

بررسی فراوانی باکتریایی لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس و

فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در نمونه های بافت پارافینه پولیپ آدنوماتوز روده

محمدرضا اسرافیلی^۱، رضا شاپوری^۲، حبیب ضیغمی^۳، فخری حقی^۳

۱- دانشجوی دکتری تخصصی میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.. نویسنده مسئول: rezashapoury@yahoo.com

۳- استاد، گروه میکروبیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: میکروبیوتا مجموعه ای از میکروارگانیسم ها است که در حفره دهان، دستگاه تنفسی و روده موجودات چند سلولی زندگی می کند. میکروبیوتا اثرات فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی متعددی بر میزبانی که در آن زندگی می کند اعمال می کند. توجه فزآینده ای به تعامل میزبان و میکروبیوتا معطوف شده است. پولیپ های آدنوماتوز یکی از نشانه های رایج سرطان روده بزرگ، دومین علت اصلی مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان در نظر گرفته می شوند. مطالعه ما تلاش می کند تا رابطه بین باکتری های لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم را در نمونه های بافت پارافینه روده بیمارانی پولیپ آدنوماتوز و افراد سالم نشان دهد.

مواد و روش ها: در این مطالعه، جهت بررسی باکتری های ذکر شده در مجموع ۱۰۰ نمونه بافت پارافینه روده از بیمارانی پولیپ آدنوماتوز (۵۰ نفر) و شاهد سالم (۵۰ نفر) جهت حضور، تعداد کپی و کمیت نسبی گونه های باکتریایی فوق با استفاده از Real-time polymerase chain reaction (PCR)، در مقایسه با ژن مرجع مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: در نمونه های مورد مطالعه، حضور و تعداد کپی باکتری های انتروکوکوس فیکالیس در نمونه های پولیپ آدنوماتوز به طور معنی داری بیشتر از سه گروه دیگر بود. تفاوت معنی داری در جهت فراوانی و حضور گونه های فوزوباکتریوم نوکلئاتوم و لاکتوباسیلوس بین دو گروه مشاهده نشد. همچنین کاهش میانگین تعداد کپی و فراوانی نسبی جهت گونه باکتریایی بیفیدوباکتریوم در پولیپ آدنوماتوز نسبت به گروه شاهد به دست آمد.

نتیجه گیری: مطالعه ما تعداد بیشتری از باکتری انتروکوکوس فیکالیس و کاهش تعداد جهت گونه باکتریایی بیفیدوباکتریوم را در نمونه های بافت پارافینه روده بیمارانی مبتلا به پولیپ آدنوماتوز نسبت به گروه شاهد نشان داد. با این حال، هر گونه ارتباط بین دیس بیوز میکروبیوم روده و پولیپ آدنوماتوز ناشناخته باقی مانده است.

کلمات کلیدی: میکروبیوم، پولیپ آدنوماتوز، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس، فوزوباکتریوم نوکلئاتوم

مقدمه:

روده بزرگ انسان تقریباً از 10^{14} واحد کلنی تشکیل شده که حاوی ۱۵۰ گونه باکتری شایع می باشد. این باکتری ها باعث تخریب و هضم مختلف پلی ساکاریدها مانند پکتین گیاهی، سلولزی، همی سلولزی و نشاسته ها می شوند که یک ارتباط دو طرفه با میزبان خود دارند (۱). میکروبیوتای روده در انسان از دو شاخه اصلی باکتریوئید و فیرمیکوت تشکیل شده است (۲). در فلور روده دو نوع باکتری مفید و مضر وجود دارد. میکروبیوتای روده ای نقش های مختلفی از جمله سلامت روده، اصلاح سیستم ایمنی، متابولیسم دارو، تجزیه عوامل سرطان زا، تولید ویتامین، تخمیر، جذب الکترولیت و رشد سلول های اپیتلیال، جلوگیری از تجمع باکتری های بیماری زا مانند اشریشیا کلی و کلسترییدیوم در روده و جلوگیری از آلرژی را دارند (۳). همچنین دیس بیوزیس این باکتری ها با چاقی، دیابت نوع II، بیماری التهابی روده و سرطان روده بزرگ (Colorectal Cancer) همراه است (۴).

بسیاری از مطالعات ارتباط بین عفونتهای باکتریایی و ویروس ها را با سرطانهای ایجاد شده مورد تایید قرار داده اند، مانند ارتباط بین ویروس پاپیلوما ی انسانی و سرطان دهانه رحم (۵). به تازگی، افزایش برخی از میکروبیوتا روده های انسان مانند باکتری های انتروکوکوس فیکالیس، فوزوباکتریوم نوکلئاتوم، استرپتوکوکوس بوویس، باکترئیدس فراژیلیس توکسین زا، پورفیروموناس و همچنین کاهش برخی از میکروب ها، مانند باکتریهای روزوبوریا، اوباکتریوم، لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در آدنوم ها و ایجاد سرطان روده بزرگ شناسایی شده است (۶).

پولیپ روده یک بیماری شایع روده ای است که عمدتاً با توده های بیرون زده در سطح مخاطی روده ایجاد شده و بیشتر در افراد بالای ۴۰ سال رخ می دهد (۷). اگرچه پولیپ های روده به عنوان ضایعات خوش خیم در نظر گرفته می شوند اما انواع خاصی از آن مانند آدنوم ها می توانند به سرطان روده بزرگ تبدیل شوند (۸). مکانیسم های مولکولی که این تحول را هدایت می کنند، شامل جهش های سوماتیک و جهش های غیر سوماتیک هستند. جهش های که باعث غیرفعال کردن ژن پولیپوز کلی آدنوماتوز (APC) به عنوان عامل اصلی "توالی آدنوم-کارسینوم" در نظر گرفته می شود. از دست دادن عملکرد ژن پولیپوز کلی آدنوماتوز باعث تجمع β -کاتین می شود و در نتیجه با تکثیر سلول های نابجا منجر به تشکیل پولیپ آدنوماتوز می شود. تغییرات باکتریایی در پیدایش ضایعات پیش سرطانی از نوع پولیپ آدنوماتوز و همچنین در تجمع توالی ژن های "آدنوم-کارسینوم" نقش دارند (۹). آنتی ژن Fad A در فوزوباکتریوم نوکلئاتوم باعث فعال شدن سیگنالینگ Wnt/catenin که باعث آسیب به DNA و بی ثباتی کروموزومی می شوند، همچنین توکسین باکترئیدس فراژیلیس باعث افزایش سیگنالینگ هسته ای Wnt/catenin می شود (۱۰).

سرطان روده بزرگ سومین نوع شایع سرطان در مردان و دومین نوع سرطان در زنان و چهارمین علت مرگ و میر مرتبط با سرطان در جهان است (۱۱). مطالعات متعدد نشان داده است که رژیم غذایی نقش مهمی در ایجاد این بیماری دارد. رژیم های غذایی سرشار از گوشت چرب و چربی های اشباع شده خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ را افزایش می دهند (۱۲). در مقابل، رژیم های غذایی غنی از فلاونوئیدها و

پروبیوتیک ها در دستگاه گوارش نام برد که نقش مهمی در درمان بیماری گوارشی ایفا می کند (۱۸).

اکثر مطالعاتی که در ایجاد و بهبود پولپ آدنوماتوز و پیشرفت سرطان با دخالت باکتری صورت گرفته است، بر اساس نمونه‌های مدفوع بودند، در حالی که ترکیب میکروبیوتای روده در سطح مدفوع و مخاط متفاوت است (۱۹). بافت‌های پارافینه منابع بسیار ارزشمندی برای اهداف تشخیصی مولکولی هستند (۲۰). بنابراین، ما از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (qPCR) برای بررسی حضور و تعداد کپی لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در نمونه‌های بافت پارافینه روده بیماران مبتلا به پولپ آدنوماتوز و افراد سالم استفاده کردیم.

مواد و روش ها

مجموعه نمونه

این مطالعه موردی - شاهدهی مورد تایید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان (IR.IAU.Z.REC.1401.055) قرار گرفت. افراد سالم و افراد مبتلا به پولپ آدنوماتوز توسط متخصص گوارش و با استفاده از کولونوسکوپی تشخیص داده شدند. موارد مثبت با تست پاتولوژی تایید شد. در مجموع ۱۰۰ نمونه بافت پارافینه روده در قالب دو گروه ۵۰ نفری شامل افراد مبتلا به پولپ آدنوماتوز (۵۰ نفر) و افراد سالم (۵۰ نفر) از آرشیو بخش آسیب شناسی بیمارستان خانواده استان تهران جمع آوری شد. شرایط کولونوسکوپی، داشتن سابقه‌ی شخصی یا خانوادگی پولپ، سرطانهای روده‌ی بزرگ یا سرطان مرتبط، داشتن علائم بالینی هشدار دهنده مانند باریک شدن مدفوع، خونریزی از مقعد، کم خونی غیرمنتظره و یا سن بالای ۵۰

فیبر غذایی با بروز کمتر سرطان روده بزرگ مرتبط هستند (۱۳).

در یک مطالعه رابطه بین تغییر میکروبیوتای روده با جهش‌های ژن پولپوز کلی آدنوماتوز مورد بررسی قرار گرفت که نقش میکروبیوم روده را در تبدیل شدن پولپ‌های آدنوماتوز به سرطان روده بزرگ نشان داده شد. این مطالعات نشان می دهد که سطح پایین تری از فاسالیباکتریوم پارازیتسی، بیفیدوباکتریوم سودوکاتنولاتوم و رومینوکوکوس و سطوح بالاتر فوزوباکتریوم مورتیفروم در بیماران مبتلا به جهش ژن پولپوز کلی آدنوماتوز وجود دارد که با بروز بیشتر سرطان سرطان روده بزرگ مرتبط است (۱۴). همچنین شواهدی نشان می دهد بین روده، آدنوم روده، سرطان روده بزرگ و برخی گونه‌های خاص مانند فوزوباکتریوم نوکلئاتوم ارتباط وجود دارد (۱۵). بنابراین، تحقیقات بیشتری برای یافتن ارتباط بین باکتری های خاص و پولپ آدنوماتوز مورد نیاز است.

پروبیوتیک ها موجودات زنده ای هستند که با تأثیر بر فلور میکروبی میزبان بر سلامت آن تأثیر می گذارند. پروبیوتیک ها اغلب به فلور میکروبی روده انسان تعلق دارند. این باور در پروبیوتیک ها وجود دارد که فلور میکروبی روده دارای اثر محافظتی در برابر بیماری است. نقش محافظتی پروبیوتیک ها زمانی موثر است که به عنوان یک فلور میکروبی در درمان روده موثر باشد (۱۶). خانواده لاکتوباسیلاسه یکی از مهم ترین پروبیوتیک ها هستند. این خانواده از باسیل های میله ای گرم مثبت، کاتالاز منفی و غیر اسپور تشکیل شده است. اگرچه باکتری های زیادی وجود دارند که دارای خواص پروبیوتیکی هستند (۱۷)، اما می توان از لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم به عنوان رایج ترین

ساعت در دمای ۵۶ درجه سانتی گراد انکوبه شد. مراحل استخراج طبق دستورالعمل سازنده ادامه یافت. همچنین استخراج DNA از مقاطع پارافینی غیر حاوی بافت برای ارزیابی هرگونه آلودگی باکتریایی محیطی بلوک ها در طول تثبیت، جاسازی و پردازش انجام شد. غلظت و خلوص نمونه های DNA با استفاده از اسپکتروفتومتر (ND-1000 Nano-Drop Technologies, Wilmington, DE) به ترتیب در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰/۲۶۰ نانومتر تعیین شد. اندازه DNA با الکتروفورز ژل آگارز ۰/۱ درصد بررسی شد. نمونه های DNA برای تجزیه و تحلیل بیشتر در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند.

واکنش زنجیره ای پلیمرز کمی در زمان واقعی

(qPCR)

پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر از مقالات انتخاب شدند و ویژگی آنها توسط پرایمر BLAST ([https:// blast. ncbi. nlm. nih. gov/ Blast. cgi](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)) (جدول ۱) تأیید شد. یک توالی حفظ شده موجود در همه باکتری ها (پرایمر Universal) نیز به عنوان کنترل داخلی در Real-time polymerase chain reaction (PCR) معمولی جهت بررسی ویژگی DNA ها انجام شد و DNA ها با استفاده از ژل الکتروفورز آگارز جهت باند خاصی از محصولات آنالیز شدند. پس از انجام PCR از Real-time استفاده شد. علاوه بر این، PCR معمولی برای ارزیابی آلودگی مقاطع پارافینی غیر بافتی توسط پرایمر Universal استفاده شد.

سال که به صورت داوطلبانه، رضایت خود را جهت کولونوسکوپی اعلام کردند بود. لازم به یادآوری است که هیچکدام از بیماران سابقه جراحی روده را نداشتند.

گروه کنترل به دلایل مختلف تحت کولونوسکوپی قرار گرفتند و همه آنها سرپایی بودند. در گروه شاهد بیماری گوارشی گزارش نشد و مخاط روده طبیعی تأیید شد. هیچ یک از افراد مبتلا به پولیپ ادنوماتوز یا افراد شاهد، شیمی درمانی یا پرتودرمانی قبل از کولونوسکوپی، سابقه قبلی سایر بیماری های گوارشی و درمان آنتی بیوتیکی در یک ماه گذشته نداشتند. بخش هایی به ضخامت ۱۰ میکرومتر از نمونه های بافت پارافینه روده با استفاده از میکروتوم استاندارد با تیغه های یکبار مصرف تهیه و به آزمایشگاه میکروبیولوژی پزشکی منتقل شدند. سپس بافت های طبیعی و پولیپ آدنوماتوز با استفاده از چاقوی جراحی استریل برای استخراج DNA تشریح شد. تکمیل پرسشنامه شامل جنسیت، سن، سابقه خانوادگی سرطان، مصرف سیگار، نوع پولیپ و محل پولیپ بر اساس سوابق پزشکی بیماران انجام گرفت.

استخراج DNA

DNA ژنومی نمونه های بافت پارافینه روده مورد مطالعه با استفاده از کیت GeneAll (GeneAll, Biotechnology, Songpa-gu, Seoul, SouthKorea) جهت استخراج DNA استفاده شد. سه برش به ضخامت ۱۰ میکرومتر از نمونه های بافت پارافینه بریده شد و پس از پارافین زدایی، نمونه ها در ۱۸۰ میکرولیتر لیزوزیم (۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) به مدت ۴۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس ۲۰ میکرولیتر محلول پروتئیناز K (۲۰ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد و به مدت ۱

که حجم کلی را با آب مقطر دوبار تقطیر به ۲۰ میکرولیتر افزایش دادیم. دستگاه مورد استفاده PCR Real-Time StepOnePlus Biosystems Applied) Biosystems) بود و برنامه PCR Real-Time به صورت ۴۰ سیکل تعریف شد که شامل دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه، به دنبال آن ۴۰ چرخه denaturation در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، annealing در دمای ۶۰-۵۷ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، و extension در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۳۰ ثانیه بود. از منحنی ذوب برای بررسی وجود دایمر پرایمر استفاده گردید. کمیت نسبی نیز با استفاده از روش $2^{-\Delta Ct}$ تعیین شد و به صورت اختلاف برابری نسبی در مقایسه با ژن مرجع (S۱۶ ریبوزومی RNA) حفظ شده در بین همه باکتری ها بیان شد.

منحنی استاندارد برای هر کدام از باکتریهای کاندید با هشت غلظت مختلف به صورت دوپلیکیت ترسیم شد که DNA آن ها

از سویه های استاندارد لاکتوباسیلوس ، بیفیدوباکتریوم ، اتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم به دست آمده بودند.

طبق منحنی های استاندارد، برای نمونه های مورد مطالعه که سیگنال فلورسنت زودتر از Ct 35 داشتند منفی در نظر گرفته شدند.

اجزای واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر Real Q Plus 2x Master Mix Green High (ROX(Ampliqon,Denmark)، ۰.۴ میکرومولار از هر جفت پرایمر خاص و ۳۰ نانوگرم DNA استخراج شده بود

جدول ۱. پرایمرهای استفاده شده در این مطالعه

Bacterial pathogens	Target Gene	Primer sequence (5-3)	Amplicon (bp)	Ref
Universal	16 s ribosomal RNA	AAACTCAAATGAATTGACGG CTCATTACGAGCTGAC	180	(۱۹)
Fusobacterium spp	16 s ribosomal RNA	CCCAAGCAAACGCGATAAGT GCGTTGCGTCGAATTAACC	117	(۱۹)
Lactobacillus spp	16 s ribosomal RNA	TGGAACAGRTGCTAATACCG GTCCATTGTGGAAGATTCCC	233	(۲۱)
Bifidobacterium spp	16 s ribosomal RNA	GGGTGGTAATGCCGGATG CCACCGTTACACCGGGAA	520	(۲۲)
E. faecalis	16 s ribosomal RNA	CCCTATTGTTAGTTGCCATCATT ACTCGTTGACTTCCCATTGT	144	(۲۳)

داده ها بین دو گروه از آزمون U Mann-Whitney و آزمون دقیق فیشر استفاده شد. مقدار P value <0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

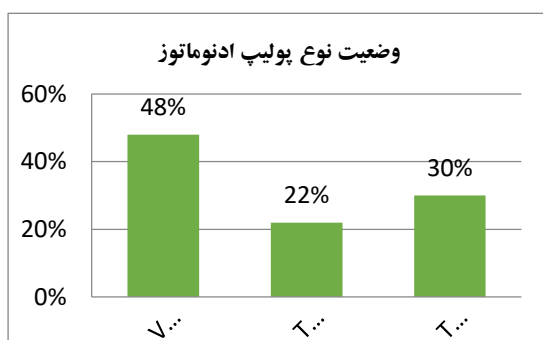
نتایج

تحلیل آماری

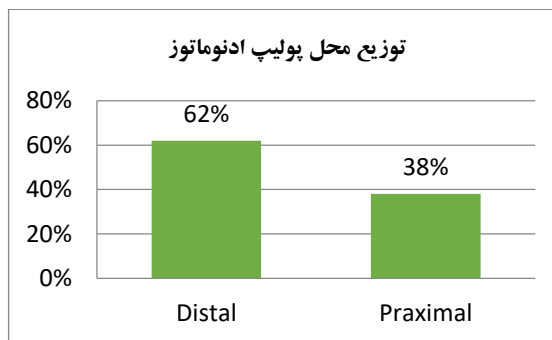
تمامی داده های توصیفی در (SPSS software . (version 23 (IBM SPSS, Amrmonk. NK. USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میانگین ، انحراف معیار و در صد فراوانی متغیرها قطعی تعیین شد. برای تجزیه و تحلیل

Villus (۴۸٪) بودند، در حالی که نوع Tubular و Tubular-Villus به ترتیب ۲۲ و ۳۰٪ بودند. در بیماران پولیپ آدنوماتوز، ۶۲ درصد پولیپ ها در کولون دیستال و ۳۸ درصد در کولون پروگزیمال قرار داشتند (نمودار (۱)). کولون دیستال شامل کولون نزولی و کولون سیگموئید می باشد و کولون پروگزیمال شامل سکوم، کولون صعودی و کولون عرضی است.

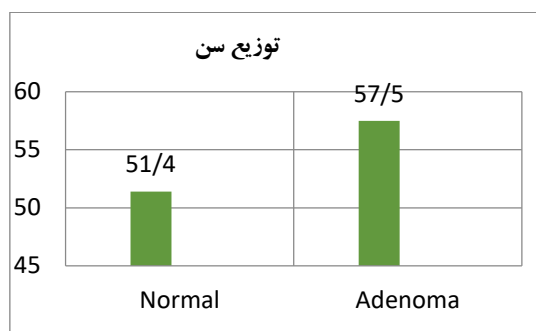
مشخصات بالینی پاتولوژیک بیماران در جدول ۲ نشان داده شده است. به طور خلاصه، در مجموع ۵۰ نمونه بافت پارافینه از بیماران پولیپ آدنوماتوز (۲۷ مرد و ۲۳ زن) و ۵۰ مورد از افراد کنترل سالم (۳۸ مرد و ۱۲ زن) مورد بررسی قرار گرفت. میانگین سنی بیماران پولیپ آدنوماتوز ۵۷/۵۴ سال (محدوده ۲۱-۸۱ سال) و برای افراد سالم ۵۱/۴۰ سال (محدوده ۲۴-۷۷) بود. اکثر بیماران پولیپ آدنوماتوز از نوع



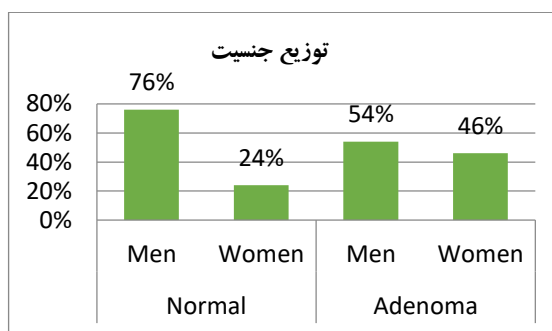
نمودار B



نمودار A



نمودار D



نمودار C

نمودار (۱). وضعیت توزیع محل پولیپ آدنوماتوز در بیماران (نمودار A). وضعیت نوع پولیپ آدنوماتوز در بیماران (نمودار B). وضعیت توزیع جنسیت بیماران در دو گروه پولیپ آدنوماتوز و سالم (نمودار C). وضعیت توزیع سن مردان و زنان در دو گروه پولیپ آدنوماتوز و سالم براساس جنس (نمودار D).

های پولیپ آدنوماتوز نسبت به گروه شاهد دارای تفاوت معنی داری بود ($P < 0/05$). میانگین $\text{Log copies DNA ml}^{-1}$ برای بیفیدوباکتریوم و انتروکوکوس فیکالیس به ترتیب ۵/۷ و ۵/۹ برای نمونه های پولیپ آدنوماتوز و گروه کنترل بود. غلظت انتروکوکوس فیکالیس در بیماران پولیپ آدنوماتوز نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ($P \geq 0/05$). حضور بیفیدوباکتریوم و انتروکوکوس فیکالیس هنگام طبقه بندی نمونه های پولیپ آدنوماتوز بر اساس شکل و محل پولیپ آدنوماتوز قابل مقایسه نبود. همچنین حضور فوزوباکتریوم نوکلئاتوم و لاکتوباسیلوس در افراد دارای پولیپ آدنوماتوز نسبت به افراد سالم دارای تفاوت معنی داری نبود ($P \geq 0/05$) بر اساس نتایج، تفاوت معنی داری جهت کمیت نسبی باکتری فوزوباکتریوم نوکلئاتوم بین دو گروه مشاهده نشد

ژن ریبوزومی S RNA ۱۶در مقاطع پارافینی غیر حاوی بافت شناسایی نشد. برای تعیین اینکه آیا پولیپ آدنوماتوز با لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم مرتبط است، از qPCR برای مقایسه فراوانی و کمیت باکتری در پولیپ آدنوماتوز و بافت طبیعی روده استفاده کردیم. مقادیر Log^{10} [میانگین \pm انحراف استاندارد (SD)] تعداد کپی DNA برای هر باکتری محاسبه شد. تعداد نمونه های مثبت و تعداد کپی هر باکتری در بافت های طبیعی و پولیپ آدنوماتوز در جدول ۳ ارائه شده است. کمیت نسبی نیز با روش $2^{-\Delta Ct}$ تعیین شد و در جدول ۴ نشان داده شده است.

انتروکوکوس فیکالیس در ۹۸ درصد از نمونه های پولیپ آدنوماتوز و بیفیدوباکتریوم در ۳۸ درصد موارد تشخیص داده شد. حضور بیفیدوباکتریوم و انتروکوکوس فیکالیس در نمونه

جدول ۲. متغیرهای مورد بررسی در دو گروه مبتلا پولیپ آدنوماتوز و سالم

متغیرها	پولیپ آدنوماتوز (تعداد=۵۰)	سالم (تعداد=۵۰)
زن (%)	27 (54%)	38 (76%)
مرد (%)	23 (46%)	12 (24%)
سن، میانگین (انحراف معیار) (سال)	57.5±13.6	51.4±14.4
سابقه فامیلی پولیپ آدنوماتوز (%)	10 (20%)	7 (14%)
سیگار (%)	10(20%)	4 (8%)
مصرف الکل (%)	62%	8(16%)
محل پولیپ آدنوماتوز (%)	38%	-
Distal Colon	48%	-
Praximal Colon	30%	-
نوع پولیپ آدنوماتوز (%)	22%	-

بحث

پولیپ آدنوماتوز از دیرباز به عنوان پیش سازهای سرطان روده بزرگ شناخته شده اند. سرطان روده بزرگ یکی از شایع ترین سرطان های تشخیص داده شده در سراسر جهان و در نتیجه یکی از علل عمده مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته است (۲۴). از آنجایی که مطالعات مربوط به میکروبیوتای روده و انواع پولیپ های روده بزرگ نادر بوده و عادات قومیتی، غذایی و فرهنگی متفاوتی در آسیا و خاورمیانه وجود دارد، سعی شد ارتباط بین باکتری های موثر و انواع پولیپ های روده بزرگ در ایران بررسی شود. در واقع، ارتباط بین میکروبیوتای روده و سرطان روده بزرگ قبلاً در چندین مطالعه گزارش شده است (۲۵، ۲۶). با این حال، ارتباط آن با پیش سازهای اولیه مختلف سرطان روده بزرگ به خوبی درک نشده است (۲۷). بنابراین، برای درک بهتر این ارتباط، از Real-time PCR برای بررسی وجود و تعداد تکثیر لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، ایتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در نمونه های بافت پارافینه روده بیماران پولیپ آدنوماتوز و افراد سالم در ایران استفاده کردیم. با توجه به نتایج ما، فراوانی نسبی و تعداد تکثیر ایتروکوکوس فیکالیس و بیفیدوباکتریوم در نمونه های پولیپ آدنوماتوز نسبت به گروه کنترل دارای اختلاف معنی داری بود. در مطالعه خود، از ژن RNA ریبوزومی ۱۶ به عنوان کنترل داخلی استفاده کردیم.

ایتروکوکوس فیکالیس به عنوان یکی از رایج ترین کوکسی های گرم مثبت در مدفوع انسان، سوپراکسید خارج سلولی، پراکسید هیدروژن و رادیکال های هیدروکسیل تولید می کند که باعث آسیب DNA در سلول های پستانداران و بی ثباتی کروموزومی می شود که منجر به پولیپ روده و سرطان روده بزرگ می شود (۲۸).

یکی از نتایج مطالعه حاضر که با روش Real-time PCR بر روی نمونه های بیوسی انجام شد، تعداد باکتر های ایتروکوکوس فیکالیس در بیماران مبتلا به پولیپ آدنوماتوز بیشتر از افراد سالم بود. همچنین تفاوت معنی داری در تعداد باکتر های ایتروکوکوس فیکالیس بین بیماران پولیپ آدنوماتوز وجود داشت ($P < 0.05$). مطابق با نتایج ما، Balamurugan و همکاران (۲۰۰۸) سطح بالاتری از ایتروکوکوس فیکالیس را در مدفوع بیماران سرطان روده بزرگ در مقایسه با داوطلبان سالم نشان داد. بر اساس نتایج آنها، جمعیت اوباکتریوم رکتال و فاکاباکتریوم پارازینیزی در بیماران سرطان روده بزرگ در مقایسه با گروه سالم تقریباً چهار برابر کاهش یافت. این تغییرات در جمعیت باکتریایی در روده می تواند به طور بالقوه منجر به آسیب سلول های اپیتلیال و افزایش گردش خون شود و ممکن است عامل بروز سرطان روده بزرگ باشد (۲۹). همچنین ضیغمی و همکاران (۲۰۲۱) غلظت بیشتری از ایتروکوکوس فیکالیس و باکترئیدس فراژیلیس توکسین زا را در نمونه های بافت پارافینه بیماران سرطان روده بزرگ نسبت به گروه شاهد نشان داد (۳۰).

برخلاف مطالعات قبلی (۳۱، ۳۲)، ما تفاوتی در فراوانی فوزوباکتریوم بین بیماران پولیپ آدنوماتوز و گروه شاهد مشاهده نکردیم. علاوه بر این، Bundgaard-Nielsen و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که فراوانی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در سرطان روده و بافت طبیعی دارای تفاوت معنی داری نبود (۲۰). در ایران، تحقیقات برای تعیین نقش فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در پولیپ آدنوماتوز وجود ندارد. برخلاف مشاهدات ما، کاشانی و همکاران. گزارش داد که در ایران ۶۸٪ (۳۵/۲۴) و ۲۴٪ (۴۵/۱۱) از بیماران سرطان روده بزرگ و افراد سالم به ترتیب توسط فوزوباکتریوم نوکلئاتوم

شود که از روش های استاندارد برای تشخیص حضور فوزوباکتریوم نوکلئاتوم استفاده شود.

میکروبیوتای روده در انسان از دو شاخه اصلی باکتریوئید و فیرمیکوت تشکیل شده است (۲). در فلور روده دو نوع باکتری مفید و مضر وجود دارد. میکروبیوتای روده ای نقش های مختلفی از جمله سلامت روده، اصلاح سیستم ایمنی، تجزیه عوامل سرطان زا، تولید ویتامین، جذب الکترولیت و رشد سلول های اپیتلیال و جلوگیری از تجمع باکتری های بیماری زا مانند /شیرشیا کلی و کلاستریدیوم در روده را دارند (۳). باکتری های اسید لاکتیک ((Lactic acid (LAB bacteria)، مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم، نیز اعضای میکروبیوم روده هستند (۳۷). برخی از متابولیت های ترشح شده توسط باکتری های اسید لاکتیک دارای خواص ضد باکتریایی هستند، به عنوان مثال، باکتریوسین این متابولیت ها ممکن است جایگزین های مناسبی برای آنتی بیوتیک ها باشند (۳۸). در سال های اخیر، کاربردهای باکتری های اسید لاکتیک در زمینه پیشگیری از سرطان، به ویژه برای سرطان روده بزرگ گسترش یافته است. گزارش های قبلی نشان داده اند که برخی از باکتری های اسید لاکتیک، از جمله لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پاراکازایی، لاکتوباسیلوس پلانٹاروم و لاکتوباسیلوس روتری، می توانند رشد سلول های سرطانی را مهار کنند (۳۹). به تازگی کاهش برخی از میکروب ها، مانند باکتری های روزوبوریا، اوباکتریوم، لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در بدخیمی ها و بیماری های سرطان روده بزرگ شناسایی شده است (۶). همچنین نشان داده شده است که پروبیوتیک ها در روده بزرگ موش باعث القای آنزیم محافظ گلوکوتایون ترانسفراز II می شوند. این عوامل باعث کاهش بار مواد ژنوتوکسیک در

کلونیزه شدند (۳۳). گزارش کمی دیگر در ایران با سنجش SYBR Real-time PCR و بر روی نمونه های مدفوع، شیوع بیشتر فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در پولیپ آدنومانوز از نوع Tubolar و Tubolar-Villus را نسبت به نمونه های عادی گزارش کردند (۳۴).

فراوانی بیشتری از فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در بیماران پولیپ آدنوماتوز در این مطالعه در مقایسه با مطالعه ما ممکن است به دلیل تفاوت های فنی بین PCR ساده و Real-time PCR باشد. به طور مداوم، مطالعات مختلف تحقیقاتی ارتباط مثبتی بین فوزوباکتریوم نوکلئاتوم و سرطان گزارش کرده اند. با این حال، فراوانی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در بیماران سرطان روده بزرگ بین ۱۳ تا ۸۷ درصد در کشورهای مختلف متفاوت بود (۳۱،۳۲،۳۵). به گفته شریعتی و همکاران. (۲۰۲۱) و کاشانی و همکاران. (۲۰۲۰) فراوانی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در بافت های سرطان روده بزرگ (به ترتیب ۲۳٪ و ۶۸٪) در مقایسه با مخاط طبیعی مجاور بود (۳۵).

با توجه به اینکه میکروبیوم روده می تواند از فردی به فرد دیگر متفاوت باشد، برخی از عوامل مانند وزن، شاخص توده بدنی، رژیم غذایی و موقعیت جغرافیایی ممکن است نقش فعالی در ایجاد این تنوع داشته باشند. علاوه بر این، استفاده از تکنیک های مختلف تشخیص مانند روش های مختلف Real-time PCR ، Fluorescence In Situ ، Hybridization (FISH) و آنتی بادی های اختصاصی - تشخیصی (detection-specific antibodies)، همچنین استفاده از نمونه های متنوع مانند بافت های پارافینه، بافت های منجمد تازه و مدفوع می تواند در ناهماهنگی گزارش ها اثر گذار باشد (۳۶).

بنابراین، تا زمانی که ممکن است در مطالعات مختلف تحقیقاتی مثبت یا منفی کاذب گزارش شود، اکیداً توصیه می

بزرگ تجویز کنند. افراد مسن احتمالاً می توانند با استفاده از پروبیوتیک ها در رژیم غذایی خود از ایجاد پولپ یا پیشرفت آنها به سمت بدخیمی جلوگیری کنند.

مطالعه ما نیز محدودیت های متعددی دارد. یکی از محدودیت ها، تعداد کم نمونه های وارد شده و استفاده از نمونه های بافت پارافینه روده بزرگ بود. از آنجایی که تثبیت بافت در فرمالین باعث ایجاد پیوند متقابل پروتئین بافت با DNA می شود، می تواند از تکثیر DNA جلوگیری کند. همچنین، تکه تکه شدن DNA ممکن است در بافت پارافینه رخ دهد، که ممکن است توانایی ما را برای شناسایی باکتری ها محدود کند (۴۳). از آنجایی که تمام نمونه های بافت پارافینه روده بزرگ به طور مشابه مورد استفاده قرار گرفتند، انتظار نداریم تثبیت فرمالین بر تفاوت های مشاهده شده در بار باکتریایی و شیوع بین تشخیص ها تأثیر بگذارد. از سوی دیگر، ما تمرکز خاصی روی گونه های باکتریایی لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، انتروکوکوس فیکالیس و فوزوباکتریوم نوکلنا توم داشتیم. مطالعات بیشتر برای بررسی نقش بالقوه سایر گونه های باکتریایی مانند اشریشیا کلی، کلاستریدوم سیتیکوم، روزوبوریا، یوباکتریوم و آسیتوباکتر در پولپ آدنوماتوز مورد نیاز است.

نتیجه گیری

مطالعه ما تعداد بیشتری از انتروکوکوس فیکالیس را در نمونه های بافت پارافینه روده بزرگ بیماران مبتلا به پولپ آدنوماتوز نسبت به گروه شاهد نشان داد. همچنین کاهش میانگین تعداد و فراوانی نسبی جهت گونه باکتریایی بیفیدوباکتریوم در پولپ آدنوماتوز نسبت به گروه سالم به دست آمد. در حالی که تعداد کمی، حضور و میانگین CT

روده و همچنین افزایش تولید عواملی می شود که ترکیبات سمی را از کار می اندازند، به عنوان مثال بوتیرات یکی از این عوامل محافظتی است که تکثیر سلول های سرطانی را کند می کند (۴۰).

در مطالعه ما کاهش تعداد و فراوانی نسبی در نمونه های بافت پارافینه برای گونه باکتریایی بیفیدوباکتریوم در پولپ آدنوماتوز نسبت به گروه سالم به دست آمد. که با یافته های پیترز و همکاران در سال ۲۰۱۶، (۲۸). که گزارش دادند ترکیب و تنوع میکروبیوتای روده در گروه پولپ آدنوماتوز در مقایسه با گروه کنترل کاهش پیدا کرده است همخوانی داشت. در واقع، گونه بیفیدوباکتریوم به عنوان باکتری های تولید کننده اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه به ویژه بوتیرات با سلامت روده بزرگ در ارتباط هستند. کاهش فراوانی باکتری های تولید کننده بوتیرات در روده، ممکن است منجر به رشد آدنوم شود (۴۱). همچنین مشاهده شد که کاهش فراوانی بیفیدوباکتریوم ها با خطر ابتلا به پولپ روده بزرگ مرتبط است (۴۲).

در این مطالعه تفاوت معنی داری ($P \geq 0.05$) در تعداد و فراوانی نسبی برای گونه باکتریایی لاکتوباسیلوس مشاهده نشد. دلایل مختلفی وجود دارد، به عنوان مثال لاکتوباسیلوس ها یکی از مهم ترین و شایع ترین فلور روده بزرگ هستند و ممکن است سریعتر از تغییرات شرایط روده تحت تأثیر پولپ و سرطان روده بزرگ تغییر کند.

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و همچنین استفاده از نتایج مطالعات قبلی، می توان نتیجه گرفت که پس از تشخیص پولپ های آدنوماتوز، پزشکان می توانند پروبیوتیک هایی را برای درمان یا پیشگیری از سرطان روده

گرفت. نویسندگانی که تمام پروتکل آزمایش را برای درگیر کردن داده‌های انسانی تأیید می‌کنند، مطابق با دستورالعمل‌های مؤسسه یا اعلامیه هلسینکی در نسخه خطی بود. در این مطالعه از نمونه‌های بایگانی و تأیید شده استفاده شد و نمونه جدیدی از بیماران گرفته نشد. در مطالعه قبلی، رضایت آگاهانه شفاهی از کلیه شرکت کنندگان اخذ شد و مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه اسلامی واحد زنجان (IR.IAU.Z.REC.1401.055) قرار گرفت.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که هیچ تعارضی در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *science*. 2005 Mar 25;307(5717):1915-20.
2. Cukrowska B, Sowińska A, Bierła JB, Czarnowska E, Rybak A, Grzybowska-Chlebowczyk U. Intestinal epithelium, intraepithelial lymphocytes and the gut microbiota-Key players in the pathogenesis of celiac disease. *World journal of gastroenterology*. 2017 Nov 11;23(42):7505..
3. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr*. 2002;22:283-307.

باکتری‌های لاکتوباسیلوس و فوزوباکتریوم نسبت به گروه شاهد بی معنی بود. با این حال، تحقیقات بیشتری بر روی نمونه‌های بافت روده و مدفوع تازه برای اثبات این ارتباط مورد نیاز است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کارکنان بخش آسیب شناسی بیمارستان خانواده تهران. ایران برای حمایت از این مطالعه قدردانی می‌کنند.

تمام داده‌های تولید یا تجزیه و تحلیل شده در طول این مطالعه در دست نوشته گنجانده شده است.

این مطالعه مورد تأیید کمیته اخلاق پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان (IR.IAU.Z.REC.1401.055) قرار

4. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Human gut microbes associated with obesity. *nature*. 2006 Dec 21;444(7122):1022-3.
5. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007; 370:890-907. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61416-0.
6. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, Amiot A, Böhm J, Brunetti F, Habermann N, Herczeg R. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Molecular systems biology*. 2014 Nov;10(11):766.

7. Øines M, Helsing LM, Bretthauer M, Emilsson L. Epidemiology and risk factors of colorectal polyps. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2017 Aug 1;31(4):419-24.
8. Pan J, Cen L, Xu L, Miao M, Li Y, Yu C, Shen Z. Prevalence and risk factors for colorectal polyps in a Chinese population: a retrospective study. *Scientific Reports*. 2020 Apr 24;10(1):6974.-
9. Thursby, E.; Juge, N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem. J*. 2017, 474, 1823–1836.
10. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *nature*. 2010 Mar 4;464(7285):59-65..
11. Ferlay, J.; Steliarova-Foucher, E.; Lortet-Tieulent, J.; Rosso, S.; Coebergh, J.; Comber, H.; Forman, D.; Bray, F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur. J. Cancer* 2013, 49, 1374–1403.
12. Larsson, S.C.; Wolk, A. Meat consumption and risk of colorectal cancer: A meta-analysis of prospective studies. *Int. J. Cancer* 2006, 119, 2657–2664.
13. Dahm, C.C.; Keogh, R.H.; Spencer, E.A.; Greenwood, D.C.; Key, T.J.; Fentiman, I.S.; Shipley, M.J.; Brunner, E.J.; Cade, J.E.; Burley, V.J.; et al. Dietary Fiber and Colorectal Cancer Risk: A Nested Case-Control Study Using Food Diaries. *J. Natl. Cancer Inst*. 2010, 102, 614–626.
14. Liang, S.Y.; Mao, Y.; Liao, M.; Xu, Y.S.; Chen, Y.C.; Huang, X.L.; Wei, C.Y.; Wu, C.T.; Wang, Q.Y.; Pan, X.Y.; et al. Gut microbiome associated with APC gene mutation in patients with intestinal adenomatous polyps. *Int. J. Biol. Sci*. 2020, 16, 135–146.
15. Nosh, K.; Sukawa, Y.; Adachi, Y.; Ito, M.; Mitsuhashi, K.; Kurihara, H.; Kanno, S.; Yamamoto, I.; Ishigami, K.; Igarashi, H.; et al. Association of *Fusobacterium nucleatum* with immunity and molecular alterations in colorectal cancer. *World J. Gastroenterol*. 2016, 22, 557.
16. Stanton C, Gardiner G, Meehan H, Collins K, Fitzgerald G, Lynch PB, et al. Market potential for probiotics. *Am J Clin Nutr*. 2001;73(Suppl 2):476S-83S.
17. De Roos NM, Katan MB. Effects of probiotic bacteria on diarrhea, lipid metabolism, and carcinogenesis: a review of papers published between 1988 and 1998. *The American journal of clinical nutrition*. 2000 Feb 1;71(2):405-11..
18. Russo F, Linsalata M, Orlando A. Probiotics against neoplastic transformation of gastric mucosa: effects on cell proliferation and polyamine metabolism. *World J Gastroenterol*. 2014;20:13258-72.
19. Bundgaard-Nielsen C, Baandrup UT, Nielsen LP, Sorensen S. The presence of bacteria varies between colorectal adenocarcinomas, precursor lesions and non-malignant tissue. *BMC Cancer*. 2019;19(1):399
20. Huijsmans CJ, Damen J, van der Linden JC, Savelkoul PH, Hermans MH. Comparative analysis of four methods to extract DNA from paraffin-embedded tissues: effect on downstream molecular applications. *BMC research notes*. 2010 Dec;3:1-9.

21. Jukes TH, Cantor CR. Evolution of protein molecules. *Mammalian protein metabolism*. 1969;3(24):21-132.
22. -Ritchie LE, Steiner JM, Suchodolski JS. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS microbiology ecology*. 2008 Dec 1;66(3):590-8.
23. Cannon K, Byrne B, Happe J, Wu K, Ward L, Chesnel L, et al. Enteric microbiome profiles during a randomized phase 2 clinical trial of surotomycin versus vancomycin for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(12):3453–61.
24. Grady WM, Markowitz SD. The molecular pathogenesis of colorectal cancer and its potential application to colorectal cancer screening. *Digestive diseases and sciences*. 2015 Mar;60:762-72.
25. Zeller G, Tap J, Voigt AY, Sunagawa S, Kultima JR, Costea PI, Amiot A, Böhm J, Brunetti F, Habermann N, Hercog R. Potential of fecal microbiota for early-stage detection of colorectal cancer. *Molecular systems biology*. 2014 Nov;10(11):766.
26. Rezasoltani S, Asadzadeh-Aghdai H, Nazemalhosseini-Mojarad E, Dabiri H, Ghanbari R, Zali MR. Gut microbiota, epigenetic modification and colorectal cancer. *Iranian journal of microbiology*. 2017 Apr;9(2):55.
27. Peters BA, Dominianni C, Shapiro JA, Church TR, Wu J, Miller G, Yuen E, Freiman H, Lustbader I, Salik J, Friedlander C. The gut microbiota in conventional and serrated precursors of colorectal cancer. *Microbiome*. 2016 Dec;4:1-4.
28. Balamurugan R, Rajendiran E, George S, Samuel GV, Ramakrishna BS. Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, *Desulfovibrio* and *enterococcus faecalis* in the feces of patients with colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23(8 Pt1):1298–303.
29. Niya MHK, Basi A, Koochak A, Tameshkel FS, Rakhshani N, Zamani F, et al. Sensitive high-resolution melting analysis for screening of KRAS and BRAF mutations in Iranian human metastatic colorectal cancers. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2016;17:5147.
30. Zeighami H, Khodaverdi N, Jalilvand A, Haghi F. High frequency of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Enterococcus faecalis* in the paraffin-embedded tissues of Iranian colorectal cancer patients. *J BMC Cancer* (2021) 21:1353.
31. Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between *Fusobacterium* spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119462.
32. Zhou Y, He H, Xu H, Li Y, Li Z, Du Y, He J, Zhou Y, Wang H, Nie Y. Association of oncogenic bacteria with colorectal cancer in South China. *Oncotarget*. 2016 Dec 12;7(49):80794.
33. Kashani N, Abadi AB, Rahimi F, Forootan M. *FadA*-positive *Fusobacterium nucleatum* is prevalent in biopsy specimens of Iranian patients with colorectal cancer.

- New microbes and new infections. 2020 Mar 1;34:100651.
- 34.** Rezasoltani S, Aghdaei HA, Dabiri H, Sepahi AA, Modarressi MH, Mojarad EN. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. *Microbial pathogenesis*. 2018 Nov 1;124:244-9.
- 35.** Kashani N, Abadi AB, Rahimi F, Forootan M. FadA-positive *Fusobacterium nucleatum* is prevalent in biopsy specimens of Iranian patients with colorectal cancer. *New microbes and new infections*. 2020 Mar 1;34:100651.
- 36.** Repass J. Replication Study: *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Elife*. 2018 Mar 13;7:e25801..
- 37.** Gorkiewicz G, Moschen A. Gut microbiome: a new player in gastrointestinal disease. *Virchows Archiv*. 2018 Jan;472(1):159-72.
- 38.** Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11:506–14.
- 39.** ۳۹- Tiptiri-Kourpeti A, Spyridopoulou K, Santarmaki V, Aindelis G, Tompoulidou E, Lamprianidou EE, Saxami G, Ypsilantis P, Lampri ES, Simopoulos C, et al. *Lactobacillus casei* exerts anti-proliferative effects accompanied by apoptotic cell death and up-regulation of TRAIL in colon carcinoma cells. *PLoS ONE*. 2016;11:e0147960.
- 40.** Abrahamse SL, Pool-Zobel BL, Rechkemmer G. Potential of short chain fatty acids to modulate the induction of DNA damage and changes in the intracellular calcium concentration by oxidative stress in isolated rat distal colon cells. *Carcinogenesis*. 1999 Apr 1;20(4):629-34.
- 41.** Wang T, Cai G, Qiu Y, Fei N, Zhang M, Pang X, Jia W, Cai S, Zhao L. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers. *The ISME journal*. 2012 Feb;6(2):320-9.
- 42.** Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2009 Oct 1;20(10):743-52.
- 43.** Rezasoltani S, Asadzadeh-Aghdaei H, Nazemalhosseini-Mojarad E, Dabiri H, Ghanbari R, Zali MR. Gut microbiota, epigenetic modification and colorectal cancer. *Iranian journal of microbiology*. 2017 Apr;9(2):55.



Investigation of bacterial abundance of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecalis* and *Fusobacterium nucleatum* in paraffin tissue samples of intestinal adenomatous polyps.

Mohammadreza Esrafil¹, Reza Shapouri², Habib Zaighmi³, Fakhri Haghi³

1- PhD student in Microbiology, Department of Biology, Faculty of Basic and Technical Engineering Sciences, Zanzan Branch, Islamic Azad University, Zanzan, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences and Technical Engineering, Zanzan Branch, Islamic Azad University, Zanzan, Iran. Corresponding author: rezashapoury@yahoo.com

3- Professor, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

Received: 2022.09.14

Accepted: 2022.12.06

Abstract:

Background & Aim: Microbiota is a collection of microorganisms that live in the oral cavity, respiratory system and intestine of multicellular organisms. Microbiota exerts numerous physiological and pathological effects on the host in which it lives. Increasing attention has been directed to the interaction of host and microbiota. Adenomatous polyps are one of the common symptoms of colon cancer, the second leading cause of cancer-related death worldwide. Our study tries to show the relationship between *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecalis* and *Fusobacterium nucleatum* in the intestinal paraffin tissue samples of adenomatous polyp patients and healthy individuals.

Materials & methods: In this study, in order to investigate the mentioned bacteria in a total of 100 samples of intestinal paraffin tissue from adenomatous polyp patients (50 people) and healthy controls (50 people) for the presence, copy number and relative quantity of the above bacterial species using Real-time polymerase chain reaction (PCR), compared to the reference gene, were investigated.

Results: In the studied samples, the presence and number of copies of *Enterococcus faecalis* bacteria in adenomatous polyp samples was significantly higher than the other three groups. There was no significant difference in the abundance and presence of *Fusobacterium nucleatum* and *Lactobacillus* species between the two groups. Also, a decrease in the average number of gaps and the relative abundance of *Bifidobacterium* species in adenomatous polyps compared to the control group was obtained.

Conclusion: Our study showed a higher number of *Enterococcus faecalis* bacteria and a decrease in the number of *Bifidobacterium* species in the samples of intestinal paraffin tissue of patients with adenomatous polyps compared to the control group. However, any association between gut microbiome dysbiosis and adenomatous polyps remains unknown.

Key words: microbiome, adenomatous polyp, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum*