مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره ششم، شماره بیست و چهارم- پائیز۱۳۹۵

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

مقایسه فراوانی ژن های *vat1* و*fimC* درجدایه های اشریشیاکولی بافتی مبتلایان به سرطان کولورکتال و بیماری التهابی روده بزرگ در جمعیت ایرانی

عطیه سلیقه[۱]، محسن زرگر[۱*]، شهلا محمد گنجی[۲]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

۲- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

چکیده:

سابقه و هدف: بررسی ها نشان داده است که بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده بزرگ در معرض خطر بالای ابتلا به سرطان قرار دارند. باکتری اشریشیاکولی یکی از عواملی است که در ایجاد بیماری التهابی روده بزرگ و سرطان کولورکتال نقش دارد.

مواد و روش ها: ۳۸ نمونه بیوپسی از بافت روده تهیه گردید و با روش های میکروبی و بیوشیمیایی باکتری جداسازی و شناسایی شد. پس از استخراج ژنوم سویه ها از نظر وجود ژن های ویرولانس *vat*1 و *fimC* با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR)، ارزیابی شدند.

یافته ها: بررسی مولکولی نشان داد که اختلاف معناداری بین گروه های مورد بررسی از لحاظ ژن *vat*1 (p =0.0245) وجود دارد درحالیکه اختلاف معناداری بین گروه ها از لحاظ ژن *fimC* وجود ندارد(P =0.201).

نتیجه گیری: نتایج کسب شده به خوبی رابطه ژن های ویرولانس مورد بررسی را با القا التهاب و القا ازدیاد نرخ جهش تایید می کند.

کلمات کلیدی: سرطان کولورکتال، بیماری التهابی روده، اشریشیاکولی ، ژن های ویرولانس *vat*1 ، *fimC*

مقدمه

سرطان کولورکتال سومین سرطان رایج و چهارمین دلیل مرگ و میر در جهان است. سالانه حدود ۴۰۰ هزار نفر در دنیا به علت ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می دهند(۲۰). با توجه به شیوع بالای این نوع سرطان مشکل بزرگی در سلامت عمومی بشر محسوب می شود. به طور کلی حدود ۲۰٪ از سرطان جهانی را می توان مرتبط با عوامل عفونی دانست. باکتری ها و فرآورده های باکتریایی در شیوع یا گسترش سرطان کولون با تحریک انواع مکانیسم ها از جمله ، القای پیش التهابی ، مسیر پروکارسینوژنیک[۱] در سلول های اپی تلیال ، تولید اکسیژن فعال ، ژنوتوکسیک[۲] و ... نقش دارند(۶).

جامعه ی میکروبی با نژاد های متفاوت ممکن است نرخ های متفاوتی از بیماری التهابی روده و سرطان را منجر شوند. اجتماعات متراکم باکتریایی که در دستگاه گوارش زندگی می کنند و در آنجا عملکرد گسترده ای دارند، میکروبیوتا[۳] خوانده می شوند، تغییر فلور میکروبی منجر به بیماری های حاد دستگاه گوارش مانند بیماری التهابی روده و سرطان کولورکتال می شود. در مطالعه های انجام شده مشاهده شده است که بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده در معرض خطر بالایی از کولیت مرتبط با سرطان کولورکتال می باشند. ایجاد التهاب مزمن به احتمال زیاد در پیدایش سرطان های دستگاه گوارش مهم می باشد زیرا حدود ۳۰٪ از بیماری های التهابی روده همراه با سرطان کولورکتال گزارش گردیده است(۴،۲۷).

باکتری های مختلفی از جمله انواع پاتوژن باکتری اشریشیاکولی[۴] در ایجاد سرطان کولورکتال نقش دارند. اکثر سویه های اشریشیاکولی به صورت کامنسال در دستگاه گوارشی انسان و دام ها حضور دارند اما برخی از آن ها بیماری زا بوده قابلیت تولید و ترشح طیف وسیعی از عوامل ویرولانس را دارا می باشند که بر این اساس به پاتوتیپ های مختلفی تقسیم می شوند(۱۶). اهمیت هر کدام از عوامل ویرولانس به وضعیت میزبان، محل عفونت، و توان ژنتیکی سویه خاص بستگی دارد که بسته به سویه توسط پلاسمید و یا کروموزوم کد می شود(۷).

نویسنده مسئول :

دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

پست الکترونیکی: zmohsen2002@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۱۷

1-Procarcinogenic
2-Genotoxic
3- Microbiota
4 -Escherichia coli

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

ژن های مختلفی فاکتورهای ویرولانس را کد می کنند. در این تحقیق به بررسی مولکولی دو ژن ویرولانس *vat*1 و *fimC* در باکتری اشریشیاکولی جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال پرداخته شده است.

ژن *fimC*

اتصال باکتری مرحله ضروری در آغاز کولونیزاسیون سطوح مخاطی میزبان است و مقدمه عفونت تهاجمی محسوب می شود. باکتری اشریشیاکولی دارای فاکتورهای اتصالی هستند به نام پیلی یا فیمبریه، که به آن ها اجازه می دهد تا به طور موفقیت آمیزی عفونت را آغاز کنند(۲۸). ادهسین ها آنتی ژن های فیمبریالی هستند که باکتری را قادر می سازند تا به موکوس روده متصل شود(۶). از ادهسین های معمول می توان P فیمبریا، فیمبریا نوع1، S فیمبریا، F1C فیمبریا و خانواده ادهسین که شامل ادهسین Dr، ادهسین ها یا فیمبریال را نام برد(۲۱،۳۱)، این فیمبریاها به ترتیب توسط ژن های*pap, fim, sfa, foc, afa* کد می شوند. تعدادی از اعضای خانواده انتروباکتریاسه این ژن ها را تولید می کنند. فیمبریه نوع ۱ به وسیله بیش از ۹۰٪ سویه های اشریشیاکولی بیان می شود(۲۳،۳۰). تیپ ۱ فیمبریال شامل خوشه های ژنی شامل*fim*A، *fim*B، *fim*C، *fim*D، *fim*E، *fim*G، *fim*H و *fim*I می باشد. ژن *fimC* توسط یک چاپرون پری پلاسمیک کد می شود و یک راهنمای مورد نیاز برای قرار گرفتن فیمبریا بر روی سطح باکتری می باشد. چاپرون های پری پلاسمیک FIMC یک نانومریک است، یک پروتئین ۲۵ کیلو دالتونی اصلی، که از ۲۵ اسید آمینه تشکیل شده است که واسطه ی ساخته شدن تیپ ۱ فیمبریال در باکتری اشریشیاکولی می شود (۳۰،۲۶،۱۷). به نظر می رسد که پروتئینFIMC شامل ترکیبات غنی ازATP باشد و برخلاف بسیاری از چاپرون های سیتوپلاسمیک نیاز به ATP در برهم کنش ها نمی باشد(۱۹) .

ژن *vat* (Vacuolatingautotransporter serine protease):

یک سایتوتوکسین واکوئل ساز می باشد و واکوئل داخل سلولی را در کشت سلولی القا می کند، هم چنین محصول پروتئین ژن نامبرده یک سرین پروتئاز از خانواده SPATE [۵] می باشد که یک خانواده ی بزرگ از پروتئاز های که بوسیله ی اشریشیاکولی و شیگلا[۶] ترشح می شود. SPATE ها شامل دو سایت با فعالیت متفاوت می باشد. سایت کاتالیتیک C-terminal که موجب یک شکست داخل مولکولی شده و باعث رها شدن پروتئین های N-terminal در ماتریکس خارج سلولی می گردد ، دامین ترشحی N-terminal در SPATE ها که نوعی پروتئاز است و هر کدام به تنهایی یک سایت کاتالیتیک سرین پروتئاز استاندارد می باشد. برخی از پروتئاز های ترشحی، توکسین هستند که اثرات گوناگونی در سلول های پستانداران می گذارند(۱۲). ژن *vat* بر روی جزیره ژنومیک PAIs[۷] کد شده است. PAIs شامل مجموعه ای از ژن های ویرولانس می باشد که در ژنوم سویه های پاتوژن حاضر می باشد در حالیکه در سویه های غیر پاتوژن حضور ندارد. PAIs یک ناحیه ژنومی بزرگ را اشغال کرده است که بیش تر از Kb۱۰ می باشد. بررسی ها نشان می دهد مقایسه فراوانی ژن های*vat*1و *fimC* درجدایه های اشریشیاکولی بافتی مبتلایان سرطان کولورکتال و بیماری التهابی روده بزرگ در جمعیت ایرانی به عنوان اولین کار در ایران می باشد.

مواد و روش ها

نمونه ها در فاصله زمانی تیر ماه ۱۳۹۲ تا بهمن ماه ۱۳۹۳ از بیمارستان های شهید بهشتی و ولی عصر استان قم ومرکز تومور بانک بیمارستان امام خمینی تهران جمع آوری شد و پس از تایید تست پاتولوژی کلینیکی در سریعترین زمان ممکن به آزمایشگاه انتقال یافت. در کل ۳۸ نمونه بیوپسی در دوره ی زمانی ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت که مربوط به افراد طبیعی، بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ بود. تمامی آن ها پرسش نامه و رضایت نامه هایی را پر و امضاء کردند، اما محدودیت هایی مانند نداشتن همراه، بدحال بودن بیمار، کم اطلاعی بیمار یا همراهان آن ها نسبت به برخی سوال های پرسش نامه و... باعث شد تا برخی پرسش نامه ها ناقص پر شود بنابراین برخی نمونه ها از مطالعه خارج شد.

سویه هایی که پس از غنی سازی در محیط آب پپتونه قلیایی، درمحیط کشت لوریابرتانی (Leuria Bertani)[۸] رشد کردند را به محیط کشتEMB agar [۹] انتقال داده شدند. کلنی هایی که در این محیط رنگ سبز با جلای فلزی داشتند به عنوان باکتری تیپیک درنظر گرفته شدند و با آزمون های بیوشیمیایی اندول، متیل رد، سیترات، تولید هیدروژن سولفید در محیط TSI [۱۰] و تست اوره آز، مورد ارزیابی قرار گرفتند. سویه هایی که به عنوان اشریشیاکولی تیپیک مورد تایید قرار گرفتند جهت انجام بررسی های بیش تر از انها استوک تهیه شد و در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس نگه داری شدند.

باکتری های جداسازی شده به مدت ۲۴ ساعت در محیط مایع LBکشت داده شدند و DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA استخراج شد. نمونه های DNA استخراج شده پس از بررسی کیفی و کمی تا زمان انجام واکنش PCR در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس، نگه داری شدند. در مرحله بعد برای ژن های

5-Serin Prptease Autotransporter Of Entrobacter[۶]
6-Shigella
7- The Pathogenicity Islands
8-Leuria Bertani
9-Eosin methylene blue agar
10- Triple Sugar Iron

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

مورد بررسی طراحی پرایمر صورت گرفت.

فراوانی هر یک از سروگروپ ها، ژن های ویرولانس باکتری اشریشیاکولی با استفاده از واکنش زنجیره ایی پلیمراز مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه کنترل مثبت، در واقع نمونه تایید شده ای است که از دانشگاه تولوئوس [11] در فرانسه اخذ شده است. درتمام واکنش های PCR از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Eppendorf آلمان استفاده شد. پرایمر های مورد استفاده برای تشخیص سروگروپ ها و ژن های ویرولانس باکتری اشریشیاکولی جداسازی شده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال در (جدول ۱) آورده شده است.

نام پرایمر	توالی (3' - 5')	طول قطعه
*fim*C-F	GTT TTA TCG TGA CGC CAC CT	408bp
*fim*C-R	TTC CTG CAT CAG AAG GCA AT	
*Vat*1-F	GTG TCA GAA CGG AAT TGT C	230bp
*Vat*1-R	GGG TAT CTG TAT CAT GGC AAG	

جدول۱: لیست پرایمر های مورد استفاده برای ردیابی ژن های ویرولانس، در اشریشیاکولی های جداشده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

شرایط انجام واکنش PCR برای ژن های مورد مطالعه به این صورت زیر بود:

Master mix 10µl آمپلیکون، ۵ µl ۰/ پرایمرهای F و R با غلظت ۱۰پیکومول، 1µl از DNA الگو با غلظت ۱۰۰ نانوگرم و ۷/µl۷ آب مقطر استریل در میکروتیوب ml ۰/۵ریخته شد و بخوبی مخلوط شد. نهایتاً میکروتیوب ها در دستگاه ترموسایکلر اپندروف با برنامه دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۳ درجه سلسیوس به مدت ۲ دقیقه، ۳۵ چرخه با دمای ۹۳ درجه سلسیوس به مدت ۳۵ ثانیه، annealing به مدت ۳۰ ثانیه، دمای همانند سازی ۷۲درجه سلسیوس به مدت ۳۵ ثانیه و در خاتمه دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه گذاشته شد. دمای annealing برای ژن های *fimc*، *vat*1 به ترتیب ۴۸درجه سلسیوس، ۴۶ درجه سلسیوس بود.

بررسی محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگاروز ٪۱ انجام شد و نتایج با دستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرار گرفت.

11- Toulouse university France

یافته ها

نتایج حاصل از این مطالعه در چند بخش زیر قابل ارائه است:

الف- یافته های حاصل از تست های باکتریولوژی

پس ازنمونه گیری در دوره زمانی تیرماه ۱۳۹۲تا بهمن ماه ۱۳۹۳ نمونه ها بعد از سریال رقت در لوله های حاوی سالین فیزیولوژیک که از باکتری غنی شده در محیط LB کلنی مشکوک به باکتری اشریشیاکولی را به محیط افتراقی و شناسایی انتقال داده شد. سپس کلنی های دارای رنگ سبز با جلای فلزی بر روی محیط افتراقی EMB، انتخاب و تستهای بیوشیمیایی IMVIC برای باکتری اشریشیاکولی جداسازی شده، انجام شد. این تستها مبنی بر جنس و گونه باکتری های اشریشیاکولی بود.

ب- یافته های دموگرافی و کلینیکوپاتولوژی بیماران

در نهایت نتایج دموگرافی، کلینیکو پاتولوژی و آزمایشگاهی بیماران در این مطالعه، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. از آزمون های آماری تک متغیره و چند متغیره نظیر t-Test، Fisher Exact text استفاده شد و در صورتی P-*Value* معنادار درنظر گرفته شد که (p<۰،۰۵) بود. از ۳۸ نمونه بیوپسی که طی دوره زمانی این پژوهش جمع آوری شده بود، به ترتیب (۱۸/۵٪)۷، (۳۹/۵٪)۱۵و (۶۰/۸٪)۱۶ نمونه مربوط به افراد طبیعی، بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ (شامل پولیپ وکولیت اولسراتیو و کرون دیزیز) شرکت کننده در این مطالعه بود. نتایج آماری نشان داد که بین گروه های بیماری التهابی روده بزرگ و س‌رطان کولورکتال و افراد طبیعی شرکت کننده، از لحاظ فاکتورهای میانگین کاهش وزن و مصرف سیگار اختلاف معناداری مشاهده می شود ($p< 0.05$) و از لحاظ سایر فاکتورهای مورد بررسی اختلاف معناداری مشاهده نشد. (جدول۲)

ج- یافته های حاصل از تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره ای پلی مراز برای ژن های ویرولانس

از بین ۳۸ سویه مورد مطالعه، ۶۶ (۸۰/۴۸٪) سویه ها برای ژن *vat*1 مثبت بود. اندازه قطعه حاصله bp۲۳۰است. اختلاف معناداری بین گروه های مورد بررسی از لحاظ ژن *vat*1 وجود دارد ($p = 0.0245$)(عکس ۱)(جدول۳)

برای ژن *fim*C نیز، از بین ۳۸ سویه مورد بررسی در ۷۲ (۸۰/۸۷٪) سویه مثبت بود. اندازه قطعه 408bp است. اختلاف معناداری بین گروه ها از لحاظ ژن *fim*C وجود ندارد (P=0.201) (عکس۲)(جدول۲).

نتایج نشان داد که از ۷ نمونه طبیعی، وجود ژن های ویرولانس *vat*1 و*fim*C به ترتیب در ۳ و ۵ نمونه طبیعی مثبت گزارش شد. در ۱۶ نمونه مربوط به مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ نیز

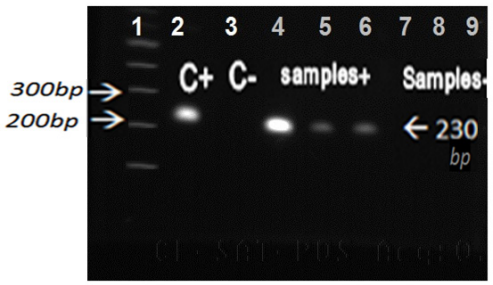
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

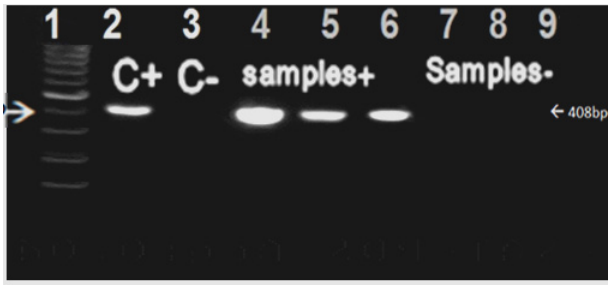
وجود ژن های ویرولانس *vat*1 و*fimC* به ترتیب در ۱۴ و ۱۵ تا از نمونه ها مثبت گزارش شد. در بین ۱۵ نمونه مربوط به مبتلایان به سرطان کولورکتال نیز، وجود ژن های ویرولانس *vat*1 و*fimC* به ترتیب در ۱۴ و ۱۱ مورد مثبت گزارش شد (جدول ۳).

	طبیعی N(%)	بیماری التهابی روده بزرگ N(%)	سرطان کولورکتال N(%)	*p*-value
Age (mean years±SD)	52±2.8	37±9.9	64±5.6	
gender female male	 5 2	 7 8	 4 12	(p= 0.05) IBD vs. Normal &p=0.27 CRC Vs. Normal
Mean lose Weight*(kg± SD) lose Weight yes no	0 0* 7*(100)	4.5±11.3 7*(43.8) 9*(56.2)	8.3±0.7 10*(66.7) 5*(33.3)	(*p*= 0.04) IBD vs. Normal &*p*=0.004 CRC Vs. Normal
Smoking Yes No	1(14.3) 6(85.5)	 2(12.5) 14(87.5)	 4*(26.6) 11*(73.3)	(*p*= 0.79) IBD vs. Normal &*p*=0.01CRC Vs. Normal
fimC gene Positive Negative	5(71.4) 2(28.5)	15(93.7) 1(6.3)	11(73.3) 4(26.7)	(*p*= 0.21) IBD vs. Normal &*p*=0.73 CRC Vs. Normal
*vat*1gene Positive Negative	3* (42.8) 4* (57.2)	14*(87.5) 2* (12.5)	14* (87.5) 1* (12.5)	*p*=0.04 IBD vs. Normal & *p*=0.02 CRC Vs. Normal

شیوع ژن ویرولانس *vat*1، بیماری التهابی روده ی بزرگ نسبت به طبیعی (*p*=0.04)، و سرطان کولورکتال نسبت به طبیعی (*P*=0.02) می باشد که اختلاف بین آن ها معنی دار است. شیوع ژن ویرولانس *fimC*، بیماری التهابی روده ی بزرگ نسبت به طبیعی (p=0.21) و سرطان کولورکتال نسبت به طبیعی (*P*=0.73) می باشد که اختلاف بین آن ها معنی دار نمی باشد.



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن vat۱ بر روی ژل آگارز ۱٪. از چپ به راست: چاهک شماره۱:سایز مارکر فرمنتاز ۱۰۰bp، Cat. no:PR۹۱۱۶۵۳، چاهک شماره۲ : کنترل مثبت(نمونه اخذ شده از فرانسه)،چاهک شماره۳: کنترل منفی،چاهک شماره۴-۷ : نمونه مثبت باند ۲۳۰bp نشانه وجود ژن vat۱ می باشد،چاهک های۸-۹ : نمونه منفی.



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR ژن fimC بر روی ژل آگارز ۱٪. از چپ به راست: چاهک شماره1: سایز مارکر فرمنتاز 100bp، Cat. no:PR911653، چاهک شماره2 : کنترل مثبت(نمونه اخذ شده از فرانسه)،چاهک شماره3: کنترل منفی،چاهک شماره4-7 : نمونه مثبت باند 408bp نشانه و جود ژن fimC می باشد،چاهک های8-9 : نمونه منفی

	طبیعی N(%)	بیماری التهابی روده بزرگ (%)N	سرطان کولورکتال N(%)	*p*-value
Age (mean years±SD)	52±2.8	37±9.9	64±5.6	
gender female male	 5 2	 7 8	 4 12	p= 0.05)) IBD vs. Normal &p=0.27 CRC Vs. Normal
Mean lose Weight*(kg± SD) lose Weight yes no	0 0* 7*(100)	4.5±11.3 7*(43.8) 9*(56.2)	8.3±0.7 10*(66.7) 5*(33.3)	(*p*= 0.04) IBD vs. Normal &*p*=0.004 CRC Vs. Normal
Smoking Yes No	1(14.3) (85.5)6	2(12.5) 14(87.5)	4*(26.6) 11*(73.3)	*p*= 0.79) IBD) vs. Normal &*p*=0.01CRC Vs. Normal
fimC gene Positive Negative	5(71.4) 2(28.5)	15(93.7) 1(6.3)	11(73.3) 4(26.7)	(*p*= 0.21) IBD vs. Normal &*p*=0.73 CRC Vs. Normal
*vat*1gene Positive Negative	3* (42.8) 4* (57.2)	14*(87.5) 2* (12.5)	14* (87.5) 1* (12.5)	*p*=0.04 IBD vs. Normal & *p*=0.02 CRC Vs. Normal

جدول ۲: اطلاعات دموگرافی نمونه های شرکت کننده در این مطالعه

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

	تعداد کل نمونه ها N(%)	افراد طبیعی N(%)	افراد مبتلا به بیماری التهابی روده بزرگ N(%)	افراد مبتلا به سرطان کولورکتال N(%)	P-value
ژن *fimC* +	31(81.5)	5(71.4)	15(93.7)	11(73.3)	(p= 0.21) IBD vs. Normal & p=0.73 CRC Vs. Normal
–	7(18.5)	2(28.5)	1(6.3)	4(26.7)	
ژن *vat*1 +	31(81.5)	3(42.8)	14* 78.5()	14* 78.5()	p=0.04 IBD vs. Normal & p=0.02 CRC Vs. Normal
–	7(18.5)	4(57.2)	2*(12.5)	1*(12.5)	

جدول۳: بررسی درصد فراوانی وجود ژن های مورد بررسی("+ "حضور ژن ویرولانس و" – "عدم حضور ژن ویرولانس)

بحث

برای اولین بار احتمال ایجاد سرطان توسط باکتری ها توسط Russel در سال ۱۸۹۰ مطرح شد و چند سال بعد ThomasGlover در سال ۱۹۲۶ اعلام کرد که به طور مداوم از بافت تومور دار باکتری خاصی جدا می شود (۳). بهترین مطالعه نشان دهنده ارتباط عفونت و سرطان، وجود هلیکو باکتر پیلوری [۱۲] است که در دو شکل از سرطان های گوارشی MALT لیمفوما و آدنوما کارسینومای گوارشی می باشد(۱۳). در سرطان کولون باکتری استرپتوکوکوس بویس [۱۳]و در سرطان ریه کلامیدیا پنومونیه [۱۴]و سویه هایی از بارتونلا[15] در تومور های عروق دیده شده است(۹،۱۱،۱۴). مطالعه Darfeuille و همکاران در سال ۲۰۰۴ بر روی بیماری کولون نشان داد که در این بیماری تعداد باکتری اشریشیاکولی در مخاط کولون و ایلئوم افزایش یافته است(۱۱). بدین صورت که اشریشیاکولی به ناحیه ایلئوم می چسبد و در شرایط *invio* به سلول های اپی تلیال حمله می کند. در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو یا بیماری کولون، احتمال خطر ابتلا به سرطان کولورکتال تا ۵ برابر افزایش می یابد. در مطالعه های انجام شده توسط RomanKotlowski و همکاران در سال ۲۰۰۶، بر روی بیماری های التهابی روده نشان داد که در بیماری کولیت اولسراتیو و کولون فراوانی بالایی از باکتری های اشریشیاکولی متعلق به گروه فیلوژنیB2 دیده شد که این گروه به علت فاکتور هایی هم چون خاصیت اتصال دارای اهمیت است(۱۸).

در سال ۲۰۰۷ توسط Rolhion و همکارانش افزایش باکتری اشریشیاکولی مرتبط با موکوس در بیماری های التهابی روده را گزارش کرد و هم چنین ارتباط آن ها در پاسخ به سیستم ایمنی را بررسی نمود(۵).

عوامل مختلفی در ایجاد این سرطان نقش دارند که یکی از آن ها، عفونت باکتریایی و توکسین های حاصله از آن ها است. یکی از اعضای میکروبیوتا دستگاه گوارش انسانی، اشریشیاکولی است که چند روز بعد از تولد در روده تشکیل کلنی می دهد و در سراسر زندگی میزبان در روده وجود دارد. برای القاء التهاب باکتری ها ممکن است به طور مستقیم سبب تخریب DNA به وسیله تولید ژن اکسیژناز می شود و این امر در انتروباکترها و سویه های باکتروئیدس به خوبی مشاهده شده است. تحقیقات نشان می دهد که برخی سویه های اشریشیاکولی می توانند باعث القاء ازدیاد نرخ جهش شوند. ایجاد عفونت در میزبان اشریشیاکولی توسط فاکتور های ویرولانس که به وسیله (virulence-associated genes) VAGs) کد شده است صورت می گیرد. دو ژن ویرولانس fimC، *vat*۱ در این ارگانیسم نقش مهمی را در پاتوژنیسیته باکتری دارد. هدف از این مطالعه، ارزیابی دو ژن ویرولانس نام برده در سویه های اشریشیاکولی جدا شده از نمونه های بیوپسی از بافت روده در سه گروه افراد طبیعی، افراد مبتلا به بیماری التهابی روده و مبتلا به سرطان کولورکتال بود. نتایجی را که در این بررسی کسب کردیم به خوبی رابطه این ژن های ویرولانس را با القا التهاب و القا ازدیاد نرخ جهش تایید می کند. نتایج این مطالعه نشان داد که بین گروه های بیماری التهابی روده بزرگ و س‌رطان کولورکتال و طبیعی شرکت کننده در این پروژه از لحاظ فاکتورهای کاهش وزن سرطان کولورکتال نسبت به طبیعی($p<0.05$) بیماری التهابی روده بزرگ نسبت به طبیعی ($p< 0.05$) و از لحاظ مصرف سیگار سرطان کولورکتال نسبت به طبیعی($p<0.05$) بیماری التهابی روده بزرگ نسبت به طبیعی ($p< 0.05$)اختلاف معناداری را نشان داد (جدول۲). هم چنین از نظر بررسی مولکولی، اختلاف معناداری بین گروه های مورد بررسی از لحاظ حضور ژن *vat*۱ وجود دارد. بدین ترتیب که در گروه مبتلایان به سرطان کولورکتال به طبیعی ($p = 0.02$) و در گروه بیماران مبتلا به بیماری التهابی روده بزرگ نسبت به طبیعی ($p = 0.04$) می باشد.

بررسی ها نشان داده است که توانایی اتصال به سطوح میزبان جزء اساسی ترین مراحل در کلونیزاسیون موفق پاتوژنه ی میکروبی می باشد. سویه های اشریشیاکولی دارای تعداد زیادی فیمبریه و ادهسین مثلP فیمبریه ،S فیمبریه و ادهسین های یک فیمبریال می باشد که به باکتری اجازه می دهد تا به طور موفقیت آمیزی عفونت را آغاز کند، بنابراین کلونیزاسیون سویه های باکتری اشریشیاکولی که واجد فیمبریه یا پیلی می باشند

12-Helicobacter pillori
13- Streptococcus bovis
14-Chlamydia pneumoniae
15-Bartonella

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

می تواند به پیشرفت سرطان روده بزرگ کمک کند که فراوانی بالای ژن ویرولانس *fimC* در سه گروه مورد مطالعه مبنی بر این نکته است. همان طوری که در نتایج آمده است، ۷۱/۴٪ گروه طبیعی ، ۹۳/۷٪ گروه التهابی روده بزرگ و ۷۳/۳٪ بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال از نظر ژن ویرولانس *fimC* مثبت هستند و از نظر آماری اختلاف معناداری بین سه گروه مورد مطالعه مشاهده نمی شود ($p>0.05$) (جدول۲).

نتایج این مطالعه در راستای نتایج سایر محققینی است که حضور ژن های ویرولانس را در گروه های مورد بررسی شامل افراد طبیعی، مبتلایان به بیماری التهابی روده و مبتلایان به سرطان کولورکتال تایید کرده اند. یکی از فاکتور ویرولانس مورد بررسی در این مطالعه، *vat1* بود که حضور این ژن با فراوانی ۴۲/۸٪ ، ۸۷/۵٪ و ۸۷/۵ ٪ به ترتیب در افراد گروه طبیعی ، مبتلایان به بیماری التهابی روده بزرگ و مبتلایان به سرطان کولورکتال مشاهده شد و از نظر آماری اختلاف معناداری بین این سه گروه مشاهده می شود (جدول۲). از میان مقالات زیر به موارد زیر اشاره می شود:

- علی ناظمی و همکاران، در سال ۲۰۰۰ به مطالعه و بررسی توزیع فراوانی ژن های کد کننده فیمبریه در باکتری اشریشیاکولی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری پرداختند و از ۲۰۰ سویه مورد بررسی برای ژن *fim*۱۸۸ (۹۴٪) نمونه مثبت گزارش شد و هم چنین نشان دادند که ژن*fim* و*pap* شایعترین ژن های کد کننده فیمبریه در اشریشیا کولی جدا شده از عفونت ادراری در شهر تهران می باشد(۲).
- جانسون وهمکاران، در سال ۲۰۰۸ به بررسی مولکولی، فیلوژنیکی و اپیدمیولوژی خوشه ی ژنیpks در اشریشیاکولی ، موفق به شناسایی جزیره ژنومیک با اندازه ۵۲Kbدر ناحیه ی ژنی[16]pks شدند. این جزیره ژنی اولین بار در سویه های آزمایشی (ExPEC)[17]مشاهده شد وامروزه درسویه هایB2 گروه های فیلوژنیک یافت شده است. بسیاری از سویه ها که منجر به عفونت های خارج روده ای مانند عفونت مجاری ادراری و سپتیسمی می شوند به سویه های B2 گروه های فیلوژنیک متعلق هستند و کلی باکتین نیز می تواند مانند یک فاکتور ویرولانس در این موارد عمل کند. ایشان در این مطالعه، موفق به بررسی فراوانی چند ژن ویرولانس در باکتریهای PKS مثبت شدند. ازمیان این ژن های ویرولانس، فراونی ژن*vat1* در ۱۳۱ نمونه باکتری جداشده از مدفوع و خون بیماران ۶۰٪ بود که تا حدودی با پژوهش ما هم خوانی دارد (۱۵).
- درمنش وهمکاران در سال ۲۰۱۳ به بررسی فاکتور های ویرولانس، تعیین سروگروپ ها و مقاومت اشریشیاکولی جدا شده از کودکان مبتلا به پیلونفریت و التهاب مثانه پرداختند. نتایج این بررسی نشان داد که فاکتور های ویرولانس *pap*، *sfa*، *hly* و *cnf1* بیش ترین حضور را در پیلونفریت داشتند در حالی که فاکتورهای ویرولانس *fim*،*pap*، *hly*،*sfa* بیش ترین حضور را در بیماری های التهاب مثانه داشتند. فراوانی ژن *fim*(۹۱/۹%) گزارش شد با نتایج این تحقیق بسیار نزدیک است (۱).
- پرهام و همکاران در سال ۲۰۰۵ فراوانی ژن *vat* را در سویه های اشریشیاکولی خارج روده ای (که از نمونه های خارج روده ای جدا شده بود) در پیلونفریت (۵۹/۳%)، در cystitis (۵۷/۹%)و در prostatitis (۷۲/۴%) گزارش کردند. نتایج ایشان تا حدودی به نتایج به دست آمده با تحقیق حاضر، ۸۲/۶% در بیماری التهابی روده و ۸۶/۲% در سرطان کولورکتال، نزدیک است(۲۲) .

نتیجه گیری

مطالعه های نشان می دهد که فاکتور های ویرولانس مختلفی به پاتوژنیسیته ی باکتری اشریشیاکولی نسبت داده می شود. آگاهی بهتر از خصوصیات ویرولانس ارگانیسم پاتوژن به پزشک امکان را می دهد که روند پیشرفت عفونت در میزبان و درمان مناسب آن را پیش گیری کند. در این تحقیق برای اولین بار در ایران بررسی ژن های ویرولانس سویه های باکتری اشریشیا کولی جدا شده از سرطان کولورکتال و بیماران مبتلا به التهاب روده بزرگ صورت گرفت، همان طورکه گفته شد حضور این ژن ها در فلور روده، می تواند عاملی مستعد کننده برای توسعه برخی سرطانها از جمله سرطان کولورکتال باشد. در این مطالعه وجود ژن ویرولانس *Vat1* در این باکتری ها با فراوانی معنی داری تایید شد. با دانستن نقش مهم و کلیدی این ژن ها در بیماری زایی سویه های ایجاد کننده در عفونت های روده و ایجاد التهاب و سرطان کولورکتال و با وجود هزینه های زیادی که هرساله برای درمان این نوع عفونت ها بر جامعه و خانواده تحمیل می شود می توان طراحی واکسن علیه این بیماری را پیشنهاد نمود. هم چنین نتایج این مطالعه اطلاعات جامعی را در ارتباط با اهمیت این ژن ها در آسیب شناسی عفونت روده ی بزرگ، و راهکارهای درمانی را در اختیار دست اندرکاران بهداشت و درمان قرار می دهد. امید است با ارتباط بهتر مراکز درمانی و بیماران و دانشگاه ها اهداف مطالعه هایی به سمت بهبود حال بیماران آینده قدم بگذارد.

16-polyketide synthase
17-Extra intestinal phathogenic *Escherchia coli*

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

سپاسگزاری

نویسندگان از همکاری صمیمانه جناب آقای دکتر کلهر و سرکار خانم فراهانی قدردانی می نمایند، هم چنین از متخصصین گوارش و جراحان بیمارستان شهید بهشتی و بیمارستان ولیعصر استان قم و نیز مسئولان محترم تومور بانک ایران واقع در بیمارستان امام خمینی تهران جهت همکاری ارزشمندشان در تهیه نمونه های بیوبسی از بیماران و افراد طبیعی، کمال تشکر را دارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

منابع

۱- درمنش ب، میرنژاد ر، خداوردی داریان الف، ممتاز ح، یاحقی ع، صفر پور دهکردی ف، پیله ورزاده م.بررسی فاکتورهای ویرولانس، تعیین سروگروپ ها و مقاومت پادزیستی سویه های اشریشیاکلی یوروپاتوژن جدا شده از کودکان مبتلا به پیلونفریت و التهاب مثانه. میکروب شناسی پزشکی ایران. ۱۳۹۲؛ ۲، ۲۷-۳۹

۲- ناظمی ع، نادری م، میری نرگسی م، شریفی ش. توزیع فراوانی ژن های کد کننده فیمبریه در اشریشیاکلی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری.علوم آزمایشگاهی. ۱۳۹۰؛ دوره ۴، ۲: ۳۱-۳۷.

1. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing Activity of the Microbiota. Science. 2012 October 5, 2012;338(6103):120-3.
2. Antunes LCM, McDonald JAK, Schroeter K, Carlucci C, Ferreira RBR, Wang M, Yurist-Doutsch S, Hira G, Jacobson K, Davies J, Allen-Vercoe E, Finlay B.B. . Antivirulence Activity of the Human Gut Metabolome.. 2014 Jul-Aug;5(4):e01183-14.
3. Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive Escherichia coli and Crohn's disease. Current Opinion in Gastroenterology. 2007;23(1):16-20. PubMed PMID: 00001574-200701000-00005
4. Blanco M, Blanco JE, Mora A, Blanco J. Distribution and characterization of faecalnecrotoxigenic Escherichia coli CNF1+ and CNF2+ isolated from healthy cows and calves. Veterinary Microbiology. 1998 1/16/;59(2–3):183-92.
5. Bielaszewska M, Fell M, Greune L, Prager R, Fruth A, Tschäpe H, Schmidt M.A, Karch H. Characterization of Cytolethal Distending Toxin Genes and Expression in Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Strains of Non-O157 Serogroups. Infection and Immunity, 2004 08/29/received.
6. Bonnet M, Buc E, Sauvanet P, Darcha C, Dubois D, Pereira B, Déchelotte P, Bonnet R, Pezet D, Darfeuille-Michaud A . Colonization of the human gut by E. coli and colorectal cancer risk.Clinical Cancer Research, 2014;20(4):859-67.
7. Brotherton CA, Balskus EP. A prodrug resistance mechanism is involved in colibactin biosynthesis and cytotoxicity. Journal of the American Chemical Society, 2013;135(9):3359-62.
8. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède J-P. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010;107(25):11537-42.
9. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser A-L, Barnich N, et al. High prevalence of adherent-invasive Escherichia coli associated with ileal mucosa in Crohn's disease. Gastroenterology, 2004;127(2):412-21.
10. Dautin N. Serine protease autotransporters of enterobacteriaceae (SPATEs): biogenesis and function. Toxins.2010;2(6):1179-206.
11. Guerra L, Guidi R, Frisan T. Do bacterial genotoxins contribute to chronic inflammation, genomic instability and tumor progression? Febs Journal, 2011;278(23):4577-88.
12. Homburg S, Oswald E, Hacker J, Dobrindt U. Expression analysis of the colibactin gene cluster coding for a novel polyketide in Escherichia coli, 2007-10-01 00:00:00. 255-62 p.
13. Johnson JR, Johnston B, Kuskowski MA, Nougayrede J-P, Oswald E. Molecular epidemiology

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

and phylogenetic distribution of the Escherichia coli pks genomic island. Journal of clinical microbiology, 2008;46(12):3906-11.

14. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic escherichia coli.Nature Reviews Microbiology. 2004;2(2):123-40.
15. Klemm P. FimC, a chaperone-like periplasmic protein of Escherichia coli involved in biogenesis of type 1 fimbriae. Research in microbiology, 1992;143(9):831-8.
16. Kotlowski R, Bernstein CN, Sepehri S, Krause DO. High prevalence of Escherichia coli belonging to the B2+ D phylogenetic group in inflammatory bowel disease.Gut, 2007;56(5):669-75.
17. Masignani V, Pizza M, Rappuoli R. Bacterial Toxins. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E, editors. The Prokaryotes: Springer New York, 2006. p. 893-955.
18. Moradi A, Khayamzadeh M, Guya MM, Mirzaei HR, Salmanian R, Rakhsha A, Akbari M. Survival of colorectal cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev, 2009;10(4):583-6.
19. Mulvey MA. Adhesion and entry of uropathogenic Escherichia coli.Cellular microbiology. 2002;4(5):257-71
20. Parham NJ, Pollard SJ, Desvaux M, Scott-Tucker A, Liu C, Fivian A, Henderson, I. Distribution of the serine protease autotransporters of the Enterobacteriaceae among extraintestinal clinical isolates of Escherichia coli.Journal of clinical microbiology, 2005;43(8):4076-82.
21. Pandey NK, Pal RK, Kashyap M, Bhavesh NS. Cloning, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of Escherichia coli PapD-like protein (EcpD). ActaCrystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications, 2012;68(8):954-7.
22. Parreira V, Gyles C. A novel pathogenicity island integrated adjacent to the thrWtRNA gene of avian pathogenic Escherichia coli encodes a vacuolatingautotransporter toxin. Infection and immunity, 2003;71(9):5087-96.
23. Pass M, Odedra R, Batt R. Multiplex PCRs for Identification of Escherichia coliVirulence Genes. Journal of clinical microbiology. 2000;38(5):2001-4.
24. Pellecchia M, Güntert P, Glockshuber R, Wüthrich K. Sequence-specific 1 H, 15 N and 13 C Assignments of the Periplasmic Chaperone FimC from Escherichia Coli. Journal of biomolecular NMR. 1998;11(2):229-30
25. Robinson CJ, Lee EL, Eribo BE, Ashktorab H, Brim H. Colon Cancer and IBD: Potential Links to Race, Microbiota, Issues. 2010.
26. Santo E, Macedo C, Marin JM. Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli from a University Hospital in RibeirãoPreto, São Paulo, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2006:185-8.
27. Situ BCI. Cancer Facts.American cancer society, 2015. http://www.cancer.org/research/cancerfactsstatistics/cancerfactsfigures2015
28. Söderhäll M. The importance of Escherichia coli fimbriae in urinary tract infection: Microbiologisktoch Tumör biologiskt Centrum (MTC)/Microbiology and Tumor Biology Center (MTC); 2001.
29. Tiba MR, Yano T, LeiteDdS. Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2008;50:255-60.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1395.6.24.13.2] [Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-09]