de acțiune implică receptorul VDR, prezent în țesutul colonic. Acțiunea sa antineoplazică se realizează prin inhibarea proliferării celulare și favorizarea apoptozei.

Axa insulină/IGF este implicată în progresia neoplaziei colorectale, iar vitamina D poate interacționa cu acest sistem, influențând riscul de dezvoltare a CCR. Polimorfismul receptorului VDR și al INSR este investigat pentru corelațiile cu susceptibilitatea la adenoame colorectale. Gena VDR, prin varianta *BsmI*, este legată de riscul crescut de adenoame colorectale. Studiile sugerează că analiza polimorfismelor genetice VDR și ale axei IGF poate ajuta la identificarea persoanelor cu risc crescut pentru CCR.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Cele trei studii care fac obiectul prezentei cercetări au fost realizate pe cohorte de pacienți diagnosticați cu adenoame colorectale, având ca scop investigarea valorilor serice ale vitaminei D, expresiei VDR la nivelul polipilor, și analiza nivelurilor serice ale metaboliților axei insulină/IGF. Am examinat de asemenea și rolul polimorfismelor genetice *BsmI*-VDR și *Nsil-A/G*-INSR asupra riscului de adenom colorectal.

Studiile prezentate au un design observațional, transversal, de tip caz-control, desfășurându-se în cadrul Spitalului Clinic Căi Ferate Cluj-Napoca, cu aprobarea Comisiei de Etică a Universității de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Nr. 246/08.07.2020, și au beneficiat de finanțare parțială prin proiectul de cercetare nr. 2461/13, 17.01.2020.

Studiul 1 - Deficiența de vitamina D și riscul de adenom colorectal

Ipoteza de lucru

Studiul a investigat asocierea între hipovitaminoza D și riscul crescut de dezvoltare a adenoamelor colorectale, pornind de la ideea că pacienții cu adenom colorectal ar prezenta niveluri serice mai scăzute de colecalciferol și calcidiol comparativ cu un grup de control fără această patologie.

Materiale și metode

Studiul, de tip caz-control, s-a desfășurat pe un eșantion de 53 de pacienți cu adenom colorectal și 32 de subiecți sănătoși, toți recrutați de la Spitalul CFR Cluj-Napoca. Probele de sânge au fost colectate dimineața, după un repaus alimentar de 12 ore, apoi centrifugate și stocate la -80°C până la analiza finală. Nivelurile de colecalciferol și calcidiol au fost determinate prin tehnica ELISA.

Rezultate

Studiul a comparat datele demografice și clinice ale pacienților cu adenom colorectal și ale grupului de control. Vârsta medie a pacienților cu adenom colorectal a fost semnificativ mai mare decât cea a grupului de control, iar cazurile de polipi s-au concentrat în intervalele de vârstă 55-65 de ani. Distribuția genului, indicelui de masă corporală (IMC) și circumferința abdominală au fost similare între cele două grupuri, fără diferențe semnificative. De asemenea, un istoric familial de cancer colorectal și istoricul de fumat nu au diferit semnificativ între grupuri. Expunerea scăzută la soare a fost mai frecventă în grupul cu adenom, dar fără semnificație statistică. Expunerea la soare mai crescută sau scăzută nu a influențat valorile calcidiolului și colecalciferolului.

La analiza valorilor de colecalciferol și calcidiol, nu s-au observat diferențe semnificative între pacienții cu adenom și cei din grupul de control, valorile fiind constante și fără corelații semnificative cu vârsta, IMC-ul sau expunerea la soare. Ajustările statistice pentru percentile de colecalciferol și calcidiol au indicat un risc crescut de adenom doar pentru valorile scăzute de colecalciferol.

Concluzii

1. Vârsta înaintată s-a dovedit a fi un factor de risc semnificativ pentru dezvoltarea adenoamelor colorectale.
2. Nu au fost observate diferențe semnificative în valorile serice de colecalciferol și calcidiol între cele două grupuri de pacienți.
3. Nivelurile scăzute de colecalciferol au fost corelate cu un risc crescut semnificativ de apariție a adenomului colorectal.
4. Nivelurile scăzute de calcidiol nu au demonstrat o asociere semnificativă cu riscul de adenom colorectal.
5. Valorile serice de colecalciferol și calcidiol nu au influențat riscul de adenoame multiple.
6. Valorile serice de colecalciferol și calcidiol nu au avut un impact semnificativ asupra riscului de adenoame mai mari de 1 cm.
7. Nivelurile serice de colecalciferol și calcidiol nu au fost asociate cu riscul de displazie avansată în cazul adenoamelor.

8. Expunerea la soare nu a influențat semnificativ nivelurile serice de colecalciferol și calcidiol în rândul subiecților incluși în studiu.

Studiul 2 - Influența polimorfismelor genetice *BsmI*-VDR și *NsiI*-A/G-INSR asupra riscului de adenom colorectal

Ipoteza de lucru

Studiul a avut ca scop determinarea frecvenței polimorfismelor genetice *BsmI*-VDR și *NsiI* A/G-INSR la pacienții cu adenom colorectal comparativ cu cei fără adenom. Analizând frecvența polimorfismelor în cele două grupuri, cercetarea a investigat dacă aceste variații genetice ar putea fi considerați factori de risc pentru adenom și, implicit, pentru neoplazia colorectală.

Materiale și metode

Studiul a fost unul de tip caz-control, desfășurat la Spitalul Universitar C.F.R. Cluj-Napoca. Au fost recrutați 110 participanți, dintre care 67 au fost diagnosticați cu adenom colorectal, iar 43 au constituit grupul de control, toți fiind recrutați între august 2020 și ianuarie 2022. Polimorfismele *BsmI*-VDR și *NsiI* A/G-INSR au fost determinate prin tehnica PCR-RFLP, fragmentul ADN fiind digerat cu enzime de restricție specifice pentru identificarea alelelor și genotipurilor.

Rezultate

Distribuția caracteristicilor demografice și clinice între pacienții cu adenom colorectal și grupul de control nu a indicat diferențe semnificative în distribuția pe gen ($p = 0,23$). La bărbați, vârsta medie a fost semnificativ mai mare în grupul cu adenom colorectal comparativ cu grupul de control, în timp ce la femei, diferența de vârstă între cele două grupuri nu a fost semnificativă. În ansamblu, pacienții cu adenom au avut o vârstă semnificativ mai mare decât cei din grupul de control ($p = 0,006$).

În cazul polimorfismului *BsmI* modelul recesiv pentru acest polimorfism a arătat o asociere semnificativă între genotipul bb și riscul de adenom colorectal, cu un OR ajustat de 2,84 ($p = 0,033$). Pentru polimorfismul *NsiI* A/G-INSR, genotipul GG a fost predominant în ambele grupuri, însă nu s-au observat diferențe semnificative în asocierea acestuia cu riscul de adenom colorectal. Modelul dominant și cel recesiv nu au evidențiat o asociere semnificativă între genotipurile A/G sau GG și prezența adenomului colorectal.

Pentru polimorfismul *NsiI* A/G-INSR, pacienții cu genotipul GG au fost diagnosticați la o vârstă mai mică cu adenom colorectal.

Concluzii

1. S-a constatat o asociere semnificativă între polimorfismul *BsmI*-VDR și riscul crescut de adenom colorectal, indicând că genotipul b/b ar putea reprezenta un factor de risc pentru dezvoltarea acestei afecțiuni.
2. Analiza nu a evidențiat o asociere semnificativă între polimorfismul *NsiI* A/G-INSR și riscul de adenom colorectal.
3. Pacienții cu genotipul b/b al polimorfismului *BsmI*-VDR au fost diagnosticați la o vârstă mai mică, sugerând că acest genotip ar putea influența debutul mai timpuriu al bolii.
4. Genotipul GG al polimorfismului *NsiI* A/G-INSR, analizat în modelul recesiv, a fost asociat cu o vârstă semnificativ mai mică la momentul diagnosticării adenomului colorectal, sugerând o posibilă influență a acestui genotip asupra debutului precoce al bolii.

Studiul 3 - Interacțiunea calcitriolului cu IGF-1, IGFBP-3 și expresia VDR în adenoamele colorectale

Ipoteza de lucru

Studiul a evaluat diferențele semnificative între nivelurile serice de IGF-I, proteina de legare-3 a IGF-1 (IGFBP-3) și calcitriol la pacienții cu adenom colorectal comparativ cu cei din grupul de control. De asemenea, a analizat expresia receptorului de VDR în adenoame, corelând aceste date cu parametrii serologici și caracteristicile histopatologice ale leziunilor.

Materiale și metode

Studiul a fost desfășurat ca o cercetare de tip caz-control. În total, 85 de participanți au fost incluși: 53 de pacienți cu adenom colorectal și 32 în grupul de control, toți recrutați de la Spitalul C.F.R. Cluj-Napoca între februarie 2022 și decembrie 2023.

Nivelurile serice de calcitriol, IGF-1 și IGFBP-3 au fost măsurate prin ELISA, iar exprimarea receptorului VDR a fost determinată prin imunohistochimie în țesuturile adenoamelor colorectale, corelând intensitatea și distribuția colorării cu parametrii clinici și biologici.

Rezultate

Analiza nivelurilor de calcitriol nu a relevat diferențe semnificative între grupuri, indiferent de expunerea la soare, gen sau prezența polipilor. Valorile medii ale IGF-1 și IGFBP-3 au fost similare între pacienții cu adenom și grupul de control, iar raportul IGF-1/IGFBP-3 nu a prezentat diferențe semnificative. Corelațiile au indicat o asociere pozitivă între IGF-1 și IGFBP-3 și o corelație negativă între IGF-1 și vârstă, precum și între IGF-1 și calcitriol.

În evaluarea imunohistochimică a expresiei receptorului de vitamina D (VDR) în adenoame, s-a observat că un scor redus de exprimare VDR a fost semnificativ asociat cu prezența polipilor multipli. Expresia VDR nu a avut o asociere semnificativă cu valorile serice de calcitriol, dimensiunea polipilor sau displazia de grad înalt.

Concluzii

1. Exprimarea scăzută a receptorului de vitamina D (VDR) în adenoamele colorectale s-a asociat semnificativ cu prezența polipilor multipli.
2. Valorile serice ale calcitriolului nu au prezentat diferențe semnificative între pacienții cu adenom colorectal și grupul de control.
3. Nivelurile serice de IGF-1 și IGFBP-3 au fost comparabile între pacienții cu adenom colorectal și cei din grupul de control, fără diferențe semnificative.
4. S-au observat corelații negative semnificative între IGF-1 și vârstă, precum și între IGF-1 și calcitriol în grupul pacienților cu adenom colorectal, aceste corelații fiind confirmate și la nivelul întregului lot.
5. În grupul pacienților cu adenom colorectal, IGFBP-3 a avut o corelație negativă semnificativă cu IGF-1.

CONCLUZII GENERALE

Studiile noastre evidențiază legăturile complexe între expresia tisulară, biomarkerii serici și polimorfismele genetice implicate în adenomul colorectal, subliniind importanța unei abordări integrate pentru înțelegerea acestei patologii. Exprimarea redusă a VDR în adenoamele colorectale s-a asociat semnificativ cu prezența polipilor multipli, sugerând un rol protector al VDR împotriva proliferării excesive a celulelor. În schimb, valorile serice ale calcitriolului nu au fost diferite între grupul cu adenom și cel de control și nu au prezentat corelare cu exprimarea

VDR la nivelul polipilor, un posibil motiv fiind expresia deja ridicată a VDR în majoritatea țesuturilor.

Pe plan genetic, genotipul b/b al polimorfismului BsmI-VDR a fost asociat cu un risc crescut de adenom și un debut mai precoce al bolii, sugerând că această variație ar putea contribui la predispoziția pentru adenomul colorectal. În contrast, polimorfismul NsiI A/G-INSR nu a arătat o legătură semnificativă cu riscul de adenom, deși genotipul GG s-a asociat cu un debut mai timpuriu al bolii, ceea ce indică posibilități de contribuție la progresia mai rapidă a leziunilor.

Deși nivelurile de IGF-1 și IGFBP-3 nu au prezentat diferențe semnificative între pacienți și control, corelațiile negative observate între IGF-1 și vârstă, precum și între IGF-1 și calcitriol, sugerează un mecanism complex prin care îmbătrânirea și metabolismul vitaminei D influențează factorii de creștere. În plus, aceste corelații ar putea explica variația biodisponibilității IGF-1, cu implicații pentru sănătatea metabolică și cardiovasculară.

SUMMARY OF THE DOCTORAL THESIS

The role of vitamin D in determining the risk of occurrence of colorectal polyps

PhD Candidate **George Ciulei**

Supervisor Prof.dr. **Lucia Maria Procopciuc**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION	13
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	15
1. Colorectal Carcinogenesis	17
1.1 Epidemiology	17
1.2 Risk Factors	17
1.2.1 Age	17
1.2.2 Inflammatory Bowel Diseases	18
1.2.3 Genetic mutations	18
1.2.4 Obesity and sedentarism	18
1.2.5 Diabetes Mellitus	19
1.2.6 Smoking	19
1.2.7 Diet	19
1.2.8 Other factors	20
1.3 Initiation of Colorectal Oncogenesis	20
1.4 Colorectal Polyps	22
1.4.1 Colorectal Adenomas	22
1.4.2 Serrated Polyps	23
1.4.3 Screening Strategies for Colorectal Adenomas and CRC	24
2. The Role of Vitamin D in Colorectal Oncogenesis	26
2.1 Vitamin D Metabolism	26
2.2 Anti-Neoplastic Effects of Vitamin D	28
2.3 Incidence of Vitamin D Deficiency and CRC Risk	29
2.4 Genetic Polymorphisms of the VDR	30
3. Insulin/IGF Metabolic System	32
3.1 Components of the Insulin/IGF Axis	32
3.2 Role of the IGF Axis in CRC Development	34
3.3 Interaction Between the Insulin/IGF System and Vitamin D	35
4. Potential Research Directions	35
PERSONAL CONTRIBUTION	37
1. Working Hypothesis	38
2. General Methodology	41
2.1 Study Population and Inclusion/Exclusion Criteria	41
2.2 Blood Sample Collection and Processing	42
2.3 Genotype Analysis via PCR-RFLP	42
2.4 Serological Determination of Vitamin D Metabolites, IGF1, IGFBP-3	45
2.5 VDR Expression Determination in Colonic Polyps	45
2.6 Statistical Analysis	46
3. Study 1 - Vitamin D Deficiency and Colorectal Adenoma Risk	49
3.1 Introduction	49
3.2 Working Hypothesis	50
3.3 Materials and Methods	51

3.4 Results	51
3.5 Discussion	60
3.6 Conclusions	63
4. Study 2 - Influence of BsmI-VDR and NsiI-A/G-INSR Genetic Polymorphisms on Colorectal Adenoma Risk	65
4.1 Introduction	65
4.2 Working Hypothesis	66
4.3 Materials and Methods	67
4.4 Results	67
4.5 Discussion	77
4.6 Conclusions	79
5. Study 3 - Interaction of Calcitriol with IGF-1, IGFBP-3, and VDR Expression in Colorectal Adenomas	81
5.1 Introduction	81
5.2 Working Hypothesis	82
5.3 Materials and Methods	83
5.4 Results	83
5.5 Discussion	95
5.6 Conclusions	97
6. General Discussions	99
7. General Conclusions	103
8. Originality and Innovative Contributions of the Thesis	105
REFERENCES	107

Keywords: Vitamin D, colorectal adenomas, vitamin D receptor, genetic polymorphisms, insulin-like growth factor

INTRODUCTION

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common types of cancer, with high incidence and mortality rates globally. The development of CRC involves a succession of genetic and epigenetic changes influenced by genetic factors, diet, lifestyle, and environmental agents. Recent research has highlighted the role of vitamin D and its receptor (VDR) in the prevention and progression of this type of cancer, with vitamin D exhibiting anti-proliferative and anti-inflammatory properties.

This thesis explores the link between vitamin D deficiency, VDR genetic polymorphisms, and CRC risk. VDR expression in colorectal polyps was investigated, and genetic variants of VDR and the insulin receptor (INSR) were analyzed. Together with the insulin/insulin-like growth factor (IGF) axis, these factors can influence susceptibility to colorectal adenoma. The findings suggest that the *BsmI* polymorphism of VDR is associated with an increased risk of adenoma, while the *Nsil-A/G* polymorphism influences the age of diagnosis.

An inverse correlation between IGF-1 and vitamin D was also observed, suggesting that vitamin D may indirectly influence signaling pathways that promote tumor growth. These findings could support the development of personalized screening and prevention programs focused on identifying individuals with specific polymorphisms or low serum levels of vitamin D. Further studies could examine the potential of vitamin D supplementation in reducing CRC risk, the role of VDR polymorphisms in oncogenesis, and the possibility of using IGF-1 as a biomarker for colorectal adenoma risk.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

CRC is one of the leading causes of mortality worldwide. The development process involves genetic and epigenetic changes that favor neoplastic transformation, especially in the presence of genetic, environmental, and lifestyle risk factors. Two main types of precursor polyps for CRC have been identified: colorectal adenomas and serrated polyps. In addition to its known role in calcium metabolism, vitamin D has anti-proliferative and anti-inflammatory effects. Low serum levels of vitamin D are associated with an increased risk of CRC, with its mechanism of action involving the VDR receptor present in colonic tissue. Its antineoplastic action is achieved by inhibiting cell proliferation and promoting apoptosis.

The insulin/IGF axis is involved in the progression of colorectal neoplasia, and vitamin D may interact with this system, influencing CRC development risk. VDR and INSR receptor polymorphisms are investigated for correlations with susceptibility to colorectal adenomas. The VDR gene, particularly the *BsmI* variant, is linked to an increased risk of colorectal adenomas. Studies suggest that analyzing VDR and IGF axis genetic polymorphisms may help identify individuals at higher risk for CRC.

PERSONAL CONTRIBUTION

The three studies that are the focus of this research were conducted on cohorts of patients diagnosed with colorectal adenomas. Their aim was to investigate serum vitamin D levels, VDR expression in polyps, and serum levels of insulin/IGF axis metabolites. The role of the *BsmI*-VDR and *Nsil-A/G*-INSR genetic polymorphisms in colorectal adenoma risk was also examined.

The presented studies had an observational, cross-sectional, case-control design, conducted at the Clinical Hospital of Cluj-Napoca Railway with the approval of the Ethics

Committee of the "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy in Cluj-Napoca (Approval No. 246/08.07.2020). The research was partially funded by project No. 2461/13, dated 17.01.2020.

Study 1 - Vitamin D Deficiency and Colorectal Adenoma Risk

Working Hypothesis

This study investigated the association between vitamin D deficiency and an increased risk of developing colorectal adenomas, based on the hypothesis that patients with colorectal adenoma would have lower serum levels of cholecalciferol and calcidiol compared to a control group without this pathology.

Materials and Methods

This case-control study included a sample of 53 patients with colorectal adenoma and 32 healthy subjects, all recruited from CFR Hospital Cluj-Napoca. Blood samples were collected in the morning after a 12-hour fast, centrifuged, and stored at -80°C until the final analysis. Cholecalciferol and calcidiol levels were determined using the ELISA technique.

Results

The study compared the demographic and clinical data of patients with colorectal adenoma with those of the control group. The mean age of patients with colorectal adenoma was significantly higher than that of the control group, with polyp cases concentrated in the 55-65 age range. Gender distribution, body mass index (BMI), and abdominal circumference were similar between the two groups, showing no significant differences. Additionally, family history of colorectal cancer and smoking history did not differ significantly between groups. Lower sun exposure was more frequent in the adenoma group, but without statistical significance. Higher or lower sun exposure did not affect calcidiol and cholecalciferol values.

When analyzing cholecalciferol and calcidiol levels, no significant differences were observed between patients with adenoma and the control group; the values remained consistent and showed no significant correlations with age, BMI, or sun exposure. Statistical adjustments for cholecalciferol and calcidiol percentiles indicated an increased risk of adenoma only for low cholecalciferol levels.

Concluzii

1. Advanced age proved to be a significant risk factor for the development of colorectal adenomas.
2. No significant differences were observed in serum levels of cholecalciferol and calcidiol between the two patient groups.
3. Low cholecalciferol levels were significantly correlated with an increased risk of colorectal adenoma occurrence.
4. Low calcidiol levels did not show a significant association with the risk of colorectal adenoma.
5. Serum levels of cholecalciferol and calcidiol did not influence the risk of multiple adenomas.
6. Serum levels of cholecalciferol and calcidiol did not have a significant impact on the risk of adenomas larger than 1 cm.
7. Serum levels of cholecalciferol and calcidiol were not associated with the risk of advanced dysplasia in adenomas.
8. Sun exposure did not significantly influence serum levels of cholecalciferol and calcidiol among study participants.

Study 2 - Influence of BsmI-VDR and NsiI-A/G-INSR Genetic Polymorphisms on Colorectal Adenoma Risk

Working Hypothesis

The study aimed to determine the frequency of BsmI-VDR and NsiI A/G-INSR genetic polymorphisms in patients with colorectal adenoma compared to those without adenoma. By analyzing the frequency of these polymorphisms in both groups, the research investigated whether these genetic variations could be considered risk factors for adenoma and, consequently, for colorectal neoplasia.

Materials and Methods

This case-control study was conducted at the C.F.R. University Hospital in Cluj-Napoca. A total of 110 participants were recruited between August 2020 and January 2022, of whom 67 were diagnosed with colorectal adenoma, while 43 constituted the control group. The BsmI-VDR and NsiI A/G-INSR polymorphisms were determined using the PCR-RFLP technique, with the DNA fragment digested by specific restriction enzymes to identify alleles and genotypes.

Results

The distribution of demographic and clinical characteristics between patients with colorectal adenoma and the control group showed no significant differences in gender distribution ($p = 0.23$). Among men, the mean age was significantly higher in the adenoma group compared to the control group, while in women, the age difference between the two groups was not significant. Overall, patients with adenoma were significantly older than those in the control group ($p = 0.006$).

For the BsmI polymorphism, the recessive model showed a significant association between the bb genotype and the risk of colorectal adenoma, with an adjusted OR of 2.84 ($p = 0.033$). For the NsiI A/G-INSR polymorphism, the GG genotype was predominant in both groups; however, no significant differences were observed in its association with adenoma risk. Neither the dominant nor the recessive models showed a significant association between the A/G or GG genotypes and the presence of colorectal adenoma.

For the NsiI A/G-INSR polymorphism, patients with the GG genotype were diagnosed at a younger age with colorectal adenoma.

Conclusions

1. A significant association was found between the BsmI-VDR polymorphism and an increased risk of colorectal adenoma, suggesting that the bb genotype could be a risk factor for developing this condition.
2. The analysis did not reveal a significant association between the NsiI A/G-INSR polymorphism and colorectal adenoma risk.
3. Patients with the bb genotype of the BsmI-VDR polymorphism were diagnosed at a younger age, suggesting that this genotype may influence an earlier onset of the disease.
4. The GG genotype of the NsiI A/G-INSR polymorphism, analyzed in the recessive model, was associated with a significantly younger age at colorectal adenoma diagnosis, suggesting a possible influence of this genotype on the earlier onset of the disease.

Study 3 - Interaction of Calcitriol with IGF-1, IGFBP-3, and VDR Expression in Colorectal Adenomas

Working Hypothesis

The study evaluated significant differences in serum levels of IGF-I, IGF-1 binding protein-3 (IGFBP-3), and calcitriol between patients with colorectal adenoma and those in the control group. It also analyzed VDR receptor expression in adenomas, correlating these data with serological parameters and histopathological characteristics of the lesions.

Materials and Methods

This case-control study included 85 participants: 53 patients with colorectal adenoma and 32 in the control group, all recruited from C.F.R. Hospital Cluj-Napoca between February 2022 and December 2023. Serum levels of calcitriol, IGF-1, and IGFBP-3 were measured using ELISA, while VDR receptor expression was determined by immunohistochemistry in colorectal adenoma tissues, correlating staining intensity and distribution with clinical and biological parameters.

Results

The analysis of calcitriol levels revealed no significant differences between groups, regardless of sun exposure, gender, or the presence of polyps. Mean values of IGF-1 and IGFBP-3 were similar between patients with adenoma and the control group, and the IGF-1/IGFBP-3 ratio showed no significant differences. Correlations indicated a positive association between IGF-1 and IGFBP-3 and a negative correlation between IGF-1 and age, as well as between IGF-1 and calcitriol.

In the immunohistochemical evaluation of vitamin D receptor (VDR) expression in adenomas, low VDR expression scores were significantly associated with the presence of multiple polyps. VDR expression showed no significant association with serum calcitriol levels, polyp size, or high-grade dysplasia.

Conclusions

1. Low expression of the vitamin D receptor (VDR) in colorectal adenomas was significantly associated with the presence of multiple polyps.
2. Serum calcitriol levels showed no significant differences between patients with colorectal adenoma and the control group.
3. Serum levels of IGF-1 and IGFBP-3 were comparable between patients with colorectal adenoma and those in the control group, with no significant differences.
4. Significant negative correlations were observed between IGF-1 and age, as well as between IGF-1 and calcitriol in the colorectal adenoma patient group; these correlations were also confirmed for the entire sample.
5. In the colorectal adenoma patient group, IGFBP-3 had a significant negative correlation with IGF-1.

GENERAL CONCLUSIONS

Our studies highlight the complex relationships between tissue expression, serum biomarkers, and genetic polymorphisms involved in colorectal adenoma, underscoring the importance of an integrated approach to understanding this pathology. Reduced VDR expression in colorectal adenomas was significantly associated with the presence of multiple polyps, suggesting a protective role of VDR against excessive cell proliferation. Conversely, serum calcitriol levels showed no differences between the adenoma and control groups and did not correlate with VDR expression in polyps, potentially due to the already high expression of VDR in most tissues.

Genetically, the b/b genotype of the BsmI-VDR polymorphism was associated with an increased risk of adenoma and an earlier disease onset, suggesting that this variant may contribute to the predisposition to colorectal adenoma. In contrast, the NsiI A/G-INSR

polymorphism showed no significant link with adenoma risk, although the GG genotype was associated with an earlier onset of the disease, indicating a possible role in the more rapid progression of lesions.

Although IGF-1 and IGFBP-3 levels showed no significant differences between patients and the control group, the negative correlations observed between IGF-1 and age, as well as between IGF-1 and calcitriol, suggest a complex mechanism by which aging and vitamin D metabolism influence growth factors. These correlations may also explain variations in IGF-1 bioavailability, with implications for metabolic and cardiovascular health.