بررسی مولکولی ژن *sfaC* درایزوله های *اشریشیا کلی* بافت مبتلایان به سرطان کولورکتال و بیماری التهابی روده بزرگ در جمعیت ایرانی

[1]*Department of microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom ,Iran*

چکیده:

سابقه و هدف: سرطان کولورکتال بعد از سرطان های ریه، معده و کبد چهارمین سرطان شایع در ایران و جهان محسوب میشود. بررسیها نشان داده است که بیماران مبتلا به التهاب روده بزرگ در معرض ابتلا به سرطان کولورکتال میباشند. عوامل مختلفی در ایجاد سرطان کولورکتال نقش دارند که یکی از این عوامل، باکتریها میباشند. اشرشیاکلی یکی از اعضای میکروبیوتا دستگاه گوارش انسانی در روده میباشد. همچنین توانایی اتصال به سلولهای میزبان جز اساسی ترین مراحل در کلونیزاسیون موفق پاتوژنهای میکروبی میباشد. برخی از سویه های اشرشیاکلی دارای تعداد زیادی فیمبریه و ادهسین مثل P فیمبریه، S فیمبریه، و ادهسین ها ی افیمبریال میباشند که به باکتری توانایی اتصال به سلولهای میزبان را میدهد. این مطالعه به منظور بررسی مولکولی ژن ادهسین sfaC در سویه های اشرشیاکلی جدا شده از نمونه های بیوپسی بافت روده از افراد مبتلا به التهاب روده بزرگ و سرطان کولورکتال انجام گرفت.

مواد و روش ها: ۳۸ نمونه بیوپسی از بافت روده تهیه گردید و باکتریها با روش های میکروبی و بیوشیمیایی جداسازی و شناسایی شدند. پس از استخراج ژنوم جدایه ها، وجود ژن ادهسین sfaC با روش واکنش زنجیره ای پلی مراز، ارزیابی گردید.

یافته ها: بررسی مولکولی نشان داد که تعداد نمونه مثبت برای این ژن در گروه نرمال٪ ۴۲/۸ و در گروه مبتلایان به بیماری التهابی روده٪ ۶۲/۵ و بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال ٪ ۶۰ گزارش شد.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه حاضر رابطه بین ژن و سرطان کلورکتال را نشان می دهد.

کلمات کلیدی: سرطان کولورکتال (CRC) ، بیماری التهابی روده (IBD) ، *Escherichia coli*(*E.coli*)، ژن ادهسین *sfa*C

مقدمه: کولون و رکتوم قسمت هایی از دستگاه گوارش بوده و لوله عضلانی طویلی به نام روده بزرگ را تشکیل می دهند، علت دقیق بروز سرطان کولورکتال شناخته شده نیست اما چندین فاکتور در ابتلا به آن نقش دارد و یکی از مهمترین آنها ابتلا به عفونت های باکتریایی می باشد عفونت با نوع خاصی از باکتری *اشرشیا کلی* در مبتلایان به بیماری التهابی روده بخصوص کولیت اولسراتیو مشاهده گردید که باعث شروع سرطان کولورکتال شده است (۸). سرطان کولورکتال چهارمین سرطان رایج در جهان

است . سالانه حدود ۴۰۰۰۰۰ نفر در دنیا به علت ابتلا به این بیماری جان خود را از دست می دهند(۹) پذیرش ارتباط باکتری با سرطان که یک بیماری عفونی و مسری نمیباشد سخت بود، زیرا باکتریها را عامل بیماری عفونی می دانستند. گرچه بیش از ۸۰ ٪ سرطانها توسط عوامل محیطی مانند رژیم غذایی، قرار گرفتن در معرض پرتوها و..... اتفاق می افتد با این حال تعدادی از سرطانها ناشی از عوامل عفونی هستند. در حال حاضر بیش از ۲۰٪ سرطانهای مطرح شده به عامل عفونی مرتبط است. عفونت با نوع خاصی از باکتری *اشریشیا کلی* در مبتلایان به بیماری التهابی روده بخصوص کولیت اولسراتیو مشاهده گردید که باعث شروع سرطان کولورکتال شده است از طرفی باکتری به واسطه فیمبریه و با چسبندگی انتهایی که دارد توانایی اتصال به رسپتور میزبان مختلف را ایجاد می کند و در کلونیزاسیون سطوح مخاطی میزبان، تهاجم مهار دفاع میزبانی نقش دارد و با اختلال در سیکل سلولی باعث شروع و پیشرفت و توسعه سرطان کولورکتال می گردد (۷ و ۱۰).

در این تحقیق به بررسی مولکولی ژن ادهسین *sfa*C (S fimbrial swich regulatory protein) در باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال پرداخته شده است.

فاکتورهای چسبندگی[1]: عواملی که سبب اتصال باکتریها به سطح سلول یا بافت میزبان مشوند. این فاکتورها شامل: رسپتور، لکتین، لیگاند، موکوس، لایهs، گلایکوکالیکس، کپسول، لیپو پلی ساکارید[2]، لیپوتیکوئیک اسید[3] ، ادهزین(یک ساختار سطحی یا ماکرومولکول که سبب اتصال باکتری به سطوح خاص می گردد) فیمبریه یا پیلی (پروتئین های رشته ای در سطح سلول باکتری که می توانند به عنوان ادهزین سبب اتصال اختصاصی باکتری گردند)(۱۳).

***sfa*C** : فیمبریه خاصی از *اشریشیا کلی* بیماریزا می توانند به گیرنده های حاوی بخش های اسید سیالیک بچسبند، این عوامل چسبندگی (ویژه اسید سیالیک) نامیده می شوند. فیمبریه S توسط اپران *sfa* که شامل ۹ ژن می باشد کدگذاری می شود، *sfa* اجتماع پروتئین های عملکردی شامل: *sfa*A(16KD) ، *sfa*G(17KD) ، *sfa*S(14KD) ، *sfa*H(29KD) که میله فیمبریه S را تشکیل میدهند. پروتئین *sfaA* پروتئین زیر واحد اصلی فیمبریه S را بیان می کند، اما پروتئین های *sfa*S و*sfa*H زیر واحدهای جزئی آن را تشکیل می دهند. دو ژن *sfa*C و*sfa*B در انتهای ´5 خوشه ژن *sfa* ضروری هستند در حالیکه *sfa*F و *sfa*E در انتقال پروتئین ها در سراسر پری پلاسم وغشا خارجی نقش دارند، حذف قسمتی از ناحیه بین سیسترونی میان دو ژن *sfa*B و *sfa*C باعث بیان *sfa* که تا حدودی مستقل از فعال کننده های *sfa*C و *sfa*B می باشد محصول ژن *sfa*C ۸/۳ کیلو دالتون می باشد(۱). توالی نزدیک *sfa*A شامل یک قطعه kb ۱/۴ می باشد، این توالی حاوی دو ژن رمز گردان Open

[3] Adherence factors
[4] Lps
[5] LTA

Reading Frames (ORFs) است. یک ORFs از کدون آغاز ATG در وضعیت ۶۶۳-۶۶۵ شروع می شود و در کدون پایان TAA در موقعیت ۹۹۲-۹۹۰ متوقف می شود، دومین ORFs در جهت مخالف اجرا می شود و رمز گردانی توالی آن در رشته آنتی پارالل می باشد این دو ژن رمز گردان *sfa*B و *sfa*C نامیده می شوند و محصول ژن *sfa*C ۸/۳ کیلو دالتون می باشد(۲و۱۱) مطالعات نشان می دهدکه بررسی مولکولی ژن*sfa*C در ایزوله های *اشریشیا کلی* 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 ولیعصر استان قم و مرکز 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 این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت که مربوط به افراد نرمال، بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ بود. تمامی آنها پرسشنامه و رضایتنامه هایی را پر و امضاء کردند، اما محدودیت هایی مانند نداشتن همراه، بدحال بودن بیمار، کم اطلاعی و کم سوادی بیمار یا همراهان آن ها نسبت به برخی سوال های پرسشنامه 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) رشد کردند را به محیط کشت EMB agar 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 و تست اوره آز، مورد ارزیابی قرار گرفتند. سویه هایی که به عنوان اشریشیا کلی تیپیک مورد تایید قرار گرفتند جهت انجام بررسی های بیشتر از انها استوک تهیه شد و در دمای ۲۰- درجه سیلسیوس نگه داری شدند. ۳۸ سویه باکتری اشریشیا کلی پس از انجام تستهای میکروبی و بیوشیمایی از بیوپسی روده جداسازی شد، باکتری های جدا شده از ۷ نمونه نرمال و۱۶ نمونه (IBD) (بیماری التهابی روده بزرگ شامل پولیپ وکولیت اولسراتیو و کرون دیزیز) و ۱۵ نمونه مبتلایان به (CRC) بودند.

باکتری های جداسازی شده به مدت ۲۴ ساعت در محیط مایع LB کشت داده شدند و DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (کیت شایان) 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 ژنهای مورد بررسی طراحی پرایمر صورت گرفت. فراوانی هر یک از سروگروپ ها، ژن *sfa*C در باکتری *اشریشیا کلی* با استفاده از واکنش زنجیره ایی پلیمراز مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه کنترل مثبت، در واقع نمونه تایید شده ای است که از دانشگاه Toulous در فرانسه هدیه گرفته شده است. درتمام واکنش های PCR از دستگاه PCR ترموسایکر ساخت شرکت Eppendorf آلمان استفاده شد. پرایمر های مورد استفاده برای

تشخیص سروگروپ ها و ژن *sfa*C باکتری *اشریشیا کلی* جداسازی شده از بیماران مبتلا به (CRC) در (جدول ۱) آورده شده است. شرایط انجام واکنش PCR برای ژنهای مورد مطالعه به این صورت زیر بود:

Master mix 10µl آمپلیکون، µl ۲ پرایمرهای F و R با غلظت ۱۰پیکومول، ۳µl از DNA الگو با غلظت ۱۰۰ نانوگرم و ۵µl آب مقطر استریل در میکروتیوب ml ۰/۵ریخته شد و بخوبی مخلوط شد. نهایتاً میکروتیوب ها در دستگاه ترموسیکلر اپندروف و در شرایط دمایی مندرج در جدول (۲) قرار داده شدند.

بررسی محصولات PCR توسط الکتروفورز ژل آگاروز ٪۱ انجام شد و نتایج با دستگاه Gel Documentation مورد بررسی قرار گرفت در نهایت نتایج دموگرافی، کلینیکو پاتولوژی و آزمایشگاهی بیماران در این مطالعه، مورد تجزیه وتحلیل 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 ($p<0.05$) بود.

یافته ها:

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

الف- یافته های حاصل از تست های باکتریولوژی : از باکتری غنی شده در محیط LB رقت متوالی در لوله های حاوی سرم فیزیولوژی تهیه شده و از آنها در ائوزین متیلن بلو و همچنین محیط های 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 *اشریشیا کلی* جداسازی شده، انجام شد. این تستها دال بر جنس و گونه باکتری های *اشریشیا کلی* بود.

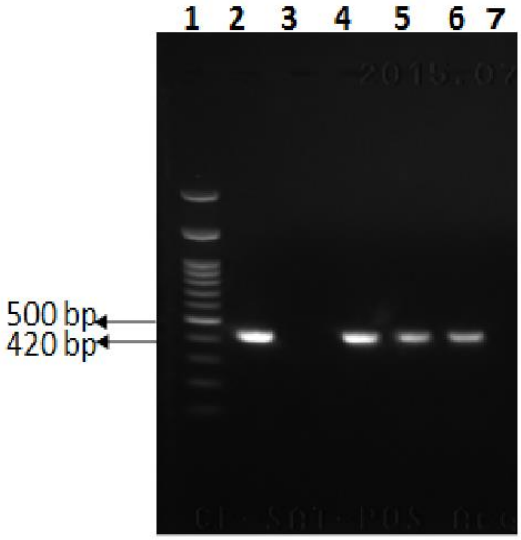
ب- یافته های دموگرافی و کلینیکوپاتولوژی بیماران: از ۳۸ نمونه بیوپسی مورد بررسی در این مطالعه، به ترتیب (۱۸/۵٪)۷، (۳۹/۵٪)۱۵و (۶۰/۸٪)۱۶ نمونه مربوط به افراد نرمال، بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال و مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ شرکت کننده در این مطالعه بود. نتایج آماری نشان داد که بین گروه هایIBD و سرطان کولورکتالCRC و نرمال 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.

ج- یافته های حاصل از تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره ای پلی مراز برای ژن *sfa*C: از بین ۳۸ سویه مورد بررسی، ۲۴ (۶۳/۱۵٪) سویه برای ژن *sfa*C مثبت بود. سایز قطعه حاصله bp ۴۲۰ است.

نتایج نشان داد که از ۷ نمونه نرمال، وجود ژن ادهسین *sfa*C در ۳ نمونه نرمال مثبت گزارش شد. در ۱۶ نمونه مربوط به مبتلایان بیماری التهابی روده بزرگ (IBD) نیز وجود ژن *sfa*C در ۱۱ تا از نمونه ها مثبت گزارش شد. در بین ۱۵ نمونه مربوط

به مبتلایان به سرطان کولورکتال نیز، وجود ژن ادهسین *sfa*C در ۱۰ مورد مثبت گزارش شد (جدول ۳).

شیوع ژن ادهسین *sfa*C ، IBD نسبت به نرمال (p=0.36) و CRC نسبت به نرمال (P=0. 37) می باشد که اختلاف بین آنها معنی دار نمی باشد (جدول ۳).



شکل ۱: الکتروفورز محصول PCR ژن *sfa*C بر روی ژل آگارز ۱٪. از چپ به راست: چاهک شماره1:سایز مارکر فرمنتاز 100bp، چاهک شماره2 : کنترل مثبت(نمونه اهدایی از فرانسه)،چاهک شماره3: کنترل منفی،چاهک شماره4-6 : نمونه مثبت باند 420bp نشانه وجود ژن *sfa*C می باشد،چاهک 7 : نمونه منفی.

جدول۱: لیست پرایمر های مورد استفاده برای ردیابی ژن *sfa*C ، در *اشریشیا کلی* های جداشده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال

Gene	Primer sequence	Size of amplification product	Annealing temp(^{0}C)
***sfa*C**	F-3’ CTC CGG AGA ACT GGG TGC ATC TTA C5’ R-3’CGG AGG AGT AAT TAC AAA CCT GGCA5’	420bp	52 °C

جدول۲: برنامه واکنش PCR ژن *sfa*C

مرحله	دما	زمان	تعداد سیکل
واسرشت اولیه **First denaturation**	۹۳ c°	۳ دقیقه	۱
واسرشت هر چرخه **Denaturation**	۹۳ c°	۳۰ ثانیه	۳۵
اتصال پرایمرها **Annealing**	۵۲ c°	۴۰ ثانیه	
سنتز **Extension**	۷۲ c°	۴۰ ثانیه	
سنتز نهایی **Final Extension**	۷۲ c°	۱۰ دقیقه	۱

جدول۳: بررسی درصد فراوانی وجود ژنهای مورد بررسی

	تعداد کل نمونه ها N(%)	**افراد نرمال N(%)**	**افراد مبتلا به بیماری التهابی روده بزرگ N(%)**	**افراد مبتلا به سرطان کولورکتال N(%)**	**P-value**
ژن *sfa*C - دارای ژن - فاقد ژن	31(81.5) 7(18.5)	3(**42**.8) 4(57.2)	11*(62.5) 5* (37.5)	10*(60) 5* (40)	p=0.36 IBD vs. Normal & p=0.37 CRC Vs. Normal

بحث: برای اولین بار احتمال ایجاد سرطان توسط باکتری ها توسط Russel در سال ۱۸۹۰ مطرح شد و چند سال بعد Thomas Glover در سال ۱۹۲۶ اعلام کرد که به طور مداوم از بافت تومور دار باکتری خاصی جدا می شود (۱). اخیرا افزایش شیوع باکتری *اشریشیا کلی* در بیماریهای التهابی روده (IBD) و سرطان کولورکتال گزارش شده است. با وجود شباهت های زیست شناسی که بین بیماری التهابی روده و سرطان کولورکتال پراکنده وجود دارد به نظر میرسد که ترکیبات واسطه ای که طی عمل التهاب بوجود می آید میتواند باعث مهار مسیر آپوپتوزیس گردد. بافت لنفوئید بخش مخاطی دستگاه گوارش، اولین خط دفاعی در برابر میکروب های بیماریزا می باشد. سلولهای گابلت که با ایجاد یک لایه روی اپیتلیوم مانع تماس مستقیم باکتری می شوند اما اگر سیستم ایمنی میزبان درست کار نکند سبب احتمال عفونت باکتریایی و التهاب روده می شود، مشخص شده که فقط سویه هایی از اشریشیا کلی می توانند در روده بزرگ بیماری ایجاد کنند که عضو نرمال فلور میکروبی نیستند و *Extraintestinal E. coli* نامیده می شوند. التهابات مزمن یکی از شناخته شده ترین فاکتورهای خطر برای چندین سرطان از جمله سرطان کولورکتال

می باشد cuevas-Ramos و همکارانش در سال ۲۰۱۰ این موضوع را اثبات کردند(۴). از بین سویه های *اشریشیا کلی* خارج روده ای AIEC (Adherent and Invasive of *Escherichia coli*) هر دو قابلیت تهاجم و چسبندگی را دارا می باشند و گروه جدیدی هستند که در بیماران مبتلا به بیماری کرون، کولیت اولسراتیو و سرطان کولورکتال یافت شده است (۵). باکتری *اشریشیا کلی* دارای فاکتورهای ویرولانس متعددی می باشد، ادهسین یکی از فاکتورهای ویرولانس در باکتری *اشریشیا کلی* محسوب می شود که مسئول چسبندگی و اتصال این ارگانیسم به سلول های اپیتلیوم می باشد. در این تحقیق به بررسی مولکولی ژن چسبندگی(ادهسین) *sfa*C در باکتریهای *اشریشیا کلی* جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال پرداختیم. در این مطالعه فراوانی ژن *sfa*C در مبتلایان به سرطان کولورکتال؛ ۶۰٪ در افراد مبتلا به بیماری التهابی روده(IBD) فراوانی این ژن ۶۲/۵ ٪ و در افراد نرمال ۴۲/۸٪ می باشد. اطلاعات موجود در این بخش نشان هنده این است که در گذشته گروههای دیگر در دنیا ژن های ادهسین را از باکتری *اشریشیا کلی* از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بیماریهای التهابی روده ، پولیپ و یا سرطان کولورکتال جداسازی کرده اند و درباره شیوع آنها تحقیق کردند. Silveira و همکاران درسال ۲۰۰۱ شیوع فنوتیپ های *pap* و *sfa* را در سویه های ادراری *اشریشیا کلی* به ترتیب۳۸/۴۶ درصد و ۱۵/۳۸ درصد گزارش کردند(۱۲). HELEN و همکاران در سال ۲۰۰۴ اثر چسبندگی باکتریهای مخاطی بخصوص باکتری *اشریشیا کلی* بر روی تغییر گلیکوزیلاسیون مخاطی در بیماری های التهابی روده و سرطان روده بزرگ را مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه این مطالعه اثبات نقش مرکزی باکتری های مخاطی چسبنده در پاتوژنز بیماری کرون و سرطان روده بزرگ بود(۶). مطالعه Darfeuille و همکاران در سال ۲۰۰۴بر روی بیماری کرون نشان داد که در این بیماری تعداد باکتری *اشریشیا کلی* در مخاط کلون وایلئوم افزایش یافته است. بدین صورت که *اشریشیا کلی* به ناحیه ایلئوم میچسبد و در شرایط *invivo* به سلولهای اپیتلیال حمله میکند در بیماران مبتلا به کولیت اولسراتیو یا بیماری کرون خطر احتمال ابتلا به سرطان کولورکتال تا ۵ برابر افزایش می یابد. التهاب روده بزرگ موجب استقرار پاتوژنهای روده ای مانند *اشریشیا کلی* میشود اگر اپیتلیوم بعنوان اولین لایه دفاعی روده در مقابل آنتی ژنها و باکتریها درست کار نکند، احتمال عفونت باکتریایی و التهاب روده افزایش می یابد که در بیماران با التهاب روده مشاهده شده است(۵). Thomas و همکاران در سال ۱۹۹۰ بر روی ادهسین S فیمبریه به طور کامل تحقیقاتی انجام دادند و توالی نوکلئوتیدی ژنهای سازنده S فیمبریه را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که ادهسین S فیمبریه دارای دو بخش major و minor است، که زیر واحد های بزرگ شامل *sfa*S، *sfa*C، *sfa*H و *sfa*A می باشند. این ژنها در موقعیت بین۲/۳ kbو۲/۸ kb (*sfa*A) و۶/۶ kbو ۹ kb (*sfa*C , S , H) قرار گرفته اند، از طرفی ژن *sfa*C نقش تنظیم کننده در اپران *sfa* را بر عهده دارد(۱۱). Biros˘ova و همکاران در سال ۲۰۰۴ با بررسی بر روی ۲۰۱ سویه *اشریشیا کلی* آلفا همولیتیک جدا شده از موارد مختلف بالینی (نمونه ادرار، واژن و رکتال) توسط PCR از نظر

وجود ژنهای ادهسین و دیگر ژنها به عنوان فاکتور بیماریزایی مورد بررسی قرار گرفت، طبق نتایج به دست آمده از ۲۰۱ سویه اشریشیا کلی تعداد ۷۰ سویه از ادرار، ۷۰ سویه از واژینال و ۵۹ سویه از رکتال جداسازی شدند سپس از بین اینها تعداد سویه های مثبت برای ژن *sfa* به ترتیب: ۸۶٪ در ادرار، ۹۷٪ واژینال و ۷۵٪ در رکتال موجود بود. این یافته ها ممکن است به سه دلیل قابل توجه باشند اول اینکه s فیمبریه موجود در اشریشیا کلی به عنوان یک فاکتور ویرولانس کلیدی در پاتوژنز مننژیت نوزادان شناخته شده است. بنابراین تداوم سویه های *اشریشیا کلی* آلفا همولیتیک که دارای s فیمبریه هستند در واژن زنان باردار ممکن است نوزادان در معرض خطر بالاتر ابتلا به عفونت قرار گیرند، دوم اشریشیا کلی پاتوژن شایع ترین عامل جدا شده از بیماران پروستاتیت باکتریایی است و سوم زنان اغلب از حساسیت و عفونت دستگاه ادراری و تناسلی که در ارتباط با سویه های اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک است رنج میبرند(۲).

نتیجه گیری: این تحقیق برای اولین بار در ایران بررسی ژن ادهسین *sfa*C ، در سویه های باکتری *اشریشیا کلی* جدا شده از سرطان کولورکتال و بیماران مبتلا به التهاب روده بزرگ انجام گرفت. این سویه های اشریشیا کلی دارای تعداد زیادی فاکتور بیماریزایی از جمله پیلی های چسبنده (ادهسین ها) هستند که باعث اتصال به مجاری ادراری می گردد و همچنین می توان احتمال داد که این فاکتور چسبندگی به ویژه در گروه B2 موجب اتصال باکتری و تجمع آنها در سرطان روده بزرگ نیز می گردد. در این مطالعه ما از یک روش ژنوتیپی برای مطالعه حضور ژن*sfa*C، در سویه *اشریشیا کلی* یوروپاتوژنیک استفاده کردیم. PCR یک روش ژنوتیپی خیلی اختصاصی، قدرتمند و موثر می باشد که برای آشکار سازی اپران های کد کننده ادهسین و دیگر فاکتورهای ویرولانس استفاده می شود. نتایج مطالعه حاضر نیز در مقایسه با سایر مطالعه های انجام شده در این خصوص، حاکی از حضور قابل توجه ژن های *sfa*C، در سویه های اشریشیا کلی مولد سرطان کولورکتال بود که بر اهمیت این ژن در ایجاد سرطان کولورکتال تاکید دارد. این ژن در جایگیری ارگانیسم در مجاری ادراری و قابلیت ایجاد عفونت و پیشرفت بیماری به اندام های فوقانی دستگاه ادراری دخیل هستند و توجه به آنها در بحث پیشگیری و درمان ضروری است. ثابت شده است که اولین مرحله در ایجاد عفونت اتصال باکتری به بافت میزبان بوده و با توجه به تمایل بافتی که در هر ارگانیسم نسبت به یک بافت خاص وجود دارد به نظر میرسد که وجود این خصوصیت دلیلی بر اختصاصی بودن اتصال بین ارگانیسم و میزبان می باشد. پس میتوان نتیجه گرفت پیلی s که توسط ژنهای موجود روی اپران *sfa* کد میشود، یکی از فاکتورهای ویرولانس مهم در سویه های *اشریشیا کلی* یوروپاتوژن محسوب میشوند که در نتیجه رشد باکتری را تسهیل کرده و واسطه اتصال به گیرنده ها یا اپی توپ های گیرنده موجود روی سطوح مخاطی روده بزرگ در افراد مبتلا به سرطان کلورکتال می باشد در واقع یکی از راههای اتصال در سویه های *اشریشیا کلی* اتصال از طریق پیلی است و این اتصال سبب کلونیزاسیون می گردد. در این تحقیق حضور ژن *sfa*C را مورد بررسی قرار

گرفت. با افزایش تعداد نمونه ها و جمعیت های آماری بهتر و طراحی پرسشنامه هایی با اطلاعات فرعی و همچنین در نظر گرفتن نقش استرس، تنش و شرایط اجتماعی افراد می توان راههای بهتری را برای این جامعه آماری تعریف نمود

Reference:

1. Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, et al. Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing Activity of the Microbiota. Science. 2012 October 5, 2012;338(6103):120-3.
2. Balsalobre C, Morschhäuser J, Jass J, Hacker J, Uhlin BE. Transcriptional Analysis of the sfa Determinant Revealing Multiple mRNA Processing Events in the Biogenesis of S Fimbriae in Pathogenic Escherichia coli. J Bacteriol. 2003;185(2): 620–9.
3. Brüssow H, Canchaya C, Hardt W-D. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2004;68(3):560-602.
4. Cuevas-Ramos G, Petit CR, Marcq I, Boury M, Oswald E, et al .*Escherichia coli* induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. PNAS 2010 107 (25) 11537-11542
5. 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.
6. Hilali F, Ruimy R, Saulnier P, Barnabé C, Lebouguénec C, Tibayrenc M, et al. Prevalence of Virulence Genes and Clonality inEscherichia coli Strains That Cause Bacteremia in Cancer Patients. Infection and immunity. 2000;68(7):3983-9.
7. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians. 2011;61(2):69-90.
8. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic escherichia coli.Nature Reviews Microbiology. 2004;2(2):123-40
9. Moradi A, Khayamzadeh M, Guya MM, Mirzaei HR, Salmanian R, Rakhsha A, et al. Survival of colorectal cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev, 2009;10(4):583-6.
10. Rolhion N, Darfeuille-Michaud A. Adherent invasive ininflammatory disease. 2007;13(10):1277-83.

11. Schmoll T, Morschhäuser J, Ott M, Ludwig B, van Die I, Hacker J. Complete genetic organization and functional aspects of the Escherichia coli S fimbrial adhesin determinant: nucleotide sequence of the genes sfa B, C, D, E, F. Microbial pathogenesis. 1990;9(5):331-43.
12. Silveira WDd, Benetti F, Lancellotti M, Ferreira A, Solferini VN, Brocchi M. Biological and genetic characteristics of uropathogenic Escherichia coli strains. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2001;43(6):303-10.
13. Todar K. Mechanisms of Bacterial Pathogenicity 2008-2012. Available from: www.textbookofbacteriology.net.

Abstract:

Molecular investigation of the adhesin gene *sfaC* in isolates of *Escherichia coli* form tissue of patients with colorectal cancer and inflammatory bowel disease large Iranian population

Aim and Background: Colorectal cancer after lung cancer, stomach and liver cancer is fourth most common cancer in Iran and worldwide. Studies have shown that patients with inflammation bowel disease (IBD) in large intestine are at increased risk of CRC. Various factors play a role in colorectal cancer that bacteria are one of these factors. E. coli is a member of the Microbiota of human intestinal tract in the colon. Also, the ability of binding to host cells is the most basic step in successful colonization in microbial pathogens. Some strains of E. coli has a number of fimbriae and adhesion, such as P fimbriae, S fimbriae, and adhesion of bacteria afimbrial which gives the ability to connect to the host cells. This study was performed to investigate the sfaC adhesin gene in *E.coli* isolated from intestinal tissue biopsies of patients with inflammation bowel disease and colorectal cancer.

Materials and Methods: 38 biopsies were obtained from intestinal tissue and bacteria were isolated and identified using microbial and biochemical methods. After DNA extraction, strains for adhesin gene sfaC were evaluated using polymerase chain reaction (PCR).

Results: Molecular studies showed that the number of positive samples for this gene (sfaC) in normal individuals and in patients with inflammatory bowel disease and patients with colorectal cancer, were 42.8%, 62.5% and 60% of, respectively.

Conclusion:

The results of this study shows the relationship between the adhesin gene and colorectal cancer.

Keywords: Colorectal cancer (CRC), Inflammatory bowel disease (IBD), *Escherichia coli* (*E.coli*), Adhesin gene *sfa*C