مقـــاله تحقیقی

بررسی اثر متابولیت میکروبیوتای روده بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال بر روی رده سلولی HT29 با استفاده از روش MTT

سمیه جهانی شرافت[1]، حاجیه قاسمیان صفایی[2]، معصومه عظیمی راد[3]، هادی احمدی آملی[4]، شراره مقیم[5*]

[1] دانشجوی دکتـرای باکتـری شناسـی پزشـکی، گـروه میکـروب شناسـی، دانشـگاه علوم پزشـکی اصفهـان، اصفهـان، ایـران

[2] اسـتاد باکتری شناسـی پزشـکی، گـروه میکروب شناسـی، دانشگاه علوم پزشـکی اصفهان، اصفهان، ایران

[3] کارشـناس ارشـد سلولی، مرکز تحقیقات بیماری های ناشـی از آب و غذا، پژوهشـکده بیماری های گـوارش و کبـد، دانشـگاه علـوم پزشـکی شـهید بهشـتی، تهـران، ایران

[4] دانشیار جراحی عمومی، بیمارستان سینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[5] اسـتاد ویـروس شناسـی پزشـکی، گـروه میکروب شناسـی، دانشگاه علوم پزشـکی اصفهان، اصفهان، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

نشانی الکترونیک: Moghim@med.mui.ac.ir

چکیده

زمینه: سرطان کولورکتال یکی از شایع ترین تومورهای بدخیم در انسان است. روده انسان دارای حجم بالایی از میکروب های مختلف است که بسیاری از جنبه های فیزیولوژی میزبان را تنظیم می کنند. مطالعات رو به افزایشی اهمیت نقش میکروبیوتا را در بروز و گسترش این سرطان، به عنوان یکی از نتایج بر هم خوردن تنظیم و ساختار میکروبیوتا، متابولیت های باکتریایی یا مسیرهای التهابی نشان می دهند.

روش کار: در این مطالعه با استفاده از روش MTT، زنده ماندن و پرولیفراسیون سلول‌های HT۲۹ بعد از مجاورت با متابولیت های به دست آمده از میکروبیوتای بیماران مبتلا به CRC در زمان های ۱۲،۶،۳، ۱۴ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: سلول‌های تیمار شده با متابولیت های میکروبیوتا، افزایش تکثیر را با افزایش زمان آزمایش با استفاده از آزمون MTT نشان دادند. بیشترین میزان تکثیر در ۱۲ ساعت و کمترین در ۳ ساعت به دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اینکه متابولیت‌های میکروبی در این مطالعه قادر به ایجاد پرولیفراسیون در سلول های روده ای بودند و افزایش زنده ماندن سلول ها مشاهده شد، به نظر می رسد اختلالات متابولیت های میکروبی در روده به علت تغییرات رژیم غذایی یا محیطی و یا دیگر ریسک فاکتورهایی که موجب بر هم خوردن ساختار میکروبیوتای روده شود می‌تواند در ایجاد و پیشرفت سرطان کولورکتال نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: میکروبیوتا، سرطان کولورکتال، رده سلولی HT۲۹

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]

مقدمه

سرطان روده بزرگ (CRC[1]) سومین سرطان شایع در جهان و چهارمین عامل مرگ ناشی از سرطان در دنیا است(۱). این نوع از سرطان در ایران در رتبه چهارم سرطان های شایع در مردان بعد از سرطان های معده، مثانه و پروستات قرار گرفته و دومین سرطان شایع در زنان بعد از سرطان سینه است(۲). میزان بروز CRC در ایران ۸-۷ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر می باشد(۳). اگرچه این میزان نسبت به کشورهای توسعه یافته کمتر است ولی باید توجه داشت که در کشورهای توسعه یافته سالانه ۲٪ از موارد کاهش می یابد و این در حالی است که این میزان در کشورهای در حال توسعه به خصوص آسیایی در دو دهه گذشته در حال افزایش است. میزان بروز CRC در افراد زیر ۴۰ سال در کشورهای توسعه یافته ۸-۲ درصد است. این میزان در خاورمیانه ۳۵-۱۵ درصد از موارد سرطان روده بزرگ را تشکیل می دهد. در ایران ابتلا به CRC در سنین جوانی یا (Early CRC) در ۲۰٪ موارد گزارش شده است. این مسئله شاید به دلیل تغییر سبک زندگی و افزایش مصرف گوشت و چربی و کاهش مصرف غلات و فیبر در رژیم غذایی ایرانیان باشد (۳). از آنجایی که علت بروز سرطان روده ی بزرگ بیشتر به عوامل محیطی و اپی ژنتیک مرتبط است و عوامل ژنتیک در ایجاد آن سهم کمتری را به خود تخصیص می دهند، در نتیجه بررسی عوامل محیطی و نحوه ی تاثیر گذاری آن در این سرطان بسیار مهم می باشد.

بین عوامل محیطی، میکروبیوتا اخیرا نقش بسیار پررنگی را به خود اختصاص داده اند که با اجزای ساختاری و همچنین آنزیم ها و متابولیت های خود و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن به طور مستقیم و غیر مستقیم می توانند مسیر بروز این سرطان را تسهیل نمایند (۴). میکروبیوتا می تواند با تغییر ترکیب اجزای باکتریایی روده (dysbiosis)، تولید بالای برخی از آنزیم‌های مضر باکتریایی، تغییر در توزیع جوامع باکتریایی، و تغییر در فعالیت متابولیک باکتریایی در ایجاد CRC نقشی اساسی داشته باشد(۵). از طرفی برخی از اجزای میکروبیوتا عملکردی مانند کنترل تمایز سلول های اپیتلیال روده و پرولیفراسیون آنها، رشد و توسعه سد اپیتلیالی، استحکام اتصالات محکم ناحیه اپیکال، محافظت در برابر گونه های بیماری زا، تخمیر کربوهیدرات غیر قابل هضم برای تولید اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه(SCFA)، متابولیسم اسیدهای صفراوی و تخریب مواد سرطان زا در رژیم غذایی در محافظت از ایجاد سرطان دارند(۶).

عوامل بسیاری، از جمله مصرف آنتی بیوتیک‌ها، استرس‌های روانی و فیزیکی، تشعشات، تغییر حرکات دودی روده، رژیم غذایی و غیره می‌توانند اکوسیستم دستگاه گوارش و در نتیجه ساختار ترکیبی باکتری های آن را تغییر دهند(۸، ۷). از طرفی برخی از باکتری های بی هوازی روده مانند کلستریدیوم‌ها و باکتریوئیدس، به عنوان جمعیت غالب تشکیل دهنده میکروبیوتای روده با تولید متابولیت های باکتریایی (اسیدهای صفراوی، اسیدهای چرب و غیره) و آنزیم‌های β-گالاکتوزیداز، β-گلوکوزیداز، سولفاتاز، ردوکتاز، دکربوکسیلاز و پروتئاز نیز می توانند خطر ابتلا به سرطان کلورکتال را افزایش می‌دهند(۹). از عوامل موثر در ایجاد CRC به آنزیم β-گالاکتوزیداز اشاره شد. در مطالعه ای که Dabek و همکارانش در سال ۲۰۰۸ انجام دادند، مشاهده کردند که ۳۰٪ کلستردیوم ها توانایی تولید میزان بالای آنزیم های β-گالاکتوزیداز را دارند در صورتی که هیچ یک از گونه های بیفیدوباکتر این آنزیم را تولید نمی کردند(۱۰). از طرفی میزان این آنزیم در مدفوع بیماران دارای سرطان روده بزرگ بسیار بالاتر از نمونه های سالم گزارش شده است(۱۱). آنزیم آزوردوکتاز نیز با تولید مواد توکسیک از رنگ ها و داروها می تواند در ایجاد سرطان دخیل باشد این آنزیم در باکتری هایی مانند باکتریوئیدس فراژیلیس و باکتریوئیدس تتائوتائومیکرون و برخی از کلستریدیوم‌ها مانند کلستردیدیوم پرفرنجنس افزایش فعالیت نشان می‌دهند(۱۲). برخی از باکتری‌ها مانند باکتریوئیدس، استرپتوکوکوس و کلستریدیوم‌ها میزان بالایی از آنزیم‌های پروتئولیتیک مانند پروتئاز را تولید می‌کنند که می‌توانند به سلول‌های اپیتلیوم روده توسط گیرنده‌های اختصاصی اتصال یافته و موجب اتصال، تشکیل بیوفیلم و حمله به این سلول‌ها گردند و اولین گام به سوی بیماری، که ایجاد التهاب است را ایجاد نمایند(۱۳).

گزارشات بسیاری از افزایش باکتری‌های خاص در سرطان روده بزرگ در مقایسه با کنترل سالم در حال انتشار است. این گزارشات افزایش باکتریهای خاص را در مراحل مختلف بیماری نشان می دهد. مطالعات نشان داده گونه های فوزوباکتریوم در مراحل آخر از بیماری (III, IV) افزایش معنی داری نسبت به مراحل اولیه دارند (۱۵، ۱۴). افزایش باکتریوئیدس فراژیلیس انتروتوکسیژنیک در مراحل انتهایی بیماری گزارش شده است(۱۵). با توجه به مطالعات قبلی در مورد نقش باکتریها و متابولیت‌های تولید شده توسط آنها شاید بتوان میان CRC و متابولیت‌های تولید شده توسط میکروبیوتای روده ارتباطی را پیدا کرد.

یکی از روش های قابل اطمینان برای اندازه گیری قابلیت زیستی (Viability) و تزاید سلولی (Cell proliferation) استفاده از آزمون MTT است. این تست بسیاری از روش های بررسی پاسخ سلولی به عوامل خارجی را تشکیل می‌دهد. آزمایش MTT یک روش رنگ سنجی است که بر اساس

1. Colorectal cancer

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]

احیا شدن و شکسته شدن کریستال های زرد رنگ تترازولیوم MTT (3-(4,5- Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetra-zolium Bromide) به وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی سلول های زنده و تشکیل کریستال های ارغوانی رنگ فورمازان انجام می شود. در این روش بر خلاف سایر روش ها، مراحل شستشو و جمع آوری سلول که اغلب باعث از دست رفتن تعدادی از سلول ها و افزایش خطای کار می‌شوند، حذف شده اند و تمام مراحل آزمایش از ابتدای کشت سلولی تا قرائت با فتومتر، در یک میکروپلیت انجام می شوند لذا تکرار پذیری، دقت و حساسیت آزمایش بالا است. در حال حاضر احیاء نمک تترازولیوم روشی مطمئن و کم هزینه، برای تخمین تکثیر سلولی در شرایط خاص و تجزیه و تحلیل اثر سمی مواد، بر روی سلول ها است(۱۶). لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر متابولیت میکروبیوتای روده بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال بر روی رده سلولی HT29 با استفاده از روش MTT بود.

روش کار

نمونه ها و آماده سازی متابولیت میکروبیوتا

پانزده نمونه بافت سرطانی و ۱۵ نمونه از بافت سالم مجاور ناحیه توموری بعد از عمل جراحی از بیماران مبتلا به سرطان کولون گرفته شد. نمونه بافت در شرایط بی هوازی در محیط تایوگلیکولات براث به منظور مطالعه اثرات متابولیکی باکتری ها بر روی محیط کشت سلولی، به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شد. نمونه ها با استفاده از هموژنایزر به صورت دستی هموژن شدند و سپس در شرایط کاملا بی هوازی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس با استفاده از یک فیلتر سرنگی ۰/۲۲ µm فیلتر شده و فیلتره مواد که عاری از باکتری است برای مطالعه اثر متابولیت‌های باکتریایی تا زمان انجام آزمایش در ۲۰ – درجه سانتیگراد ذخیره شد.

کشت سلول

جهت بررسی اثر متابولیت های باکتریایی بر روی سلول های روده، از رده سلولی HT29 که منشا آن سلول های آدنو کارسینومایی است استفاده گردید. این رده سلولی از انستیتو پاستور ایران خریداری گردید. محیط کشت مورد استفاده H-DMEM حاوی۵٪ FBS (Sigma-Aldrich)، ۱٪ اسید آمینه غیر ضروری (NEAA,Gibco) و ۱٪ آنتی بیوتیک بود. سلولها چندین نسل در فلاسک های مخصوص با استفاده از تریپسین –EDTA (۰/۲۵٪) پاساژ داده شدند. سلول های تریپسینه شده در درجه حرارت ۳۷°C و اتمسفر حاوی CO_2 ۵ ٪ قرار گرفتند.

تست MTT

جهت بررسی اثر سایتوتوکسیسیتی و یا پرولیفراسیون متابولیت های به دست آمده از میکروبیوتای بیماران CRC، پس از رشد کامل سلولهای رده HT29 به مدت ۳ روز، زنده ماندن سلول‌ها با استفاده از کیت MTT Assay kit (Sigma,USA) بررسی گردیدند.

۱۰۰µl از متابولیت های باکتریایی فیلتر شده بر روی سلول‌ها ریخته شد و در زمان های ۳، ۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت در درجه حرارت ۳۷°C و اتمسفر حاوی CO_2 ۵٪ قرار داده شدند. بعد از گذشت زمان لازم ۱۰۰ µl محلول MTT به پلیت ها اضافه شدند و به مدت ۴ ساعت در درجه حرارت ۳۷°C و اتمسفر حاوی CO_2 ۵٪ قرار داده شدند. سپس یک میلی لیتر از محلول Solubili-zation به پلیت ها اضافه شده و برای یک شب در حرارت ۳۷°C و اتمسفر حاوی CO_2 ۵٪ قرار داده شدند. سپس با استفاده از دستگاه ELISA Reader (ELX808,Biotek)، خوانش در طول موج ۵۴۰ nm انجام شد. درصد زنده ماندن سلول‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

Viability (%)= (OD test/OD control)x۱۰۰

روش آماری

محاسبات آماری برای مقایسه میانگین و انحراف ازمعیار با استفاده نسخه ۳ نرم‌افزار Prism و t-Test صورت گرفت. میزان P<۰/۰۵، معنی دار در نظر گرفته شد.

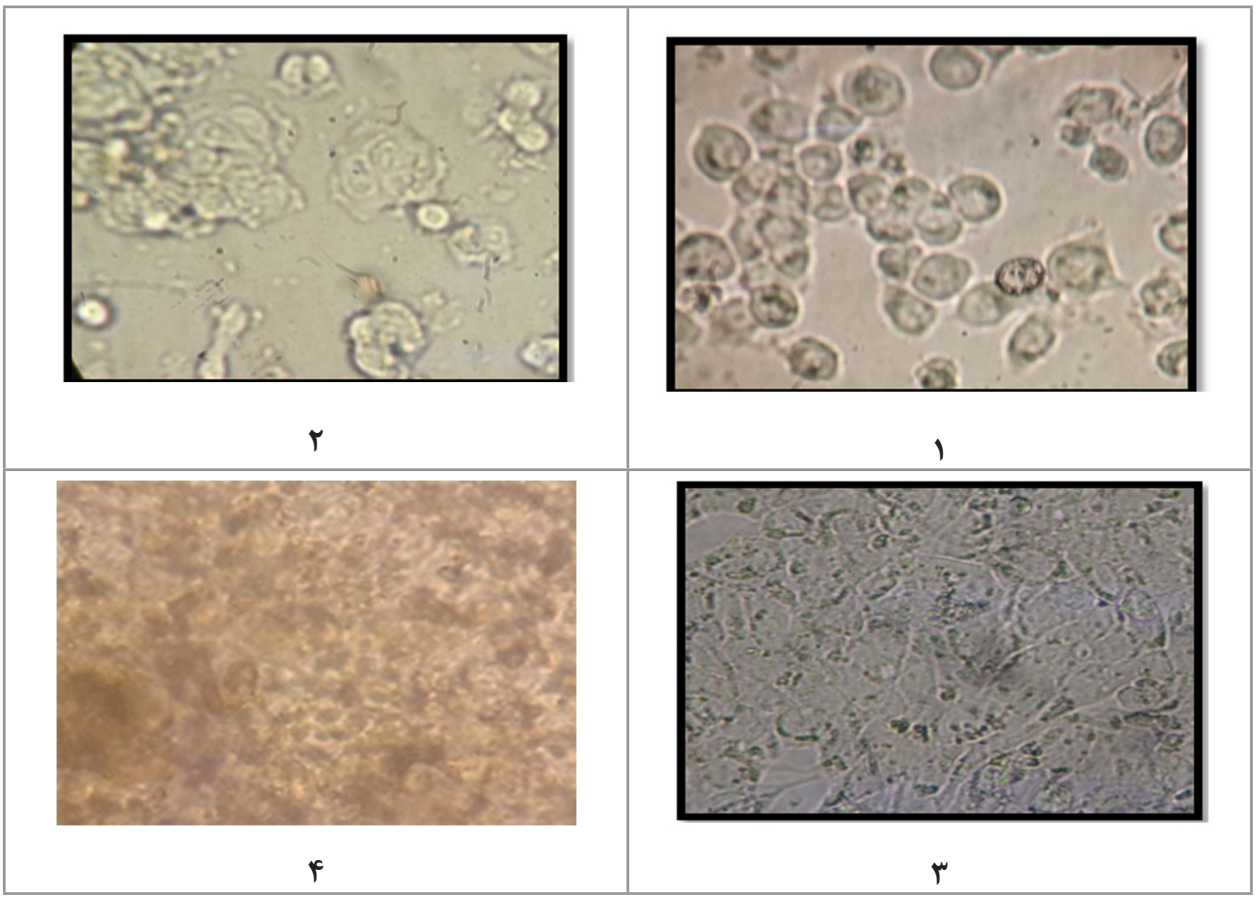
یافته‌ها:

کشت سلول های HT۲۹ بعد از رشد و تمایز سلول ها تحت تیمار با متابولیت قرار گرفتند(شکل ۱). بعد از ۲۴ ساعت از کشت همزمان سلول و متابولیت میکروبیوتا تست MTT انجام شد (شکل ۴-۱ تا ۱-۱).

نتایج مربوط به (MTT Assay)

اثر سیتوتوکسیسیتی متابولیت های باکتریایی بر روی رده سلولی HT29 با استفاده از آزمون الایزا بر روی سوپرناتانت سلول‌های تمایز داده شده انجام شد. این نتایج مؤید فقدان اثرات توکسیک شاخص متابولیت های مورد بررسی بر روی رده سلولی تمایز یافته در ساعات ۳، ۶، ۱۲ و ۱۸ بود (جدول ۱ و ۲). همانطور که در جدول ۱و۲ آورده شده کمترین درصد زنده ماندن سلول ها در مواجهه با متابولیت‌ها در ساعت ۳ بوده و بالاترین میزان پرولیفراسیون به ترتیب در ساعت ۱۲ به دست آمد. تفاوت معناداری میان نتایج حاصل از نمونه‌های توموری و طبیعی مشاهده نشد(P<۰/۱) (شکل ۲).

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]



شکل۱ – رده سلولی HT-29 قبل و بعد از تیمار با متابولیت های باکتریایی.

شکل۱–۱ و ۱–۲ : سلول‌های تیمار نشده در زمان آزمایش در پلیت‌های ۴۲ خانه. شکل۱–۳: سلول های تمایز یافته جهت تیمار سلولی

شکل۱–۴: سلول‌های تیمار شده با متابولیت های باکتریایی به مدت ۴۲ساعت.

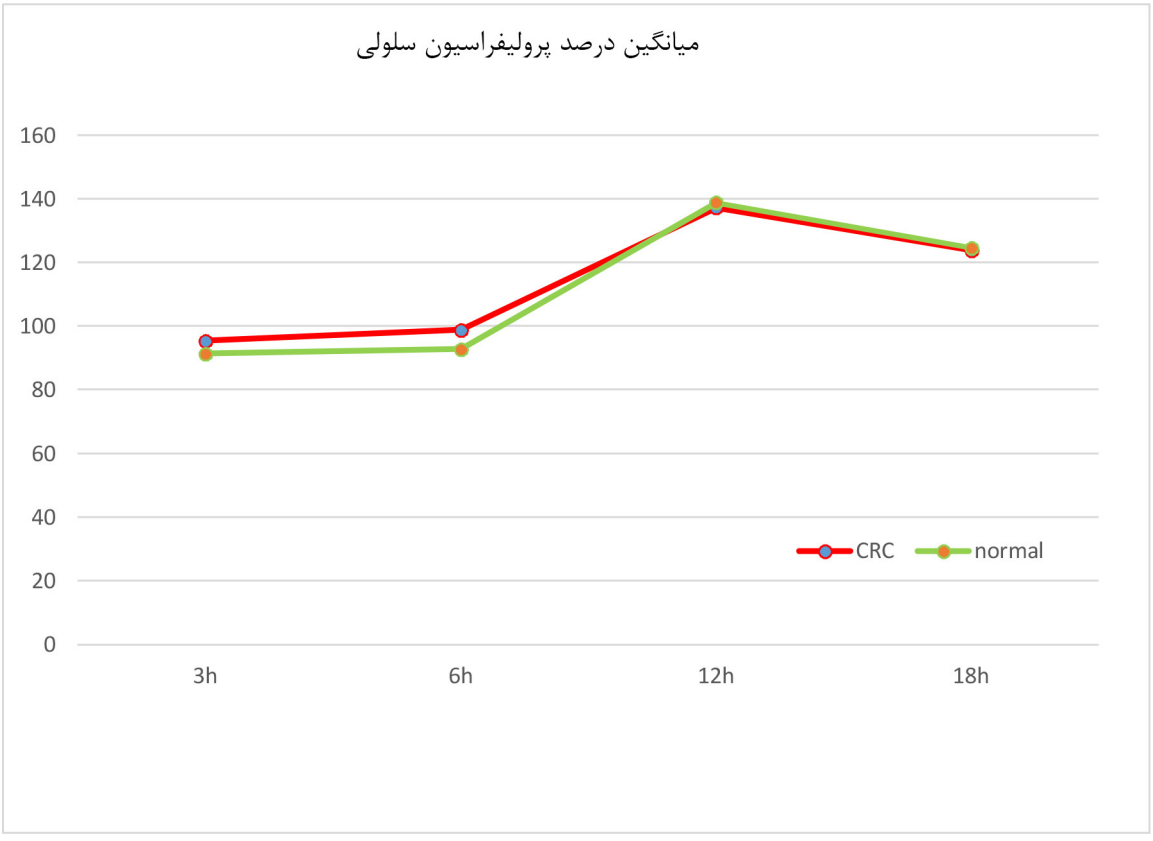
جدول۱. درصد زنده ماندن سلول ها بعد از انکوباسیون با متابولیت های باکتریایی از بافت سرطانی

بیماران	ساعات مواجهه			
	۳h	۶h	۱۲h	۱۸h
۱	۹۴/۳۰۳۸	۹۸/۹۰۱۱	۱۳۰/۵۰۶۶	۹۲/۹۳۵۲۴
۲	۸۵/۴۴۳۰۴	۱۰۷/۶۹۲۳	۱۴۱/۲۱۴۵	۹۷/۴۳۴۸۲
۳	۹۱/۷۷۲۱۵	۱۰۱/۰۹۸۹	۱۵۳/۴۳۱۵	۹۷/۷۲۹۱۸
۴	۸۹/۲۴۰۵۱	۱۰۴/۹۴۵۱	۱۵۰/۱۹۷۶	۱۲۴/۳۰۶۱
۵	۸۸/۶۰۷۵۹	۹۵/۰۵۴۹۵	۱۴۷/۳۲۳	۱۲۰/۲۶۹۱
۶	۷۵/۳۱۶۴۶	۸۳/۵۱۶۴۸	۱۰۷/۷۹۷۳	۱۰۳/۰۶۹۸
۷	۹۹/۳۶۷۰۹	۱۰۵/۴۹۴۵	۱۴۳/۳۷۰۵	۱۴۵/۹۲۰۹
۸	۹۳/۶۷۰۸۹	۸۳/۵۱۶۴۸	۱۳۹/۷۷۷۲	۱۵۵/۸۰۳۲
۹	۱۰۹/۴۹۳۷	۱۵۵/۴۹۴۵	۱۲۰/۷۳۳	۱۵۹/۷۱۴
۱۰	۱۰۱/۲۶۵۸	۱۰۴/۳۹۵۶	۱۵۵/۱۹۲۲	۱۳۵/۶۱۸۲
۱۱	۸۸/۶۰۷۵۹	۸۷/۹۱۲۰۹	۱۴۱/۹۳۳۲	۱۵۰/۹۶۷۲
۱۲	۱۰۵/۰۶۳۳	۸۱/۳۱۸۶۸	۱۳۶/۵۴۳۳	۱۵۷/۲۳۳
۱۳	۹۶/۲۰۲۵۳	۸۹/۰۱۰۹۹	۱۳۱/۵۱۲۸	۱۱۳/۰۷۸۲
۱۴	۱۰۷/۵۹۴۹	۸۴/۰۶۵۹۳	۱۴۹/۱۱۹۷	۹۵/۷۵۲۷۳
۱۵	۱۰۵/۰۶۳۳	۹۸/۹۰۱۱	۱۰۹/۵۹۴	۱۰۷/۵۶۹۴
میانگین کل	۹۵/۴۰۰۸۴	۹۸/۷۵۴۵۸	۱۳۷/۲۱۶۴	۱۲۳/۸۲۶۷

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]

جدول ۲. درصد زنده ماندن سلول ها بعد از انکوباسیون با متابولیت های باکتریایی از بافت نرمال

گروه سالم	ساعات مواجهه			
	۳h	۶h	۱۲h	۱۸h
۱	۹۹/۳۶۷۰۹	۱۰۸/۲۴۱۸	۱۵۳/۷۹۰۹	۱۰۵/۶۳۵
۲	۸۹/۸۷۳۴۲	۱۰۴/۳۹۵۶	۱۴۲/۶۵۱۸	۹۶/۷۶۱۹۸
۳	۹۱/۷۷۲۱۵	۷۹/۶۷۰۳۳	۱۴۳/۷۲۹۸	۱۱۳/۷۰۹
۴	۷۵/۳۱۶۴۶	۱۰۶/۵۹۳۴	۱۲۹/۷۱۶۱	۹۵/۲۰۶۰۶
۵	۷۷/۸۴۸۱	۷۱/۴۲۸۵۷	۱۳۰/۶۸۶۳	۹۶/۶۳۵۸۳
۶	۸۳۵۴۴	۸۷/۳۶۲۶۴	۱۳۷/۲۶۱۹	۹۸/۴۴۴۰۷
۷	۹۲/۴۰۵۰۶	۱۰۶/۰۴۴	۱۳۷/۹۸۰۶	۱۵۵/۷۶۱۱
۸	۸۲/۹۱۱۳۹	۱۰۶/۵۹۳۴	۱۵۳/۷۹۰۹	۱۶۲/۰۶۹
۹	۹۸/۱۰۱۲۷	۹۳/۹۵۶۰۴	۱۴۳/۷۲۹۸	۱۶۲/۸۶۸
۱۰	۹۴/۹۳۶۷۱	۱۰۵/۴۹۴۵	۱۲۲/۸۸۹	۱۴۴/۱۱۲۷
۱۱	۱۱۱/۳۹۲۴	۷۳/۰۷۶۹۲	۱۵۶/۳۰۶۱	۱۴۸/۰۲۳۵
۱۲	۸۳/۲۲۷۸۵	۹۰/۶۵۹۳۴	۹۷/۳۷۶۹۳	۱۴۷/۸۹۷۴
۱۳	۹۳/۰۳۷۹۷	۷۱/۴۲۸۵۷	۱۵۴/۰۰۶۵	۹۳/۰۶۱۴
۱۴	۸۸/۶۰۷۵۹	۷۷/۴۷۲۵۳	۱۰۴/۷۷۹	۱۰۴/۸۳۶
۱۵	۸۸/۶۰۷۵۹	۷۹/۶۷۰۳۳	۱۱۰/۶۷۱۹	۱۰۷/۱۹۰۹
میانگین کل	۹۱/۳۰۹۶۴	۹۲/۶۸۸۰۸	۱۳۸/۷۶۲۸	۱۲۴/۶۲۹۶



شکل ۲. مقایسه میانگین درصد زنده ماندن سلول ها در تیمار با متابولیت های میکروبیوتا در زمان های مختلف در نمونه های سرطانی و نرمال

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]

بحث و نتیجه گیری

سرطان یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان است. براساس پیش بینی های سازمان بهداشت جهانی تا سال ۲۰۳۰، بیش از ۲۱ میلیون مورد جدید سرطان و بیش از ۱۳ میلیون مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان اتفاق می افتد(۱۷). سرطان روده بزرگ نیز به عنوان سومین سرطان شایع در جهان دارای اهمیت فراوانی است(۱). تغییرات میکروبیوتای روده در بیماران مبتلا به سرطان روده بزرگ در مطالعات بسیاری گزارش شده است. آنچه بحث‌برانگیز است این است که که آیا سرطان محصول تغییر در میکروبیوتا است یا اینکه پیشرفت سرطان باعث تغییرات در میکروبیوم طبیعی می شود. شواهد قوی در مورد هر دو نظریه وجود دارد (۱۸، ۱۷). میکروبیوتای روده می تواند با فرآیندهای مختلف، از جمله القای یک بیماری التهابی مزمن یا پاسخ ایمنی، تغییر دادن پویایی سلول های بنیادی، بیوسنتز متابولیت های سمی و ژنوتوکسین و تأثیر متابولیسم میزبان باعث پیشرفت CRC شود و یا با کمک تولید متابولیت‌ها و آنزیم های خود از بروز سرطان جلوگیری نماید(۲۱ و ۲۰).

در مطالعه حاضر نقش میکروبیوتای روده افراد مبتلا به CRC در کشندگی و یا پرولیفراسیون سلولی بر روی سلول های HT29 مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده متابولیت میکروبیوتای این بیماران باعث پرولیفراسیون سلول‌های موجود در کشت سلولی نسبت به کشت سلول بلانک شدند. میانگین درصد پرولیفراسیون سلولی در متابولیت‌های به دست آمده از نمونه‌های توموری درصد ناچیزی بالاتر از نمونه های بافت طبیعی به دست آمد البته تفاوت معناداری میان دو گروه مشاهده نشد. نمونه‌های مورد بررسی توموری و سالم هر دو از یک بیمار گرفته شده بود و هر چند برخی مطالعات تفاوت میان میکروبیوتا در بافت سرطانی و طبیعی را گزارش کرده‌اند ولی در اغلب مطالعات بیان شده است که ساختار میکروبیوتای روده اغلب پیش از سه سالگی شکل می‌گیرد و ساختار ثابتی در طول زندگی دارند(۲۲). برخی از عوامل مانند مصرف آنتی بیوتیک ها، رژیم غذایی خاص، شیمی درمانی و غیره می تواند موجب برهم خوردن ساختار میکروبیوتای روده شود(۲۳). در مطالعه ای که صادقی و همکارانش در سال ۲۰۱۸ بر روی کلروژنیک اسید به همراه متابولیت‌های میکروبی حاصل از مصرف میوه و سبزیجات انجام دادند مشاهده کردند که این متابولیت های میکروبی اثر آنتی پرولیفراسیون بر روی رده ی سلولی Caco-2 دارد و در مدت ۲۴ ساعت باعث ایجاد آپوپتوز در سلول‌ها می‌گردند(۱۶). در این مطالعه از مواد ضد سرطانی استفاده شد و در نتیجه این مطالعه با نتایج ما همسو بود. در مطالعه دیگری Shi و همکارانش در سال ۲۰۱۶ بر روی اثرات LPS (لیپو پلی ساکارید) بر روی فاکتورهای التهابی با استفاده از تست MTT، پرولیفراسیون و آنزیم‌های آنتی اکسیدان مطالعه و مشاهده کردند که مدت زمان انکوباسیون LPS رابطه معناداری با فاکتورهای پرولیفراسیون سلولی دارند و میزان آنزیم های آنتی اکسیدان SOD (سوپراکسید دیسموتاز) تفاوت معناداری بین گروه آزمایش و کنترل نشان نداد و آنزیم کاتالاز کاهش معناداری یافته بود. فاکتور تکثیر سلولی در غلظت ۰/۱و ۱ میکروگرم در لیتر با زمان انکوباسیون ۶ ساعت باعث کاهش تکثیر سلولی شد و این مطلب احتمالا به این دلیل است که این غلظت از LPS برای سلول ها توکسیک بوده و موجب مرگ سلولی می شود(۲۴).لیپوپلی ساکارید جزء اصلی غشای بیرونی باکتری های گرم منفی و توکسین باکتری های بیماریزا است. مطالعات نشان داده است که LPS، باعث آسیب اکسیداتیو شده و به طور گسترده ای برای ایجاد مدل های حیوانی التهاب و عفونت باکتریایی استفاده شده است(۲۵).

Venturi و همکارانش در مطالعه اثر مایع فیلتره شده مدفوع بر روی کشت سلول Caco-2 با استفاده از تست Comet مشاهده کردند که در نمونه های نرمال هیچ تاثیر مخربی بر شکست DNA ندارند ولی در نمونه های دارای مشکلات روده ای مانند پولیپ های روده ای شکست DNA مشاهده شد(۲۶). شکست DNA می تواند ایجاد جهش های سرطانزا را در سلول نماید و با تجمع این جهش ها سلول ها به سمت سرطانی شدن می‌روند. از طرفی برخی از متابولیت های باکتریایی مانند انتروکوک فکالیس، انتروتوکسین باکتروئیدس فراژیلیس و یا FadA در فوزوباکتریوم نوکلئاتوم که همگی توانایی شکست DNA را دارند، توان ایجاد پرولیفراسیون سلول‌های روده را نیز دارا می‌باشند و در مطالعات بر روی میکروبیوتای روده در بیماران سرطانی افزایش می‌یابند(۲۷).

با توجه به اثر متابولیت های باکتریایی جدا شده از بیماران مبتلا به CRC در افزایش تکثیر رده سلولی HT29 به نظر می آید متابولیت باکتریایی می تواند نقش کلیدی و مرکزی را در ارتباط میان میکروبیوتا و سرطان کولون مرتبط با آن داشته باشد. باکتری‌ها می تواند در طی عفونت و یا التهاب ناشی از آنها و یا مستقیما توسط تولید متابولیت های میکروبیوتای روده موجب تغییر بیان ژن های دخیل در سرطانزایی شوند.

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]

منابع

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015 Mar 1;136(5):E359-86.

2. Dolatkhah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in iran: molecular epidemiology and screening strategies. J Cancer Epidemiol. 2015;2015:643020.

3. Ansari R, Mahdavinia M, Sadjadi A, Nouraie M, Kamangar F, Bishehsari F, Fakheri H, Semnani S, Arshi S, Zahedi MJ, Darvish-Moghadam S, Mansour-Ghanaei F, Mosavi A, Malekzadeh R. Incidence and age distribution of colorectal cancer in Iran: results of a population-based cancer registry. Cancer Lett. 2006;240(1):143-7. E

4. Serban DE. The gut microbiota in the metagenomics era: sometimes a friend, sometimes a foe. Roum Arch Microbiol Immunol. 2011;70(3):134-40.

5. Uronis JM, Mühlbauer M, Herfarth HH, Rubinas TC, Jones GS, Jobin C. Modulation of the intestinal microbiota alters colitis-associated colorectal cancer susceptibility. PLoS One. 2009;4(6):e6026.

6. Sharma R, Young C, Mshvildadze M, Neu J. Intestinal microbiota: does it play a role in diseases of the neonate?. NeoReviews. 2009;10(4):e166-79.

7. Marchesi JR, Dutilh BE, Hall N, Peters WH, Roelofs R, Boleij A, Tjalsma H. Towards the human colorectal cancer microbiome. PLoS One. 2011;6(5):e20447.

8. Prakash S, Rodes L, Coussa-Charley M, Tomaro-Duchesneau C. Gut microbiota: next frontier in understanding human health and development of biotherapeutics. Biologics. 2011;5:71-86.

9. Ridlon JM, Kang DJ, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. J Lipid Res. 2006;47(2):241-59. Epub 2005 Nov 18.

10. Dabek M, McCrae SI, Stevens VJ, Duncan SH, Louis P. Distribution of beta-glucosidase and beta-glucuronidase activity and of beta-glucuronidase gene gus in human colonic bacteria. FEMS Microbiol Ecol. 2008;66(3):487-95.

11. Kim DH, Jin YH. Intestinal bacterial beta-glucuronidase activity of patients with colon cancer. Arch Pharm Res. 2001;24(6):564-7.

12. Wang RF, Chen H, Paine DD, Cerniglia CE. Microarray method to monitor 40 intestinal bacterial species in the study of azo dye reduction. Biosens Bioelectron. 2004;20(4):699-705.

13. Carroll IM, Maharshak N. Enteric bacterial proteases in inflammatory bowel disease- pathophysiology and clinical implications. World J Gastroenterol. 2013;19(43):7531-43.

14. Tahara T, Yamamoto E, Suzuki H, Maruyama R, Chung W, Garriga J, et al. Fusobacterium in colonic flora and molecular features of colorectal carcinoma. Cancer Res. 20141;74(5):1311-8.

15. 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.

16. Sadeghi Ekbatan S, Li XQ, Ghorbani M, Azadi B, Kubow S. Chlorogenic Acid and Its Microbial Metabolites Exert Anti-Proliferative Effects, S-Phase Cell-Cycle Arrest and Apoptosis in Human Colon Cancer Caco-2 Cells. Int J Mol Sci. 2018;19(3). pii: E723.

17. Green RA, Kaplan KB. Chromosome instability in colorectal tumor cells is associated with defects in microtubule plus-end attachments caused by a dominant mutation in APC. J Cell Biol. 2003;163(5):949-61.

18. Francescone R, Hou V, Grivennikov SI. Microbiome, inflammation, and cancer. Cancer J. 2014;20(3):181-9.

19. Blumberg R, Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey. Sci Transl Med. 2012;4(137):137rv7.

20. Tsilimigras MC, Fodor A, Jobin C. Carcinogenesis and therapeutics: the microbiota perspective. Nat Microbiol. 2017;2:17008.

21. Cani PD, Plovier H, Van Hul M, Geurts L, Delzenne NM, Druart C, Everard A. Endocannabinoids--at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. Nat Rev Endocrinol. 2016;12(3):133-43.

22. Turroni F, Peano C, Pass DA, Foroni E, Severgnini M, Claesson MJ, et al. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. PLoS One. 2012;7(5):e36957.

23. Carman RJ, Simon MA, Fernández H, Miller MA, Bartholomew MJ. Ciprofloxacin at low levels disrupts colonization resistance of human fecal microflora growing in chemostats. Regul Toxicol Pharmacol. 2004;40(3):319-26.

24. Shi H, Guo Y, Liu Y, Shi B, Guo X, Jin L, et al. The in vitro effect of lipopolysaccharide on proliferation, inflammatory factors and antioxidant enzyme activity in bovine mammary epithelial cells. Anim Nutr. 2016;2(2):99-104.

25. Wang H, Xu DX. A research review: poisonous bacteria lipopolysaccharide and development. Foreign Med Sci Hyg. 2008;35:170-3.

26. Venturi M, Hambly RJ, Glinghammar B, Rafter JJ, Rowland IR. Genotoxic activity in human faecal water and the role of bile acids: a study using the alkaline comet assay. Carcinogenesis. 1997;18(12):2353-9.

27. Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. The intestinal microbiota in colorectal cancer. Cancer cell. 2018;33(6):954-64.

[Downloaded from jmciri.ir on 2026-11-07]