TUMJ مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، خرداد ۱۳۹۹، دوره ۷۸، شماره ۳، صفحه‌های ۱۳۷ تا ۱۴۳ مقاله اصیل

بررسی جمعیت *لاکتوباسیلوس*، *اشریشیا کلی* و *پریوتلا* در میکروبیوم مدفوعی افراد مبتلا به پولیپ آدنوما و سرطان روده‌ی بزرگ

سما رضاسلطانی[1]، حمید اسدزاده عقدایی[2*]، حسین دبیری[3]، عباس اخوان سپهی[4]، محمدحسین مدرسی[4]، احسان ناظم‌الحسینی مجرد[1]

۱- مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳- گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴- گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری‌های دستگاه گوارش، پژوهشکده بیماری‌های گوارش و کبد.
تلفن: ۰۲۱-۲۲۴۳۲۵۳۹
E-mail: hamid.assadzadeh@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۱ ویرایش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۴ آنلاین: ۱۳۹۹/۰۳/۳۱

زمینه و هدف: سرطان روده‌ی بزرگ دومین سرطان شایع دنیا است که عامل اصلی ایجاد آن عوامل اپی‌ژنتیک و عوامل محیطی محسوب می‌گردد که در این بین گات میکروبیوتا حایز اهمیت می‌باشد. از طرفی کمابیش پیش‌زمینه‌ساز سرطان روده‌ی بزرگ، پولیپ‌های آدنوما می‌باشند. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی جمعیت باکتری‌های *لاکتوباسیلوس*، *اشریشیا کلی* و *پریوتلا* در بیماران مبتلا به سرطان روده و پولیپ آدنوما در مقایسه با افراد سالم بود.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی، نمونه‌های مدفوع ۳۱ فرد سالم، ۴۲ فرد مبتلا به پولیپ آدنوما و ۲۰ بیمار مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ که برای غربالگری سرطان روده‌ی بزرگ از شهریور ۱۳۹۵ تا شهریور ۱۳۹۶ به بیمارستان طالقانی تهران مراجعه کردند، گردآوری گردید. میزان کمیت این میکروب‌ها با روش Real-time polymerase chain reaction (PCR)، دقیق تعیین شد.

یافته‌ها: افزایش جمعیت براساس منحنی تکثیر بررسی گردید. *پریوتلا* با منحنی تکثیر ۲۴/۶ و افزایش سطح معناداری، *اشریشیا کلی* با منحنی تکثیر ۲۰/۴ و سطح معناداری قابل قبول، در افراد مبتلا به سرطان روده و پولیپ آدنوما نسبت به افراد سالم مشاهده گردید، درحالی‌که کاهش *لاکتوباسیلوس* با منحنی تکثیر ۲۸/۶ و سطح معناداری قابل قبول در افراد بیمار نسبت به افراد سالم به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: میکروبیوم روده‌ای افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ و پولیپ آدنوما با میکروبیوم افراد سالم متفاوت بوده و بار میکروب‌های بیماری‌زا در مقایسه با میکروب‌های مفید در افراد سرطانی و مبتلا به پولیپ بالاتر بود.

کلمات کلیدی: پولیپ آدنوما، مطالعات مورد-شاهدی، سرطان روده بزرگ، میکروبیوم روده.

مقدمه

بیشترین چگالی جمعیتی میکروبی که در بدن انسان کلونیزه می‌شود در روده بزرگ قرار دارد، فلور میکروبی روده نامیده می‌شود. این جمعیت میکروبی شامل تریلیون‌ها باکتری می‌باشد که زیست‌توده (Biomass) ۱/۵ کیلوگرمی دارند و مجموع سایزشان به اندازه‌ی کبد که بزرگترین ارگان بدن است می‌رسد.[1] گات میکروبیوتا شامل ۱۰۰۰-۳۰۰ گونه می‌باشد و ۱۵۰ برابر ژن‌های بیشتری نسبت به ژن‌های ژنوم میزبان خود دارد. گات میکروبیوتا به شدت دینامیک و بسیار موقتی و وابسته به سن است. این ترکیب میکروبی سه بعدی بوده و در طول روده گوناگونی دارد.[2و3] ترکیب میکروبی روده وابسته به ژنتیک میزبان، رژیم غذایی، داروهای مصرفی و سایر فاکتورهای محیطی می‌باشد. گات میکروبیوم نقش بنیادی در سلامت انسان داشته و عملکردهای بسیاری در متابولیسم انسانی و فیزیولوژی آن دارد.[4و5] به‌هم‌ریختگی ترکیب گات میکروبیوتا باعث بروز بیماری‌های متعددی مثل چاقی، دیابت، سلیاک، بیماری التهابی روده می‌گردد. فلور

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

میکروبی روده‌ی انسان در یک تا دو سال پس از تولد ثابت می‌شود. در آن زمان اپیتلیوم روده و غشای موکوسی و ترشحات این غشا باعث ایجاد سدی در مقابل میکرواورگانیسم‌های بیماری‌زا می‌گردد.[۱] ارتباط بین فلور روده و انسان همیشه از نوع رابطه‌ی همزیستی نیست اما در اکثر موارد رابطه‌ی همزیستی مسالمت‌آمیز برقرار است. بعضی میکرواورگانیسم‌ها با تخمیر رژیمی فیبرها به اسیدهای چرب کوتاه زنجیره مانند اسید استیک و بوتیریک اسید، ترکیبات غیرقابل جذب را به مواد قابل جذب مبدل می‌کند.[۶] اهمیت سیستمیک اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و سایر ترکیباتی که به واسطه‌ی عملکرد مستقیم یا غیرمستقیم گات میکروبیوتا در محیط روده ایجاد می‌شود بسیار حایز اهمیت می‌باشد. گات میکروبیوتا همانند ارگان غده‌ی مترشحه‌ی داخلی عمل می‌کند و کوچکترین اختلالی در آن باعث ایجاد التهاب و شرایط خودایمنی می‌گردد. ترکیب میکروبیوم روده با گذشت زمان تغییر می‌کند و زمانی که سلامت عمومی تغییر می‌کند قطعا فلور روده‌ای آن فرد هم دستخوش تغییر گشته است.[۷و۸] تایپ‌های مختلف میکروبی و متابولیت‌های تولیدی توسط آن‌ها و آنتی‌ژن‌هایشان موثر در روند ایجاد و توسعه‌ی سرطان روده می‌باشند. برای نمونه باکتری‌های تولیدکننده‌ی استالدهید و باکتری‌های کاهنده‌ی سولفات با توجه به تولید متابولیت‌ها و ایجاد التهاب در روده و تولید توکسیسیتی القاکننده‌ی تومور شامل استالدهید، سولفید هیدروژن و اسیدهای صفراوی ثانویه در روده می‌توانند از عوامل ایجادکننده‌ی سرطان روده باشند.[۵] از طرفی برخی از متابولیت‌های باکتریایی با تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره به‌ویژه بوتیرات و همینطور لینولنیک اسید کونژوکه می‌توانند ریسک ابتلا به سرطان روده را کاهش دهند. این باکتری‌ها به‌اصطلاح باکتری‌های خوب نامیده می‌شوند و توزیع گسترده در گروه‌های فیلوژنتیک مختلف دارند.[۵و۶] از بین میکروب‌های مفید نقش *لاکتوباسیلوس‌ها* بسیار پررنگ می‌باشد توانایی آن‌ها در تولید PH و حفظ محیط اسیدی شناخته شده است. مصرف این باکتری در ترکیبات دارویی توازن طبیعی باکتری و قارچ را در دستگاه گوارش تنظیم می‌کند.[۹] از طرفی در حین سرطان روده خیلی از میکروارگانیسم‌ها مانند *انتروکوکوس فکالیس*، *انتروتوکسیژنیک باکتروییدس فراجیلیس* و *اشریشیا کلی* دخیل هستند.[۱۰] باکتری‌های دهان و روده می‌توانند محیط روده را تغییر دهند و بیماری عفونی مانند اندوکاردیت، بیماری گوارشی، آبسه‌ی مغزی و ریوی و بیماری پریودنتال ایجاد کنند.[۱۱] از بین این میکروب‌های دهانی مهمترین عامل بیماری، فوزوباکتریوم‌نوکلئاتوم و در اولویت بعدی *پریوتلا* و *پورفیرومونا‌س ژینژیوالیس* می‌باشد.[۱۲]

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی دو میکروب بیماری‌زای *پریوتلا* و *اشریشیا کلی* و یک میکروب مفید *لاکتوباسیلوس* در نمونه‌ی مدفوعی بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ و پولیپ آدنوماتوز نسبت به افراد سالم انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مورد- شاهدی از مرداد ۱۳۹۵ تا تیر ۱۳۹۶ انجام شد. در پروسه‌ی غربالگری از سرطان روده‌ی بزرگ پیش از انجام، بیمارانی که واجد شرایط کولونوسکوپی بودند انتخاب شدند. این شرایط داشتن سابقه‌ی شخصی یا خانوادگی سرطان‌های روده‌ی بزرگ یا سرطان مرتبط، داشتن علایم بالینی هشدار دهنده مانند باریک شدن مدفوع، خونریزی از مقعد، کم خونی غیرمنتظره و یا سن بالای ۵۰ سال که به‌صورت داوطلبانه، رضایت خود را جهت کولونوسکوپی اعلام کردند بود. بیماران مورد آموزش جهت دریافت کولونوسکوپی قرار گرفتند. پیش از انجام کولونوسکوپی از بیماران نمونه‌ی مدفوع دریافت گردید. سپس در صورت مشاهده‌ی پولیپ یا زائده‌ی مشکوک نمونه در حین کولونوسکوپی گرفته و به لابراتوار پاتولوژی منتقل گردید. لازم به یادآوری است که هیچکدام از بیماران سابقه‌ی جراحی روده را نداشتند. در نهایت تعداد نمونه‌های گردآوری شده جهت مطالعه شامل ۳۰ نمونه‌ی مدفوع بیماران مرحله یک سرطان روده، ۳۰ نمونه‌ی مدفوع و بافت پولیپ آدنوما و ۳۰ نمونه‌ی مدفوع و بافت روده‌ی افراد نرمال به‌عنوان گروه کنترل تهیه گردید. نمونه‌های مدفوع درون ظرف با محتوی Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) غوطه‌ور گردید و در فریزر ^{o}C ۷۰- نگهداری شد.

افرادی که وارد این مطالعه شدند شامل افراد مشکوک به سرطان روده‌ی بزرگ، افرادی که مبتلا به بیماری عفونی، التهابی و سایر سرطان‌ها نبودند. افرادی که مبتلا به سایر بیماری‌های سیستم گوارشی نبودند، افرادی که عدم مصرف آنتی‌بیوتیک و یا پروبیوتیک حداقل یک ماه پیش از نمونه‌گیری و کولونوسکوپی داشتند، عدم انجام

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

هیچگونه پروسه‌ی درمانی حداقل در سه ماه گذشته، افرادی که موفق به دادن نمونه‌ی مدفوع پیش از کولونوسکوپی شده بودند.[۱۳]

تکمیل پرسشنامه که شامل داده‌های سابقه‌ی بیماری روده، سابقه‌ی ارثی بیماری، ابتلا به سایر بیماری‌ها از جمله دیابت، مصرف الکل، مصرف سیگار، رژیم غذایی، مشخصات دموگرافی از بیماران انجام گرفت. DNA باکتریایی از نمونه‌های مدفوع افراد مورد مطالعه با استفاده از کیت استخراج DNA از مدفوع (Qiagen GmbH, Hamburg, Germany) استخراج گردید. سه کاندید باکتریایی مورد نظر شامل *لاکتوباسیلوس*، *پریوتلا* و *اشریشیا کلی* برای بررسی انتخاب گردیدند. تکثیر DNA در حجم ۲۰ µl لحاظ شد. کیت مورد استفاده جهت تکثیر DNA، SYBR® Premix Ex Taq™ II-Tli RNaseH Plus (TaKaRa Bio Inc., Otsu, Japan) بوده است. مقدار اجزای واکنش شامل ۲۰ پیکومول از پرایمر رفت و برگشت و ۲ µl از DNA استخراج شده محاسبه شد. دستگاه مورد استفاده ABI 7500 (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, USA) بود و برنامه‌ی این ترموسایکلر به‌صورت ۳۵ سیکل تعریف شد که زمانبندی آن شامل ۹۰ °C برای ۱۰ دقیقه، ۹۰ °C برای پنج ثانیه، ۶۰ °C برای ۳٤ ثانیه بود.

از منحنی ذوب برای بررسی وجود دایمر پرایمر استفاده گردید.[۱٦-۱٤] پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر از مقالات چاپ شده انتخاب گردیدند که اختصاصیت آن‌ها با سکانس‌های موجود در NCBI Primer-BLAST Tool (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) مقایسه گردید (جدول ۱).[۱۷] منحنی استاندارد برای هر کدام از باکتری‌های کاندید با هشت غلظت مختلف به‌صورت دوپلیکیت ترسیم شد که DNA آن‌ها از سویه‌های استاندارد *پریوتلا*، *اشریشیا کلی* و *لاکتوپاسیلوس* به‌دست آمده بودند. واکنش بدون DNA هم به‌عنوان کنترل منفی به‌کار رفت.[۱۷و۱۸] میانگین و انحراف معیار و در صد و فراوانی متغییر های قطعی تعیین شدند. از quantile-quantile plot (Q-Q plot) برای ارزیابی فرضیه‌ی نرمالیتی استفاده گردید. تفاوت بین سه گروه از لحاظ فراوانی باکتری‌ها با تست تحلیل واریانس سنجیده شد. متغیرهای قطعی با Chi-square test آنالیز گردیدند. تمامی آنالیزها در SPSS software, version 16 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) انجام گرفت و $P\leq ۰/۰۵$ منظور گردید.

یافته‌ها

مشخصات دموگرافیک (سن، جنسیت، سابقه خانوادگی، ابتلا به هلیکوباکترپیلوری مصرف سیگار و الکل، فعالیت بدنی، رژیم غذایی و سابقه بیماری سیستم گوارشی) در هر سه گروه مبتلا به سرطان روده، پولیپ و سالم به‌طور کامل مطالعه و آنالیز آماری شد و افزایش سطح معناداری محاسبه گردید (جدول ۱). اختلاف بین سه گروه برای سن، جنس، سابقه‌ی دیابت، سابقه‌ی هلیکوباکترپیلوری، مصرف سیگار، فعالیت بدنی، سابقه‌ی بیماری گوارشی معنادار نبود. از طرفی میزان فراوانی باکتری‌های مورد هدف در نمونه‌های مدفوعی در جدول ۲ ذکر شده است.

بحث

در این مطالعه، تفاوت‌های معنادار جمعیت باکتری‌های روده‌ای در افراد آدنوما و سرطان روده نسبت به افراد سالم گزارش گردیده است. ارتباط گات میکروبیوتا و سرطان روده در مطالعات متعددی از چند سال گذشته تاکنون بررسی شده است، اما مطالعات کمتری در حوزه‌ی پولیپ و میکروبیوتا انجام شده است.[۱۹] در مطالعه‌ی حاضر نه تنها تفاوت جمعیت باکتریایی در بیماران سرطان روده بررسی و مشاهده گردید بلکه این تفاوت جمعیت باکتریایی در بیماران مبتلا به پولیپ هم مشاهده و بررسی شد. این یافته اثبات می‌کند که تغییرات در جمعیت باکتری‌های روده در بیماران آدنوما می‌تواند یک رخداد زودهنگام در مسیر بروز سرطان روده باشد. افزایش قابل توجه باکتری‌های *اشریشیا کلی* و *پریوتلا* در بیماران مبتلا به پولیپ آدنوما و مبتلا به سرطان روده در قیاس با افراد نرمال اثبات شد. از طرفی کاهش قابل توجه باکتری مفید *لاکتوباسیلوس* در این بیماران نسبت به افراد نرمال گزارش گردید.

Peters و همکاران کاملا نظر موافقی با مشاهدات پیش‌رو در جهت اینکه پولیپ آدنوما ترکیب میکروبی کاملا متفاوتی نسبت به ترکیب میکروبی جمعیت نرمال دارد ارایه کرده‌اند.[۲۰] مشابه مطالعه‌ی حاضر مطالعه‌ی Fukugaiti و همکاران می‌باشد که جمعیت میکروب‌های انتخابی *فوزوباکتریوم نوکلئاتوم*، *پورفیرومونا ژینژیوالیس*، *پورفیرومونا اینترمدیا*، *کلیستریدیوم دیفیسیل*، *باکتروییدس*

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

فراجیلیس، *باکتروییدس ولگاتوس*، *پورفیرومونا دیستاسونیس*، *لاکتوباسیلوس*، *بیفیدوباکتریوم* و *اشریشیا کلی* در جمعیت افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ نسبت به افراد سالم توسط تکنیک RT-PCR سنجیدند، می‌باشد که افزایش معنادار باکتری‌های *فوزوباکتریوم نوکلئاتوم* و *کلستریدیوم دیفیسیل* را نسبت به جمعیت سالم گزارش کردند، اگرچه افزایش سایر باکتری‌ها را در بیماران مشاهده کردند اما به خاطر سایز نمونه کوچک سطح معنادار برای سایر گونه‌ها حاصل نکردند و به سمت مطالعه با سایز نمونه‌های بزرگ‌تر سوق پیدا کردند.[۱۷] در مطالعه‌ی Sears و همکاران مشابه مطالعه‌ی حاضر در مورد افزایش *اشریشیا کلی* در رخداد سرطان روده صحبت شده است.[۲۱] از طرفی تمام افراد مورد مطالعه‌ی حاضر از لحاظ وضعیت *هلیکوباکتر پیلوری* توسط تست پاتولوژی بررسی شدند و درون پرسشنامه‌ها وضعیت مثبت بودن و یا منفی بودن *هلیکوباکتر پیلوری* در آن‌ها بیان گردید. پس از آنالیزهای آماری، هیچگونه اختلاف

جدول ۱: متغیرهای مورد بررسی در سه گروه مبتلا به سرطان روده، پولیپ آدنوما و سالم

	سرطان روده	پولیپ	سالم	کل نمونه‌ها
سن، میانگین (انحراف‌معیار) (سال)	٦۰/۸۷(۱۳/٥)	٥۸/٥۷(۱۳/٥)	٥۹/۸٤(۱۷/۰)	٥۹/٤۱(۱٤/۷)
جنس (٪)				
زن	۸(٤۳/۷)	۱۹(٤٥/۲)	۱٥(٤۸/٤)	٤۲(٤٦/۱)
مرد	۱۲(٥٦/۳)	۲۳(٥٤/۸)	۱٦(٥۱/٦)	٥۱(٥۳/۹)
سابقه فامیلی (٪)				
دارد	۱۸(۹۳/۳)	۳۰(۷۱/۸)	۳۰(۹٦/۸)	۷۸(۸٤/۷)
ندارد	۲(٦/۷)	۱۲(۲۸/۲)	۱(۳/۲)	۱٥(۱٥/۳)
سابقه دیابت				
دارد	۱٥(۷٥/۰)	۳٦(۸٥/٤)	۲۹(۹۳/٥)	۸۰(۸۷/٤)
ندارد	٥(۲٥/۰)	٦(۱٤/٦)	۲(٦/٥)	۱۳(۱۲/٦)
هلیکوباکتر پیلوری				
هلیکوباکتر پیلوری مثبت	۱۸(۸۷/٥)	۳٦(۸٥/۷)	۲۷(۸۷/۱)	۸۱(۸٦/٥)
هلیکوباکتر پیلوری منفی	۲(۱۲/٥)	٦(۱٤/۳)	٤(۱۲/۹)	۱۲(۱۳/٥)
سیگار				
سیگاری	۱٦(۹۳/۷)	۳۷(۸۸/۱)	۲٤(۷۷/٤)	۷۷(۸٥/٤)
غیرسیگاری	٤(٦/۳)	٥(۱۱/۹)	۷(۲۲/٦)	۱٦(۱٤/٦)
فعالیت بدنی				
فعالیت بدنی ندارند	۱٦(۸۱/۲)	۲۷(٦٤/۳)	۲۱(٦۷/۷)	٦٤(٦۸/٥)
فعالیت بدنی پایین دارند	۲(۱۲/٥)	۱۰(۲۳/۸)	۷(۲۲/٦)	۱۹(۲۱/٤)
فعالیت بدنی بالا دارند	۲(٦/۳)	٥(۱۱/۹)	۳(۹/۷)	۱۰(۱۰/۱)
رژیم غذایی				
همه غذاها	۱۲(٦۲/٥)	۳۷(۸۸/۱)	۳۰(۹٦/۸)	۷۹(۸٦/٥)
همه غذاها جز سبزیجات	۸(۳۷/٥)	٥(۱۱/۹)	۱(۳/۲)	۱٤(۱۳/٥)
سابقه بیماری گوارشی				
ندارند	٦(۲٥/۰)	۱۰(۲۳/۸)	۱۰(۳۲/۳)	۲٦(۲۷/۰)
دارند	۱٤(۷٥/۰)	۳۲(۷٦/۲)	۲۱(٦۷/۷)	٦۷(۷۳/۰)

* آنالیز آماری: Chi-square test، P<۰/۰٥ معنادار در نظر گرفته شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

جدول ۲: میانگین توزیع هر باکتری هدف براساس منحنی تکثیر در بین سه گروه مبتلا به سرطان، پولیپ و نرمال

	سرطان روده	پولیپ	سالم
میانگین (انحراف‌معیار) (منحنی تکثیر)			
پربوتلا	۲٤/٥۷(۷/۳٦)*	۲٦/۷۷(۳/۷٥)	۲۷/۹٦(۲/۷٥)
اشریشیا کلی	۲۰/٤(۳/۰۲)*	۲۲/۳۱(٥/۹۳)	۲٥/۲۸(٦/۱۳)
لاکتوباسیلوس		۲٥/٤۷(٤/٥٤)*	۱۹/۳٥(۳/۹۲)

* آزمون آماری: تست تحلیل واریانس، P<۰/۰٥ معنادار در نظر گرفته شد.

معناداری از وضعیت مثبت بودن *هلیکوباکتر پیلوری* بین سه گروه سرطانی، پولیپ و سالم مشاهده نشد و سطح معناداری قابل قبول نبود که نشانگر این است میان باکتری یادشده و رخداد سرطان روده ارتباط معناداری وجود ندارد.

هرچند نیاز به تست‌های دقیق‌تر مانند بررسی DNA در بافت بیماران سرطانی و انجام تست‌های متداول بررسی *هلیکوباکتر پیلوری* مانند تست سرولوژی برروی سرم بیماران و همینطور انجام مطالعه در حجم نمونه‌های بزرگتر می‌باشد و در اصل با حجم نمونه گزارش شده در مطالعه‌ی حاضر با قاطعیت نمی‌توان عدم ارتباط *هلیکوباکتر پیلوری* و سرطان روده را گزارش داد. همانگونه که در بخش نتایج نشان داده شد سه گروه مورد مطالعه به لحاظ سن، جنس، سابقه‌ی دیابت، مثبت بودن *هلیکوباکتر پیلوری*، مصرف سیگار و مصرف مشروبات الکلی، فعالیت‌های بدنی، سایر بیماری‌های دستگاه گوارش و از لحاظ رژیم غذایی با هم اختلاف معناداری ندارند. این مسیله نقطه‌ی قوت مطالعه‌ی حاضر می‌باشد به این لحاظ که سه گروه را به راحتی قابل مقایسه و بررسی کرده است. Qiaoyi و همکاران، بیومارکرهای میکروبی را در نمونه‌ی مدفوع بیماران مبتلا به سرطان روده، به‌عنوان مناسب‌ترین جایگزین غیرتهاجمی تشخیص زودهنگام سرطان روده‌ی بزرگ معرفی کردند.[۱۳] نتایج مطالعه حاضر در مقیاس بسیار کوچک‌تر موید این مطلب می‌باشد. از آن‌جایی که سرطانی شدن یک فرآیند طولانی و چند فاکتوری است، رژیم غذایی، قومیت و عوامل محیطی ممکن است در حین روند سرطان دخیل باشند.[۲٤-۲۲] برای اینکه از این مارکرها در آینده به‌عنوان مارکرهای تشخیصی استفاده گردد نیاز به مطالعات بعدی و به‌کار بردن حجم نمونه‌های بزرگ‌تر، تکرار آزمایشات و تکنیک‌های بالاتری برای شناسایی یک پنل بیومارکری با حساسیت بالا و اختصاصیت مناسب دارد تا در نتیجه بتوان به‌عنوان ابزار تشخیصی پولیپ و سرطان استفاده گردد.[۱۷]

میکروبیوم روده‌ای افراد مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ و پولیپ آدنوما با میکروبیوم افراد سالم متفاوت بود و بار میکروب‌های بیماری‌زا در مقایسه با میکروب‌های مفید در افراد سرطانی و مبتلا به پولیپ بالاتر رفت. در مقابل بار میکروب‌های مفید در افراد سالم بالاتر از افراد مبتلا به سرطان روده و مبتلایان پولیپ آدنوما بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "بررسی نقش فلور میکروبی مهم روده در میزان بیان و متیلاسیون TLRs های مهم مرتبط با آن در بیماران مبتلا به سرطان روده‌ی بزرگ و پولیپ آدنوما در مقابل افراد سالم" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی در سال ۱۳۹٤ و کد RIGLD851 که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی دانشگاه تهران اجرا شده است.

References

1. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017;474(11):1823-36.
2. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003;361(9356):512-9.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

3. Sears CL. A dynamic partnership: celebrating our gut flora. *Anaerobe* 2005;11(5):247-51.
4. Quigley EM. Gut bacteria in health and disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2013;9(9):560-9.
5. Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *ISME J* 2012;6(2):320-9.
6. Devillard E, McIntosh FM, Duncan SH, Wallace RJ. Metabolism of linoleic acid by human gut bacteria: different routes for biosynthesis of conjugated linoleic acid. *J Bacteriol* 2007;189(6):2566-70.
7. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol* 2008;6(11):e280.
8. Andersson AF, Lindberg M, Jakobsson H, Bäckhed F, Nyrén P, Engstrand L. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS One* 2008 30;3(7):e2836.
9. Zoetendal EG, Vaughan EE, de Vos WM. A microbial world within us. *Mol Microbiol* 2006;59(6):1639-50.
10. Collins D, Hogan AM, Winter DC. Microbial and viral pathogens in colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2011;12(5):504-12.
11. Nakano K, Inaba H, Nomura R, Nemoto H, Tamura K, Miyamoto E, et al. Detection and serotype distribution of Actinobacillus actinomycetemcomitans in cardiovascular specimens from Japanese patients. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22(2):136-9.
12. Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, et al. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012;22(2):299-306.
13. Liang Q, Chiu J, Chen Y, Huang Y, Higashimori A, Fang J, et al. Fecal bacteria act as novel biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(8):2061-70.
14. Rezasoltani S, Dabiri H, Asadzadeh Aghdaei H, Akhavan Sepahi A, Modarressi MH, Nazemalhosseini Mojarad E. An improved real-time q-PCR technique for quantification of intestinal bacteria in human fecal samples. *South Asian J* Exp Biol 2017;7(5):201-9.
15. Rezasoltani S, Asadzadeh Aghdaei H, Dabiri H, Akhavan Sepahi A, Modarressi MH, Nazemalhosseini Mojarad E. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. *Microb Pathog* 2018;124:244-9.
16. Rezasoltani S, Sharafkhah M, Asadzadeh Aghdaei H, Nazemalhosseini Mojarad E, Dabiri H, Akhavan Sepahi A, et al. Applying simple linear combination, multiple logistic and factor analysis methods for candidate fecal bacteria as novel biomarkers for early detection of adenomatous polyps and colon cancer. *J Microbiol Methods* 2018;155:82-8.
17. Fukugaiti MH, Ignacio A, Fernandes MR, Ribeiro Júnior U, Nakano V, Avila-Campos MJ. High occurrence of Fusobacterium nucleatum and Clostridium difficile in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients. *Braz J Microbiol* 2015;46(4):1135-40.
18. Ignacio A, Fernandes MR, Avila-Campos MJ, Nakano V. Enterotoxigenic and non-enterotoxigenic Bacteroides fragilis from fecal microbiota of children. *Braz J Microbiol* 2015;46(4):1141-5.
19. Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Fölsch UR, et al. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 2004;53(5):685-93.
20. Peters BA, Dominianni C, Shapiro JA, Church TR, Wu J, Miller G, et al. The gut microbiota in conventional and serrated precursors of colorectal cancer. *Microbiome* 2016;4(1):69.
21. Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host Microbe* 2014;15(3):317-28.
22. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, et al. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Mol Syst Biol* 2014;10(11):766.
23. Rezasoltani S, Nazemalhosseini Mojarrad E, Norouzinia M, Asadzadeh Aghdaei H. The necessity of gut microbiome characterization in diseases prevention and therapy. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2017;10(2):150-1.
24. Rezasoltani S, Asadzadeh-Aghdaei H, Nazemalhosseini-Mojarad E, Dabiri H, Ghanbari R, Zali MR. Gut microbiota, epigenetic modification and colorectal cancer. *Iran J Microbiol* 2017;9(2):55-63.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]

TUMJ Tehran University Medical Journal, June 2020; Vol. 78, No. 3: 137-143 Original Article

Investigating the number of *Lactobaccilus*, *Escherichia coli* and *Prevotella* in fecal microbiota of adenomatous polyposis and colorectal cancer patients

Sama Rezasoltani Ph.D.[1]
Hamid Asadzadeh Aghdaei M.D.[2*]
Hossein Dabiri Ph.D.[3]
Abbas Akhavan Sepahi Ph.D.[4]
Mohammad Hossein Modarressi M.D., Ph.D.[4]
Ehsan Nazemalhosseini Mojarad Ph.D.[1]

1- Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Department of Microbiology, Faculty of Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[*] Corresponding author: Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Basic and Molecular Epidemiology of Gastrointestinal Disorders Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Tel: +98-21-22432539
E-mail: hamid.assadzadeh@gmail.com

Abstract

Received: 31 Jan. 2020 Revised: 07 Feb. 2020 Accepted: 13 Jum. 2020 Available online: 20 Jun. 2020

Background: Colorectal cancer is the second most common cancer in the world which is mainly caused by epigenetic and environmental factors. Among these epigenetic factors, gut microbiota is an important one. Although it has not been proved a unique group of bacteria correlated with colorectal cancer, these findings have generally demonstrated differences between healthy and disease gut microbiome in population. Actually, the identification and investigation of intestinal microbiota in early detection of colorectal cancer have been highlighted in new researches and studies. Herein, in the current study, we aimed to evaluate the number of selected gut bacteria including *Lactobacillus* and *Escherichia coli* and *Prevotella* in the fecal specimens of adenomatous polyposis patients, colorectal cancerous cases in compared to normal participants in terms of estimating important role of gut microbiota during colorectal cancer initiation and progression.

Methods: The current research was a case-control study. Fecal samples were provided from 31 healthy individuals, 42 adenomatous polyposis patients and 20 colorectal cancer cases that were referred to Taleghani Hospital, Tehran, Iran, from August 2016 to August 2017 for colorectal cancer screening tests. Fecal samples were collected to analyze intestinal bacteria including, *Lactobacillus*, *Escherichia coli*, and *Prevotella* by absolute quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR). The number of these gut bacteria was precisely determined by this method of real-time PCR.

Results: Higher number of *Prevotella* with 24.6 CT number ($P<0.005$) and *E.coli* with 20.4 CT number ($P<0.015$) were achieved in colorectal cancer cases and adenomatous polyposis patients in contrast to samples from normal individuals. On the contrary, the opposite range was observed for the quantification of *Lactobacillus* and greater numbers of bacteria (CT=28.6) were detected in normal, compared to the colorectal cancer cases and adenomatous polyposis ($P<0.001$).

Conclusion: The gut microbiota composition of individuals with colorectal cancer and adenomatous polyposis differs from that of healthy individuals, and the higher numbers of pathogenic microbiota versus beneficial microbiota present in those with colorectal cancer and adenomatous polyposis. In contrast, healthy individuals have higher numbers of beneficial gut microbiota than pathogenic microbes. These findings need more experimental analysis and investigation to better clarify.

Keywords: adenomatous polyposis, case-control studies, colorectal neoplasms, gastrointestinal microbiome.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-01-30]