نقش باکتری اشریشیا کلی واجد ژن PKS بعنوان یکی از باکتریهای میکروبیوتا در دستگاه گوارش در ایجاد بیماری کولیت اولسراتیو

بهاره آزادی مقدم آرانی[1]، شهلامحمدگنجی[2*]، محسن زرگر[3]

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

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

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

***آدرس مسئول مقاله: قم، بلوار ۱۵ خرداد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی**

تلفن:۰۲۵-۳۷۷۸۰۰۰۱

ایمیل: shahlamg@yahoo.com

چکیده:

در سالهای اخیر شیوع بیماری کولیت اولسراتیو افزایش چشمگیری یافته است. عوامل موثر در ایجاد این بیماری عبارتند از زمینه ژنتیک ,فاکتورهای محیطی و حضور برخی باکتری ها. از نظر ژنتیک سابقه بیماری در افراد فامیل درجه یک و مارکرهای ژنتیکی، نژاد و از نظر فاکتورهای محیطی، رژیم غذایی عوامل مهمی هستند. بر اساس تحقیقات دانشمندان مشخص شده است که میکروبیوتای دستگاه گوارش در ایجاد بیماری کولیت اولسراتیو نقش دارند که یکی از مهمترین آنها باکتری اشریشیا کلی واجد ژن PKS است. جزایر ژنومی pks به فراوانی توسط سویه های Escherichia coli مربوط به گروه فیلوژنیک B2 حمل می شود. ژن PKS ژنوتوکسینی بعنوان متابولیت ثانویه به نام کلی باکتین (colibactin) تولید میکند که سبب آسیب رساندن به DNA سلولهای پوششی روده میشود. اسید نوکلئیک سلول های پستاندارانی که در معرض باکتری های pks+ زنده قرار می گیرند، دچار شکستگی شده که باعث مرگ سلولی می گردد. دراین مطالعه نقش باکتری اشریشیاکلی واجد ژن PKS و همچنین مسیر سنتزو عملکرد ژنوتوکسین کلی باکتین بر متابولیسم سلول بررسی شده است.

کلید واژه: *E.coli*، کولیت اولسراتیو ulcerative colitis، ژن pks, ژنوتوکسین colibactin .

مقدمه:

بیماری کولیت اولسراتیو (علائم، شیوع، پیشگیری و درمان)

کولیت اولسراتیو یا کولیت خونریزی‌دهنده یا التهاب زخمی شونده روده بزرگ (Ulcerative colitis) نوعی بیماری التهابی روده Inflammatory bowel disease (IBD) است که بخش های روده بزرگ یعنی کولون و رکتوم را درگیر کرده و جدار داخلی روده دچار التهاب، زخم، خونریزی و اسهال میشود. کولیت اولسراتیو بر اساس شدت بیماری به چهار گروه دسته بندی میشود: کولیت اولسراتیو خفیف، کولیت اولسراتیو متوسط، کولیت اولسراتیو شدید و Fulminant Disease یا شدت علائم در کولیت اولسراتیو شدید که با افزایش گلبولهای سفید خون، بی اشتهایی و درد شدید شکمی همراه است و بیماری برق آسا گفته می شود(۴، ۲۳و۲۴).

تشخیص کولیت اولسراتیو بر اساس علائم بیماری، معاینه فیزیکی، تاریخچه بیماری و نتیجه آزمایشات تشخیصی مانند آزمایش خون، آزمایش مدفوع، سیگموئیدوسکوپی و یا کولونوسکوپی**(۴)**، معاینه مقعدی، معاینه کامل شکم و معاینه مفاصل تصویربرداری‌های پزشکی مثل رادیوگرافی با ماده حاجب است.

شیوع کولیت اولسراتیو در شمال امریکا ۱۰-۱۲ نفر در هر صدهزار نفر در سال است وحداکثر سن شیوع کولیت ۲۵-۱۵ سال است و در زنان شایعتر از مردان است(۱۹). در شمال اروپا و امریکا نسبت به مناطق جنوبی گسترش بیشتری دارد و در کشورهای کانادا و امریکا و اسکاندیناوی شیوع زیادتری دارد و در ایران نیز شیوع بالایی دارد(۱۳و۳۸و۳۷).

عوامل دخیل در ایجاد کولیت اولسراتیو عبارتند از: زمینه ژنتیک و عوامل محیطی و باکتریها(۴۰). از نظر ژنتیک، سابقه خانوادگی بیماری در افراد فامیل درجه یک، مارکرهای ژنتیکی و نژاد عوامل مهمی هستند(۳۹)و احتمال بیماری در دوقلوهای همسان ۱۰٪ و در دوقلوهای ناهمسان ۳٪ است(۳۱). از میان فاکتورهای محیطی، رژیم غذایی بسیار مهم است زیرا جذب مقادیر بالای چربی های غیر اشباع و ویتامین B12 ممکن است ریسک گسترش کولیت را افزایش دهد(۱۵)، مصرف زیاد پروتئین گوشتی و مصرف الکل روی توسعه کولیت اولسراتیو اثر میگذارد(۲و ۱۵).

کولیت اولسراتیو، بیماری مزمن است و علاج قطعی ندارد بنابراین آموزش نحوه کنترل آن مهم است اگرچه داروهایی جهت کنترل علایم و بهبود کیفیت زندگی بیمار تجویز می‌شود که از عوارض بعدی جلوگیری می‌کند(۵).

نقش باکتریها در کولیت اولسراتیو

تحقیقات نشان داده است که میکروبیوتا دستگاه گوارش در ایجاد بیماری کولیت اولسراتیو و کرون نقش دارد(۱). یکی از این نوع باکتریها که نقش مهمتری دارد، باکتری اشریشیا کلی (*E. coli*) واجد ژن PKS می باشد. این نتایج بر اساس آزمایش محققانی است که با تجزیه و تحلیل توالی rRNA باکتریهای جدا شده از دستگاه گوارش افراد سالم(به عنوان شاهد) و مبتلا به بیماری های التهابی روده مانند کرون و کولیت اولسراتیو و ترسیم درختچه فیلوژنیکی این باکتریها بدست آمده است(۳۶). بر

این اساس میکروبیوتا روده بزرگ به چهار شاخه اصلی Bacteroidetes، Firmicutes، Proteobacteria و Actinobacteria دسته بندی می شود. در مورد بیماریهای کرون و کولیت اولسراتیو، Proteobacteria و گروهی از باسیلوس ها بنام Firmicutes بیشترین نقش را دارند. مطالعات نشان داده است اگرچه نسبت باکتریهای موجود در قسمتهای مختلف این بافت متفاوت است، تفاوت معناداری در جمعیت میکروبی روده بزرگ و روده کوچک مشاهده نمی شود و علائم مشاهده شده در بیماران مبتلا به کرون و کولیت اولسراتیو با نوع جمعیت میکروبی مرتبط است(۱۷). مطابق بررسیها باکتریهای کومنسال یافت شده در بیماران در مقایسه با افراد سالم، کاهش یافته است اما طیف وسیعی از تنوع میکروبی در دستگاه گوارش انسان وجود دارد که بایستی مشخص شود و تحقیقات بیشتر در این زمینه می تواند منجر به یافتن یک میکروب یا گروهی از میکروبهای مسئول این بیماری گردد(۱۴، ۲۱و ۲۲).

نقش ژنها در کولیت اولسراتیو

از دیدگاه ژنتیکی، بنظر می رسد یکسری اجزاء ژنتیکی در ایجاد کولیت اولسراتیو موثر هستند زیرا ۲۰٪ مبتلایان به این بیماری، حداقل یک عضو از اعضای خانواده شان به کولیت اولسراتیو یا کرون مبتلا است. مطالعات انجام شده بر اساس اسکن ژنوم genome wide scan بمنظور بررسی حساسیت ژنتیکی به کولیت اولسراتیو، منجر به نقش سی ژن در افزایش حساسیت ابتلا به کولیت اولسراتیو شد. این ژنها عبارتند از ژن گیرنده ایمونوگلوبین FCGR2A، 5p15، 2p16، ORMDL3، ECM1 و مناطقی بر روی کروموزوم های 1p36، 12p15، 7q22 و IL23R. در حال حاضر مشخص نیست آیا شناسایی این ژنها در درمان این بیماری کمک خواهد کرد یا نه، اما آنچه مشخص است این است که می تواند در تعیین پاتوژنز نقش داشته باشد(۱۴و ۱۸).

مطالعه دیگر بررسی اجزاء ژنتیکی کولیت اولسراتیو در موش بعنوان یک حیوان مدل است. در این بررسی حساسیت به کولیت اولسراتیو در اثر سدیم سولفات دکستران (DSS) در گونه های مختلف موش های خالص بررسی شد بدین ترتیب که به هر دو گروه موش مبتلا به کولیت اولسراتیو حاد و مزمن، DSS خوراکی تجویز شد. پس از ۲۱ روز موشها را کشتند و از سکوم و کولون آنها نمونه گیری کردند. نمونه ها از نظر ضایعات بر اساس شدت زخم، هیپرپلازی و منطقه آسیب بررسی شد. نتایج نشان داد که تفاوت معناداری در استعداد ابتلا نسبت به DSS در سویه های مختلف دیده می شود. تفاوت در سویه ها بمنظور طراحی مطالعات نقشه ژنتیکی جهت تعیین ژنهای دخیل در حساسیت با ماده القاء کننده DSS مهم است. با شناسایی ژنها میتوان مسیرهای مداخله در انسان را پیش بینی نمود. این مطالعه میتواند تاییدی بر نقش اجزاء ژنتیکی در ایجاد کولیت

اولسراتیو باشد اما تحقیقات بیشتر برای تعیین مکانیسم اثر این ژنها لازم است زیرا تعیین مکانیسم ممکن است به هدفی در پزشکی آینده منجر شود(۲۶).

محققان با بررسیهای بیشتر نشان دادند اولاً افزایش تعداد باکتریهای *E.coli* نوع چسبنده، باعث ایجاد بیماری سرطان روده بزرگ (کولورکتال) و سایر بیماریهای التهابی روده مانند بیماری کرون (Crohn's disease) و کولیت اولسراتیو می گردد. ثانیاً ژن PKS سبب آسیب رساندن به DNA سلول های پوشش روده می گردد و این باکتری ها به طور معمول در ناحیه کولون بیماران مبتلا یافت می شوند و معمولا" در روده افراد سالم مشاهده نمی شوند. این یافته نتیجه آزمایشهای آرتور (Arthur) و همکاران در دانشگاه های لیورپول و کارولینای شمالی بر روی موشها است که در مجله science 2012 به چاپ رسید(۳). **ایشان** نشان دادند در موشهای مبتلا به کولیت و دارای *E.coli* ، PKS مثبت احتمال ابتلا به سرطان روده بزرگ بسیار زیادتر از موش های بدون *E.coli* حاوی ژن PKS است. در واقع، این مطالعه توانایی ژن PKS را نشان می دهد که قادر است باعث ایجاد سرطان روده شود بدون اینکه التهابی را ایجاد کند و همین موضوع سبب علاقمند شدن محققان به مطالعه در این زمینه شد. ژن PKS یا genotoxin polyketide-peptide سم Colibactin را تولید می کند(۳۵). برخی از مطالعات مرتبط با این تحقیق در زیر آمده است:

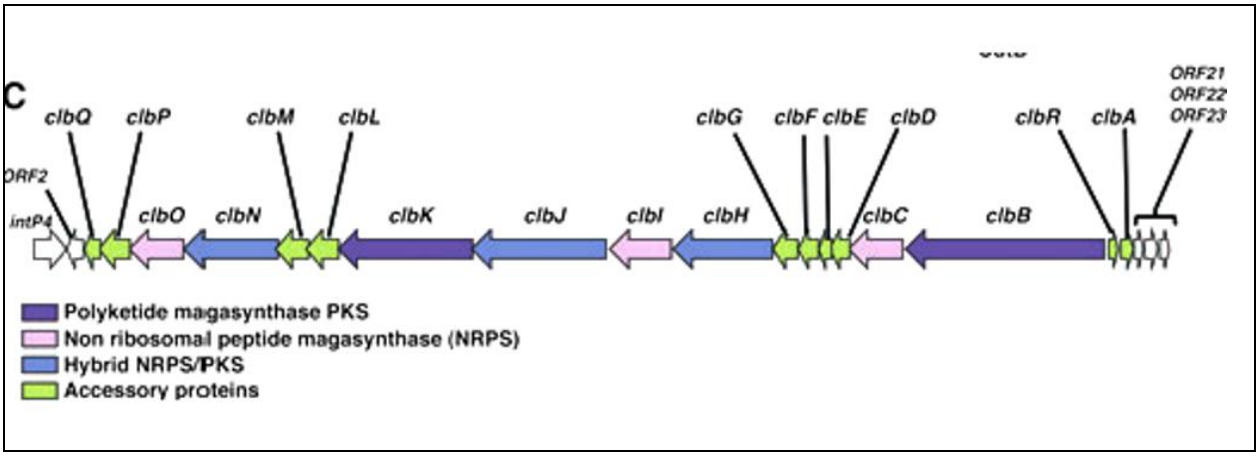
بودئو (Boudeau) در سال 2001، نشان داد *E.coli* های دارای ژن fimA کد کننده fimbriae ، با خاصیت چسبندگی باعث آغاز تولید و ترشح سایتوکاینهای پیش التهابی می شوند(۷) و Gombošováدر سال ۲۰۱۱، نشان داد که ارتباط معناداری بین ژن fimA در *E.coli* و مارکرهای آزمایشگاهی مرتبط با التهاب از جمله TNFα و IL-6 و CRP در افراد دارای بیماری کولیت اولسراتیو و بیماری کرون وجود دارد(۹). Mitsuyama و همکارانش در سال۲۰۰۶ و Scaldaferri در سال ۲۰۰۷، اعلام کردند افزایش مقدار TNFα در بیماری کولیت اولسراتیو UC(ulcerative colitis) و بیماری کرونCD مشاهده می شود(۲۷و ۳۶).

ژوبین (Jobin) و همکاران در سال۲۰۱۲ با بررسی سویه *E.coli* NC101 جدا شده از روده مطالعه و ارتباط بین PKS island و بیماریهای IBD وCRC (Colorectal Cancer) ، متوجه شدند از میان ۳۵ نمونه IBD و۲۱ نمونه CRC و۲۴ نمونه سالم از لحاظ بیماریهای التهابی روده و سرطان کولورکتال، ۲۰/۸٪ نمونه های کنترل، ۴۰٪ نمونه های بیماران IBD و۶۶,۷٪ نمونه های CRC از نظر وجود جزایر ژنومی PKS مثبت هستند(۳).

باکتری E.coli واجد ژن PKS و بیماریزایی در روده بزرگ

هدف از این بررسی ارتباط ژن **pks** و بیماری کولیت اولسراتیو است زیرا بعضی از سویه های باکتری *E.coli* واجد محدوده های ژنومی حفاظت شده ای به نام PKS Island، سرطان کولورکتال را ایجاد می کنند. این محدوده ژنومی حفاظت شده قادر است pks (polyketid synthases) و NRPS(non ribosomal peptide synthesize) را کد کند که برای ساخت ژنوتوکسینی به نام کلی باکتین لازم است(۴۰). خوشه ژنی PKS در انتروباکتریاسه ها مانند *کلبسیلا پنومونیا*(*klebsiella pneumonia*) و *انتروباکتر آئروژنز* (*Entrobacter aerogenes*) و *سیترو باکتر کوزری*(*Citrobacter koseri*) نیز وجود دارد(۳۳و۳۴). باکتریهای حاوی خوشه ژنی کلی باکتین، باعث القای شکست در DNA دو رشته ای سلولهای یوکاریوتیک شده و دارای پتانسیل سرطان زایی هستند (۲و۱۰).

آنزیمهای مورد نیاز سنتز کلی باکتین، در محدوده ژنومی با اندازه 54KB قرار دارد و محدوده ژنومی PKS island در لکوس asnW tRNA قرار دارد. این ناحیه شامل بیست و سه ORF شناخته شده، سه پپتید سنتز شده و بزرگ غیر ریبوزومی NRPS، سه پلی کتاید سنتز شده بزرگ PKS، دو ناحیه هیبریدی NRPS / PKS و ده آنزیم کمک کننده و ویرایشگر و برش دهنده می باشد. تجزیه و تحلیل موتاسیونها نشان می دهد برای تولید کلی باکتین یا ژنوتوکسین فعال، حضور سه NRPS، سه PKS و هشت ژن کمک کننده و فرعی ضروری است(۴۰) (شکل ۱).



شکل۱- شکل شماتیک جزایر ژنومیک PKS در باکتری *E.coli* Nissle 1917. این جزایر ژنومی قادرند آنزیم و پروتئینهای فرعی و کمکی مورد نیاز سنتز کلی باکتین فعال را کد کنند(۲۰)

بخشهای مختلفی که در این شکل، با رنگهای مختلف نشان داده شده است عبارتست از:

PKS (polyketide megasynthetases)، بنفش رنگ که شامل ژنهای clbK و clbB است.

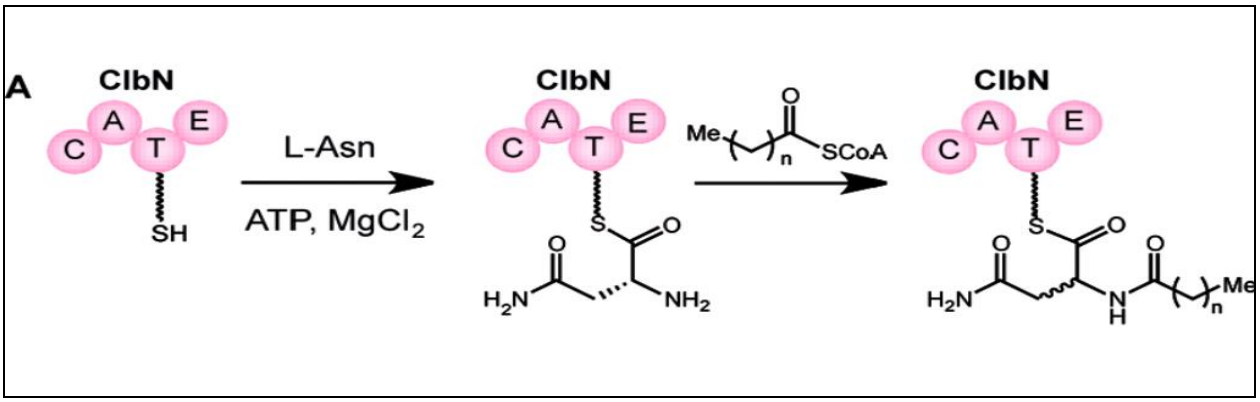
NRPS(nonribosomal peptide megasynthetases)، صورتی رنگ و شامل ژنهای clbO، clbI وclbC.

هیبرید NRPS/PKS، آبی رنگ، و شامل ژنهایclbN ، clbJ و clbH.

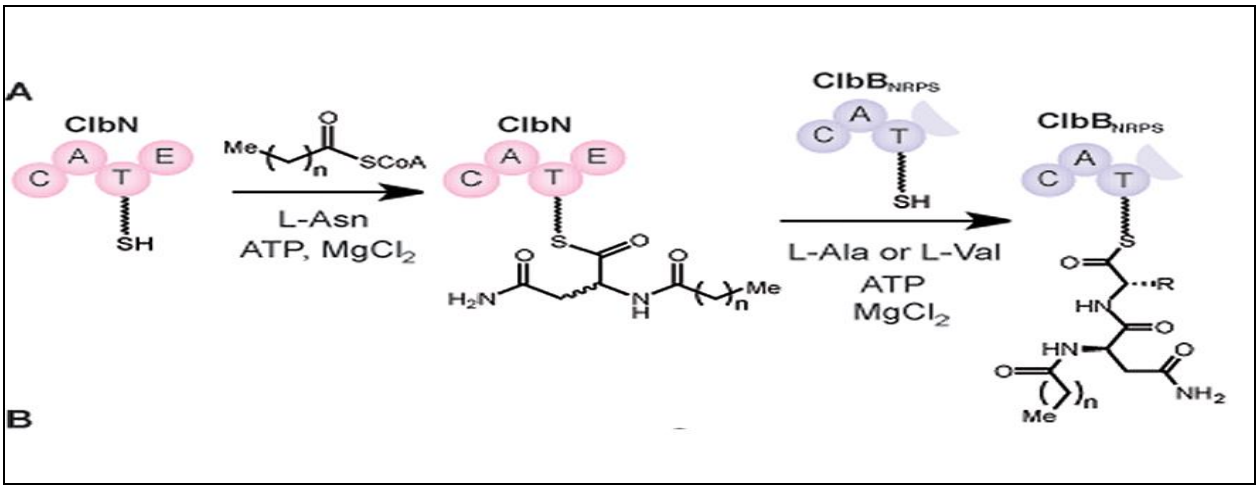
پروتئینهای فرعی وکمکی (accessory protein) که با رنگ فسفری نشان داده شده است و شامل ژنهای clbE ، clbD، clbR، clbA، clbL، clbG، clbF، clbQ، clbP و clbM می باشد.

هامبورگ (Hamburg) در سال ۲۰۰۷ با مطالعه بر روی بیان ژنهای موجود درORF برای سنتز کلی باکتین، از باکتری *E.coli* Nissle 1917 غیربیماریزا به عنوان مدل استفاده کرد. او هفت رونوشت را شناسایی کرد که ۴ تا از آنها پلی سیسترون بود. رونوشتهای پلی سیسترونی شامل ژنهای clbC to clbG، clbI to clbN ، clbO to clbP و clbR to clbAهستند در حالیکه بقیه ORFها بصورت مونوسیسترونی رونوشت برداری شده اند(۵و ۲۰و ۳۲).

فرضیه تولید clbN فعال و کارآمد (شکل ۲)، نشان میدهد که clbN درگیر ساختن داربستهای پیش ساز سنتز کلی باکتین است و شکل ۳ نقش clbB در طویل شدن داربستهای پیش ساز سنتز کلی باکتین را نشان میدهد.

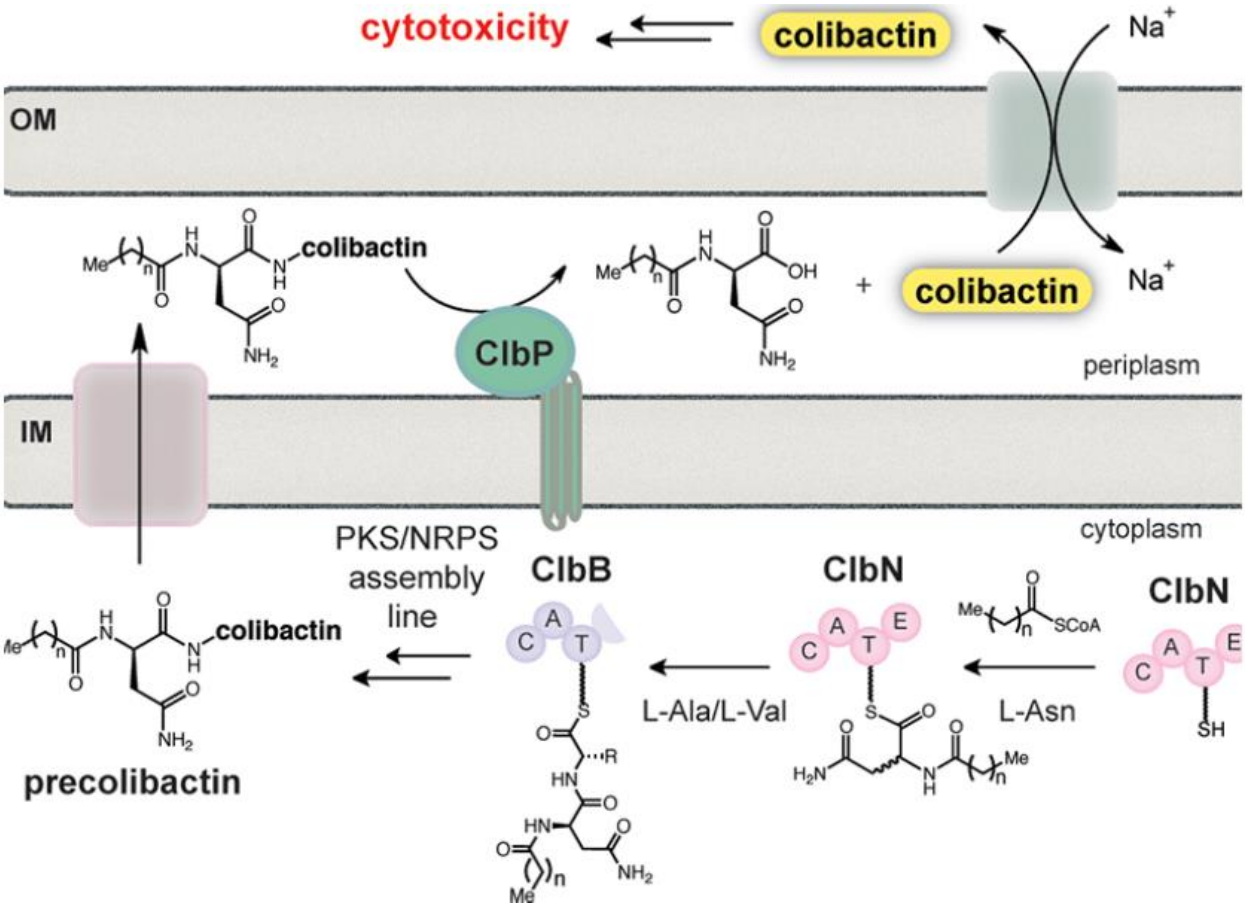


شکل ۲- فرضیه تولید clbN فعال و کارآمد(۲۰)



شکل ۳-نقش clbB که باعث طویل شدن داربستهای پیش ساز در سنتز کلی باکتین می شود(۲۰).

محدوده های ژنومی PKS در $E.coli$ در سنتز ژنوتوکسین غیرریبوزومی به نام کلی باکتین درگیرهستند که با اثر گذاری بر پاسخ ایمنی سلولی میزبان، بر روی توسعه سرطان کولون اثر دارند. مسیر بیوشیمی بیوسنتز کلی باکتین اینگونه است که ابتدا بر روی clbN در داخل سیتوپلاسم فرآیندی انجام شده و آن را فعال می کند. سپس با اضافه شدن L.Ala و L.Val به آن، به clbB تبدیل می شود. در ادامه clbB تحت تاثیرPKS/ NRPS assembly line به پری کلی باکتین تبدیل می شود. پری کلی باکتین نیز با عبور از غشای داخلی وارد فضای پری پلاسمیک شده و تحت تاثیر clbP به کلی باکتین و یک ماده دیگر تبدیل می گردد. با ورود سدیم به فضای پری پلاسمیک، کلی باکتین از طریق کانال موجود در غشا، خارجی به بیرون از فضای غشای خارجی وارد شده و دارای خاصیت سایتوتوکسیسیتی می شود (۸)(شکل ۴).



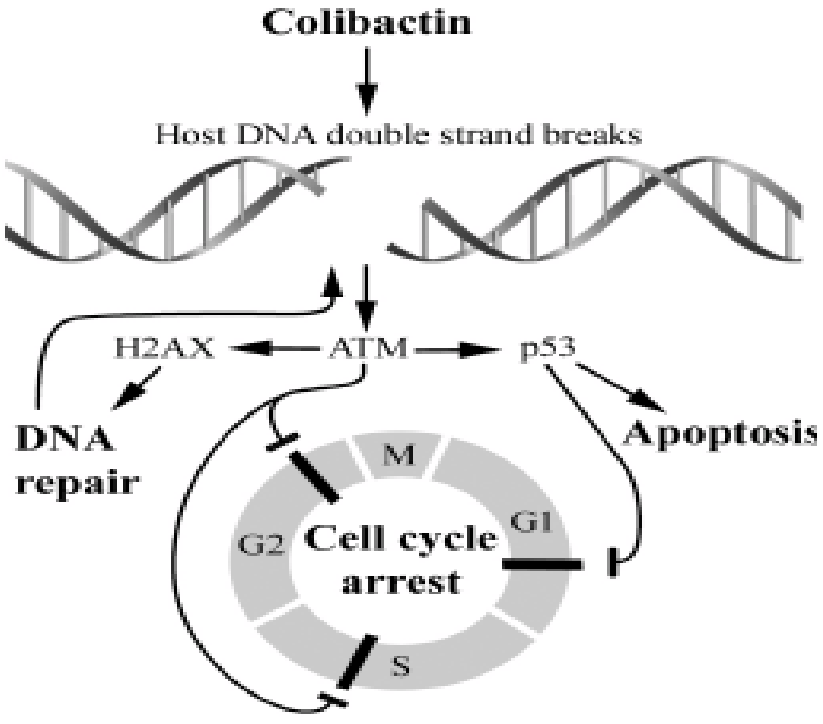
شکل۴- منطق بیوشیمی اساسی در مکانیسم مقاومت به پیش ساز در بیوسنتز کلی باکتین را پیشنهاد میکند(۱۰).

اثرات ژن pks در DNA

سویه های *E.coli* واجد جزایر pks، باعث ایجاد شکست در DNA دو رشته ای سلولهای انسانی در طی عفونت می شوند(۴۰). این آسیب به DNA دو رشته ای با القاء فسفوریلیشن هیستون H2AX، مسیر سیگنال رسانی ATM-chk2 را که باعث توقف چرخه سلولی در مرحله ی G2 می شود فعال کرده و باعث تورم سلول(megalocytosis) می شود. بنابراین سلولها با بروز سیگنالهای تعمیر ناقص DNA (که منجر به ناپایداری کروموزومی می شود)، باعث افزایش فرکانس موتاسیون در ژن و تشکیل کلنی های مستقل از تکیه گاه (anchorage independent colony) می شوند که ثابت کننده پتانسیل موتاژنیک و انتقال کلی باکتین است(۱۰و ۲۵).

مکانیسم بیماریزایی کلی باکتین

کلی باکتین با شکست در DNA دو رشته ای میزبان، مسیر سیگنال رسانی ATM را فعال می کند. در نتیجه ATM بر روی check point های مرحله G2 و S و همچنین بر روی هیستون H2AX اثر کرده و از طرفی با اثر بر روی p53 باعث آپاپتوزیس سلول می شود(۶) (شکل ۵).



شکل۵.مکانیسم بیماریزایی کلی باکتین. کلی باکتین با شکست در DNA دو رشته ای میزبان، مسیر سیگنال رسانی ATM را فعال می کند(۶).

در طی فعال شدن مسیر سیگنالینگ ATM بعداز ایجاد شکست در DNA دو رشته ای، مراحل دید می شود(شکل ۳). القای شکست در DNA دو رشته ای، در ابتدا RARP1 را فعال می کند که این نیز باعث آغاز فعالیت MRN است و در نهایت افزایش فعالیت کامل ATM رخ میدهد. ATM نیز مطابق الگوی زیر تعمیر DNA آسیب دیده را هماهنگ می کند:

۱) تقویت DDR با فسفریله کردن هیستون H2AX

۲) برش و قطع DNA آسیب دیده بمنظور دادن اجازه فعالیت به پروسه HR

۳) فعال کردن نقاط چک پوینت که تکثیر را در مرحله distinct سیکل سلولی (G2 یاS) به منظوراجازه تعمیر DNA متوقف میکند.

اگر آسیب ایجاد شده آنقدر شدید باشد که بطور کامل تعمیر نشود، این پاسخ ایجاد شده و سلول دگرگون شده بوسیله فرایند آپاپتوزیس حذف خواهد شد. در اینجا ایفای نقش یک فرایند وابسته به P53، مانع از تومورزایی می گردد(۱۲و ۴۲).

مطالعات انجام شده در ایران:

در ایران نیز با هدف بررسی ارتباط ژن ***pks*** **و** بیماریهای التهابی روده(IBD، پولیپ و کولیت اولسراتیو) و سرطان روده بزرگ تاکنون، مطالعاتی توسط گروه تحقیقاتی محمدگنجی و همکاران انجام شده است. این بررسیها برای اولین بار در جمعیت ایرانی انجام شده است و خوشبختانه نتایج خوبی نیز بدست آمده است. در این سری مطالعات، بیش از دویست نمونه بافتی تازه از بیماران مبتلا به بیماریهای التهابی (پولیپ، کولیت اولسراتیو، کرون)، سرطان کولون، سرطان رکتال، سرطان کولورکتال و افراد سالم مراجعه کننده به کلینیک های گوارش بیمارستانهای بقیه الله(عج) و امام خمینی تهران و الغدیر و شهید بهشتی قم تهیه شد. رضایتنامه و پرسشنامه ای توسط هر بیمار پر و امضاء شد. این بیوبسی های تازه بر روی یخ به آزمایشگاه منتقل و در محیط کشت LB رشد داده شد. سپس اقدام به جداسازی و تشخیص افتراقی انتروباکترها بویژه ***E.coli*** نموده و با تست های میکروبی وجود آنها تایید شد(۳۰). در ادامه برای ژنهای ***clbB*** و ***clbN*** از مجموعه ژنی ***PKS*** پرایمر اختصاصی طراحی شد و آزمایش Duplex PCR برای DNA استخراج شده از تمامی باکتری های ***E.coli*** انجام شد. نمونه هایی که واجد ژنهای فوق بود، برای تعیین توالی ارسال شد و نتیجه ژنها در وب سایت www.ncbi.nlm.nih.gov/neuclotid به ثبت رسید. کنترل مثبت نیز اهدایی از محقق برجسته و کاشف ژن ***PKS*** در دانشگاه تولوز (Toulouse) فرانسه است. در زیر به برخی از نتایج حاصله چاپ شده در این زمینه اشاره می شود:

بررسی بافتی، مولکولی و باکتریایی نمونه های بیماران مبتلا به بیماری های التهابی روده از بیمارستان بقیه الله (عج) تهران توسط نجف زاده (Najafzadeh) و همکاران، ۱۳۹۳، نشان داد که اولاً تصویرهای حاصله به وسیله میکروسکوپ نوری نشان

دهنده تغییراتی در بافت روده بزرگ است. از آن جا که باکتری *E.coli*، به صورت فلور نرمال روده بزرگ می باشد، نتایج آزمایش تغییرات بافتی در بافت روذه بزرگ در حضور *E.coli* واجد ژن *PKS* مثبت و بافت روده بزرگ بدون حضور *E.coli* واجد ژن *PKS* مثبت نشان داد این تغییرات در بافت در حضور *E.coli* واجد ژن *PKS* مثبت واضح تر است که علت احتمالی آن کلی باکتین ترشح شده از باکتری های *E.coli* واجد ژن *PKS* ایجاد می شود. همچنین ۲۸٪از باکتری های *E.coli* جداشده از نمونه های بیماران مبتلا به بیماری های التهابی روده در این آزمایش، دارای منطقه ژنی *pks* است(۲۸).

مقاله منتشر شده توسط دستجانی فراهانی (Dastjani Farahani) و همکاران در ۱۳۹۴، با بررسی ارتباط سویه های خاصی از باکتری *E.coli* و سرطان کولورکتال نشان داد که ۶۲/۲٪ باکتری های *E.coli* جداشده از نمونه های بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال ایرانی واجد ژن *pks* هستند(۱۱).

نتیجه مطالعه دیگری با عنوان "بررسی مولکولی باکتری های *E.coli* واجد منطقه ژنی *pks* از بیوبسی بیماران دارای بیماری های التهابی روده بزرگ توسط نجف زاده (Najafzadeh) و همکاران در ۱۳۹۴ نشان داد که به ترتیب ۴۹٪ و ۲۹٪ و ۲٪ باکتریهای جدا شده از بیوبسی بیماران IBD ، مبتلایان به کولیت اولسراتیو و افراد نرمال ایرانی واجد ژن *pks* هستند. همچنین اختلاف معناداری از نظر کاهش وزن پس از تشخیص بیماری، در بیماران IBD(P value = 0.001) و UC(*P*-value=0.002) نسبت به گروه نرمال مشاهده شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد که از نظر مصرف سبزیجات در هفته نیز اختلاف معناداری بین گروه نرمال و بیماران کولیت اولسراتیو (p <0.0007) مشاهده می شود. به این معنا که میزان مصرف سبزیجات در هفته در بیماران کولیت اولسراتیو بسیار کمتر از گروه نرمال می باشد. نتایج تعیین توالی سویه های واجد ژن *PKS* نیز نشان داد که از نظر ویژگیهای فیلوژنیکی، بیشتر این باکتریها دارای شباهت ژنتیکی زیادی می باشند طوریکه میتوان آنها را اعضای یک خانواده به حساب آورد(۲۹).

تشکر و قدردانی

نویسندگان برخود لازم می دانند از همکاری صمیمانه بزرگوارانی که با کمک فکری و یا تهیه نمونه ما را در انجام این مطالعه همراهی نموده اند، قدردانی نمایند.

منابع:

1. Ahmed N, Dobrindt U, Hacker J, Hasnain SE. Genomic fluidity and pathogenic bacteria: applications in diagnostics, epidemiology and intervention. Nat Rev Microbiol 2008;6:387–94
2. Andersen, V; Olsen, A; Carbonnel, F; Tjønneland, A; Vogel, U. Diet and risk of inflammatory bowel disease. Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver .2012 Mar, 44 (3): 185–94
3. Arthur J. C , Perez-Chanona E , Mhlbauer M , Tomkovich S , Uronis J. M , Fan T.-J , Campbell B. J , Abujamel T , Dogan B , Rogers A. B , Rhodes J. M , Stintzi A , Simpson K. W, Hansen J. J , Keku T. O, Fodor A. A , Jobin C.Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. Science.2012, 338: 120–123
4. Asher Kornbluth , MD1, David B. Sachar , MD, MACG1 and ☒ e Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Ulcerative Colitis Practice Guidelines in Adults. Am J Gastroenterol 2010; 105:501–523
5. Blum G, Marre R, Hacker J. Properties of Escherichia coli strains of serotype O6. Infection 1995;23:234–236
6. Blum-Oehler G, Oswald S, Eiteljörge K, Sonnenborn U, Schulze J, Kruis W, et al. Development of strain-specifi c PCR reactions for the detection of the probiotic Escherichia coli strain Nissle 1917 in fecal samples. Res Microbiol 2003;154:59–66
7. Boudeau J, Barnich N, Darfeuille-Michaud A.Type 1 pili-mediated adherence of Escherichia coli strain LF82 isolated from Crohn's disease is involved in bacterial invasion of intestinal epithelial cells. Mol Microbiol. 2001;39(5):1272-84
8. Brotherton C. A., Balskus E. P. A Prodrug Resistance Mechanism Is Involved in Colibactin Biosynthesis and Cytotoxicity. J. Am. Chem. Soc. 2013, 135: 3359 – 3362
9. Cougnoux A, Gibold L, Robin F, Dubois D, Pradel N, Darfeuille-Michaud A, Dalmasso G, Delmasso J, Bonnet R. Analysis of Structure–Function Relationships Colibactin-Maturating Enzyme ClbP. J. Mol. Biol. 2012, 424:203 – 214
10. Cuevas-Ramos G, Petit C. R, Marcq I , Boury M , Oswald E , Nougayrde J.-P ,Proc. Escherichiacoli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells .Natl. Acad. Sci. USA .2010, 107:11537 – 11542
11. Dastjani Farahani F, Mohammad Ganji S, Sohrabi M. Study of relationship between a strain of *E.coli* and colorectal cancer. Iran J Med Microbiol. 2015; 9, 2:26

12. Dubois D, Baron O, Cougnoux A,Delmas J ,Pradel N ,Boury M , Bouchon B ,Bringer M, Nougayrè de, J. , Oswald E, Bonnet. ClbP is the prototype of a peptidase subgroup involved in the biosynthesis of nonribosomal peptides. J. Biol. Chem. 2011, 286, 35562
13. Fauci et al. Harrison's Internal Medicine, 17th ed. New York: McGraw-Hill Medical, 2008. ISBN 978-0-07-159991-7
14. Frank, D., Amand, A., Feldman, R., Boedeker, E., Harpaz, N., Norman, R. Molecular-phylogenetic chacracterization of microbial community imbalances in hum inflammatory bowel disease. National Academy of Sciences of the USA. 2011, 104(34): 13780-13785
15. Geerling, BJ; Dagnelie, PC; Badart-Smook, A; Russel, MG; Stockbrügger, RW; Brummer, RJ . Diet as a risk factor for the development of ulcerative coliti. The American journal of gastroenterology. 2000 ,95(4): 1008-13
16. Gombošová L , Lazúrová I , Zakuciová M ,Curová K , Kmetová M , Petrášová L .Siegfried Genes of intestinal Escherichia coli and their relation to the inflammatory activity in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease ,Folia Microbiol .2011, 56:367–372
17. Grozdanov L, Raasch C, Schulze J, Sonnenborn U, Gottschalk G, Hacker J, et al. Analysis of the genome structure of the nonpathogenic probiotic Escherichia coli strainNissle 1917. J Bacteriol 2004;186:5432–41
18. Hanauer SB; Hanauer, Stephen B. Inflammatory bowel disease. N. Engl. J. Med. 1996,334 (13): 8418
19. Homburg S, Oswald E, Hacker J, Dobrindt U. Expression analysis of the colibactin gene cluster coding for a novel polyketide in Escherichia coli. FEMS Microbiol Lett 2007;275:255–62
20. Hooper LV, Gordon JI. Commensal host–bacterial relationships in the gut. Science. 2001;292:1115–18
21. Köhler H, McCormick BA, Walker WA. Bacterial–enterocyte crosstalk: cellular mechanisms in health and disease. Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003;36:175–85
22. Komatsuzawa H, Ohta K, Labischinski H, Sugai M & Suginaka HCharacterization of fmtA, a gene that modulates the expression of methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Antimicrob Agents Chemother.1999, 43: 2121-2125

23. Kornbluth A, Sachar DB. "Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update):American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee". Am. J. Gastroenterol.2004, 99 (7): 1371–85
24. Lambalot RH, Gehring AM, Flugel RS, Zuber P, LaCelle M, Marahiel MA, Reid R, Khosla C & Walsh CT A new enzyme superfamily – the phosphopantetheinyl transferases. Chem Biol .1996,3: 923–936
25. Mahler, M., Bristol, I., Leiter, E., Workman, A., Birkenmeier, C., Elson, O., Sundberg, J. Differential susceptibility of inbred mouse strains to dextran sulfate sodium-induced colitis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 1998. 274: 554-551
26. Mitsuyama K, Tomiyasu N, Takaki K.IL-10 in the pathophysiolo of inflammatory bowe ldisease: increased serum concentration during the recovery phase. Med Inflamm.2006, 1:1
27. Najafzadeh N, Mohammad Ganji S, Behroozi R, Mehrabian S. Study of histological, molecular and microbial of biopsy samples from patients with inflammatory bowel disease of Baghiyatallah Hospital, Tehran. Journal of Animal physiology and development. 1393, 27(7), 4:61-69
28. Najme Najafzadeh, Bahare Azadi Moghadam-Arani, Shahla Mohammad Ganji, Reza Behroozi, Fariba Dastjani Farahani , Sedighe Mehrabian and Jean-Philippe Nougayre`de. Molecular Investigation of the E.coli Containing *pks* Region in the Biopsies of Patients with Inflammatory Bowel Diseases. Accepted for Published in the Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences (ISSN: 2354- 323X) Vol. 3(5), May, 2015
29. NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory 198.Standards). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th edn. Approved standard M7–A4. 1997
30. Nougayr de J.P., Homburg S., Taieb F., Boury M., Brzuszkiewicz E., Gottschalk G., Buchrieser C., Hacker J., Dobrindt U., Oswald E. Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells **.** Science, 2006, 313: 848 – 851
31. Olier M , Marcq I, Cartier CS, Secher T, Dobrindt U, Boury M , Bacquié V, Penary M, Eric Gaultier E, Nougayrède JP, Fioramonti J, and Oswald E. Genotoxicity of Escherichia coli Nissle 1917 strain cannot be dissociated from its probiotic activity .Gut Microbes. 2012 November 1; 3(6): 501–509

32. Putze, J., Hennequin, C., Nougayrède, J.-P., Zhang, W., Homburg, S., Karch, H. etal. Genetic structure and distribution of the colibactin genomic island among members of the family Enterobacteriaceae. Infect. Immun. 2009, 77: 4696–4703
33. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon ATR. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomized trial. Lancet. 1999,354:635–9
34. Sattely, E. S., Fischbach, M. A., and Walsh, C. T. Total biosynthesis: *in vitro* reconstitution of polyketide and nonribosomal peptide pathwaysNat. Prod. Rep. 2008, 25:757–793
35. Scaldaferri F, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: progress and current concepts of etiopathogenesis. J Dig Dis 8:1–9Am J Gastroenterol 2007 ; 102 (S1) : S29 – 31(2006)
36. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R et al."Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD)". Gut. 1996, 39 (5): 690
37. Sonnenberg A, McCarty DJ, Jacobsen SJ. "Geographic variation of inflammatory bowel disease within the United States". Gastroenterology. 1991,100 (1): 143–149
38. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. "Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking". Gut 1988, 29 (7): 990–996

The role of *E.coli* with PKS gene, as a microbiota of the gastrointestinal tract in ulcerative colitis

Bahar Azadi Moghadam-Arani[1], Shahla Mohammad Ganji[2*], Mohsen Zargar[3]

1. MSc, Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
2. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
3. Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Science, Qom branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

*Corresponding author:

Address: 15th Khordad Blvd. Qom branch, Islamic Azad University, Faculty of Science, Department of Microbiology, Qom, Iran

Tel: 025-37780001

Email: shahlamg@yahoo.com

Abstract:

In recent years ulcerative colitis is a disease common has increased significantly. The risk factors of this disease include; genetic background, environmental factors and bacteria. The important factors in terms of genetic background are family history in first cousins, genetic markers and race and in terms of environmental factors is diet. Based on researches, it is identified that gastrointestinal microbiota is involved in the development of ulcerative colitis and one of the most important bacteria is Escherichia coli with pks gene. pks genomic island is frequently harboured by Escherichia coli strains of the B2 phylogenetic group. pks gene produces a genotoxin as secondary metabolite called colibactin which creates DNA damage in the epithelial cells in the intestine. Mammalian cells exposed to live pks+ bacteria exhibit DNA-double strand breaks and undergo cell-cycle arrest and death. In this study, we investigate the role of E. coli bacteria with pks gene as well as colibactin mechanism on the cell metabolism in the intestine.

Key words:

E. coli , ulcerative colitis, *pks*, colibactin