

## بررسی پولیپ‌های روده بزرگ با استفاده از رزونانس مغناطیسی هسته $^1\text{H}$

صدیقه صادقی<sup>۱</sup> (M.L.D)، آیدا ایروانی<sup>۱</sup> (M.Sc)، محمد ارجمند<sup>۱</sup> (Ph.D)، فریده وهابی<sup>۲</sup> (M.D)، سید محمود اسحاق حسینی<sup>۳</sup> (M.D)، اکبر عقلائی<sup>۲</sup> (B.Sc)، فاطمه میرخانی<sup>۱</sup> (M.Sc)، زهرا زمانی<sup>۱\*</sup> (Ph.D)

۱- بخش بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۲- بخش بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۳- بخش اندوسکوپی، بیمارستان امیراعلم تهران، تهران، ایران

### چکیده

سابقه و هدف: بیماران مبتلا به پولیپ و کولیت اولسروز مستعد ابتلا به سرطان کولورکتال هستند. با توجه به این که در حال حاضر، تشخیص بیماری‌های کولورکتال با روش‌های تهاجمی مانند کولونوسکوپی و سیگموئیدوسکوپی صورت می‌گیرد. اخیراً تحقیقاتی برای تشخیص زودهنگام سرطان‌ها از جمله سرطان کولورکتال با استفاده از روش طیف سنجی ( $^1\text{H Nuclear Magnetic Resonance, HNMR}$ ) و علم کمومتریکس انجام شده است. در این تحقیق، نتایج طیف حاصل از نمونه HNMR بیماران مبتلا به پولیپ با افراد سالم مقایسه گردید. مواد و روش‌ها: پس از گرفتن رضایت‌نامه از ۴۰ فرد مراجعه‌کننده جهت انجام کولونوسکوپی، نمونه خون گرفته شد. این افراد به مدت ۷۲ ساعت دارای رژیم غذایی مایعات رقیق بودند. پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون در لوله‌های هپارینه، پلاسمای خون افراد سالم و بیمار، جهت طیف سنجی HNMR با روش Spin-echo CPMG به دانشگاه صنعتی شریف فرستاده شد. پس از آنالیز اجزا اصلی (Principle Component Analysis) با استفاده از نرم‌افزار ProMetab، متابولیت‌های مختلف با توجه به جابه‌جایی شیمیایی (Chemical Shift) آن‌ها جدا شد. یافته‌ها: با استفاده از نرم‌افزار ProMetab، ۱۶۲۴ متابولیت برای طیف هر نمونه حاصل شد. در این بررسی متابولیت‌های تاثیرگذار با استفاده از نرم‌افزار پایگاه اطلاعاتی Human Metabolome Data Base به‌دست آمد و به منظور به‌دست آوردن چرخه‌های متابولیتی از نرم‌افزار پایگاه اطلاعاتی Metaboanalyst Data Base استفاده گردید. نتیجه‌گیری: متابولیسم چرخه‌های سنتز آمینو اسید tRNA، نیتروژن، هیستدین، سیانوآمین و تیامین در ایجاد پولیپ‌های روده حائز اهمیت هستند.

واژه‌های کلیدی: پولیپ روده بزرگ، سرطان کولورکتال، طیف سنجی، کمومتریکس

### مقدمه

می‌دهد. لذا برای پیشگیری باید آن را با جراحی برداشت. در حال حاضر در برخی از موارد پولیپ، ژن‌های عامل سرطان شناسایی شده است. بنابراین، افراد دارای پولیپ را قبل از بروز سرطان از نظر حامل بودن ژن سرطان، می‌توان مورد بررسی قرار داد.

پولیپ روده بزرگ ناشی از رشد توده‌های خوش‌خیم در جدار روده است که شامل دو نوع هیپرپلاستیک و آدنومایی می‌باشد. معمولاً شیوع آن بعد از سن ۵۰ سالگی است. نوع آدنومایی پولیپ، شانس ابتلا به سرطان روده بزرگ را افزایش

شیمیایی به دست آمده، اطلاعات مفیدی استخراج می‌شود و با توجه به این اطلاعات، می‌توان آزمایش‌های مورد نظر با بازدهی بهتر را طراحی کرد [۷].

تاکنون دانشمندان تحقیقات وسیعی را برای تشخیص زودهنگام سرطان‌ها از جمله سرطان کولورکتال با استفاده از علم متابونومیکس انجام داده‌اند [۸، ۹].

در این تحقیق سعی بر آن است که طیف حاصل از NMR نمونه‌های پلاسمای بیماران پولیپ با افراد سالم مقایسه گردد تا متابولیت‌های تغییر یافته و چرخه‌های متابولیتی تاثیرگذار، جهت تشخیص زودهنگام این بیماری به دست آید.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری. از ۱۰۰ نفری که جهت کولونوسکوپی به بیمارستان امیراعلم مراجعه کرده بودند، افرادی با تشخیص سرطان، کولیت اولسروز و هموروئید از مطالعه حذف گردیدند. با توجه به این‌که مطالعه ما از نوع موردی شاهدهی است، تعداد ۲۰ نفر از افراد سالم و ۲۰ نفر افراد مبتلا به پولیپ، جهت مطالعه انتخاب شدند. این افراد قبل از کولونوسکوپی به مدت ۷۲ ساعت دارای رژیم غذایی با مایعات رقیق بودند.

تمامی ۴۰ فرد مورد مطالعه، رضایت‌نامه و پرسش‌نامه‌ای مبنی بر مشخصات فردی، تاریخچه بیماری، رژیم غذایی و سایر موارد را پر نمودند. از افراد دو گروه، ۴ میلی‌لیتر نمونه خون گرفته شد و به لوله‌های حاوی ۲۰ میکرولیتر هپارین (ماده ضد انعقاد) اضافه گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و پلاسمای آن‌ها تا انجام NMR در فریزر ۸۰- نگهداری شدند.

آماده‌سازی نمونه‌ها. طبق روش‌های انجام شده قبلی [۱۰]، ۶۰۰ میکرولیتر پلاسمای افراد با ۷۰ میکرولیتر (Deuterium  $\text{D}_2\text{O}/10\text{oxide}$ ) رقیق گردید و سپس ۱ میلی‌مولار از 2-trimethylsilylpropionate (TMS) به عنوان رفرانس داخلی اضافه گردید. نمونه‌ها برای گرفتن طیف  $^1\text{HNMR}$  با روش CPMG spin echo، به دانشگاه صنعتی شریف فرستاده شد.

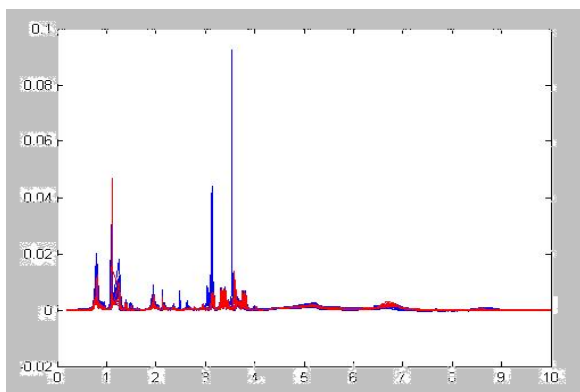
بیش تر پولیپ‌های روده بزرگ به منظور یافتن علل خونریزی از مقعد حین اجابت مزاج یا درد شکم دیده می‌شوند که پزشک با توجه به نوع پولیپ، معاینه‌های دوره‌ای یا برداشت پولیپ را توصیه می‌کند.

آزمایش‌هایی که وضعیت بافت روده بزرگ و انتهای آن (رکتوم) را بررسی می‌کنند تا بیماری‌های کولورکتال را تشخیص دهند شامل: تست خون نهفته در مدفوع، معاینه مقعد و تنقیه باریم است. هم‌چنین با روش‌های تهاجمی، نظیر سیگموئیدوسکوپی و کولونوسکوپی و نمونه‌برداری (بیوپسی) می‌توان به تشخیص نهایی رسید [۱، ۲].

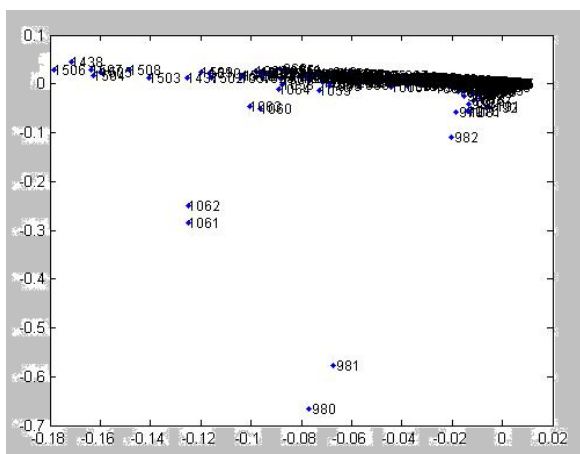
اخیراً محققین با روشی ساده و غیر تهاجمی طیف سنجی  $^1\text{HNMR}$  بر روی نمونه پلاسمای و هم‌چنین با استفاده از علم کموتریکس که نتایج حاصل از طیف  $^1\text{HNMR}$  را آنالیز می‌نماید، بیماری‌های کولورکتال را بررسی نموده‌اند [۳]. طیف سنجی رزونانس مغناطیس هسته، یکی از تواناترین وسایل در دسترس شیمیدان‌ها و زیست‌شناسان، برای تعیین ساختار گونه‌های آلی، معدنی و غیره است [۴].

با آنالیز اسپکتروسکوپی  $^1\text{HNMR}$  مایعات زیستی، سلول‌ها و بافت‌ها، پروفایل‌هایی با طیف وسیعی از متابولیت‌های با جرم ملکولی پایین حاصل می‌شود. به طور مثال، هر مایع زیستی دارای یک ترکیب بیوشیمیایی منحصر به فرد می‌باشد که این ترکیب بیوشیمیایی در نتیجه پاسخ به تحریکات فیزیولوژیکی یا پاتوفیزیولوژیکی تغییر می‌کند. هم‌چنین هر متابولیت یک یا چند سیگنال  $^1\text{H}$  تولید می‌کند. به طوری‌که هر سیگنال  $^1\text{H}$  متعلق به محیط الکتروشیمیایی خاص اطراف پروتون می‌باشد. این اطلاعات مربوط به غلظت، اندازه و ساختمان اجزای مولکولی مایع زیستی در طیف گنجانده شده است. بنابراین طیف حاصل از NMR اثر انگشت متابولیکی منحصر به فردی را برای هر مایع زیستی پیچیده در اختیار می‌گذارد. این تکنیک ارزش زیادی در تشخیص نتایج عمل‌کرد بیماری، سمیت یا تغییرات جزئی ژنتیکی دارد [۵، ۶].

علم کموتریکس در حقیقت کاربرد علوم آمار، کامپیوتر و ریاضی در شیمی می‌باشد. با استفاده از آنالیز داده‌های



شکل ۱. برهم نهی طیف های نمونه افراد سالم و بیماران پولیپ



شکل ۲. شناسه جابجایی شیمیایی تغییر یافته با روش PCA در گروه افراد سالم و مبتلا به پولیپ

از شماره شناسه های متابولیتی، میزان جابه جایی شیمیایی به دست آمد و با به کارگیری سایت HMDB متابولیت های شناساگر تعیین شد که در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱. شناسایی متابولیت های مهم تغییر یافته با استفاده از HMDB

شماره	متابولیت
۱	L- فنیل آلانین
۲	L- ایزولوسین
۳	هیستیدین
۴	سیترولین
۵	L- پالمیتویل کارنیتین
۶	ایزوماتوز
۷	L- فنیل آلانین
۸	گلیسین
۹	1- متیل - هیستیدین

آنالیز داده ها. پس از گرفتن طیف NMR پلاسما ای افراد سالم و بیمار از دستگاه Bruker DRX-500NMR spectrometer در ۵۰۰/۱۳ MHz، آنالیز داده های اولیه به وسیله ProMetab انجام شد که تحت نرم افزار MATLAB (یک محیط محاسباتی تکنیکال به منظور محاسبات تحلیلی و عددی) نوشته شده است. این کد، طیف  $^1\text{H NMR}$  خام را به یک فرمت آماده جهت آنالیز چند متغیر تبدیل می نماید.

با استفاده از کد محاسباتی ProMetab، طیف  $^1\text{H NMR}$  را به بخش های جابه جایی شیمیایی با پهنای تعیین شده تقسیم شدند و طیف های ناخواسته مانند آب باقی مانده در نمونه حذف گردیدند. از قابلیت های این کد، روش های مختلف نرمال سازی مانند تبدیلات عمومی لگاریتمی می باشد.

در نهایت داده های فرآیند شده حاصل از کد محاسباتی ProMetab توسط نرم افزارهای کاهش دهنده حجم داده ها مانند PCA مورد آنالیز چند متغیر قرار گرفت. این فرایند به منظور ساخت مدل های طبقه بندی شده ضروری است [۱۱].

در این بررسی به منظور تعیین متابولیت های تاثیر گذار از پایگاه اطلاعات متابولوم انسانی (Human Metabolome Base Data) استفاده شد [۱۲]. هم چنین به منظور شناسایی مهم ترین تغییرات چرخه های بیوشیمیایی در این مطالعه از پایگاه Metaboanalyst Data Base استفاده شد [۱۳].

## نتایج

با نرم افزار ProMetab برای هر نمونه طیف، ۱۶۲۴ متابولیت به دست آمد. شکل طیف نهایی حاصل از برهم نهی طیف های مربوط به افراد سالم و بیماران پولیپ در شکل ۱ نمایش داده شده است. هم چنین نمودارهای تفکیکی متابولیت های تغییر یافته در گروه افراد سالم و بیماران پولیپ در شکل ۲ ارائه شده است. اعدادی که در این نمودارها به دست آمده است در حقیقت همان شناسه های متابولیت های تغییر یافته است.

جدول ۲ مشاهده شده است. متابولیت‌های تاثیرگذار در شکل ۳ دیده می‌شود.

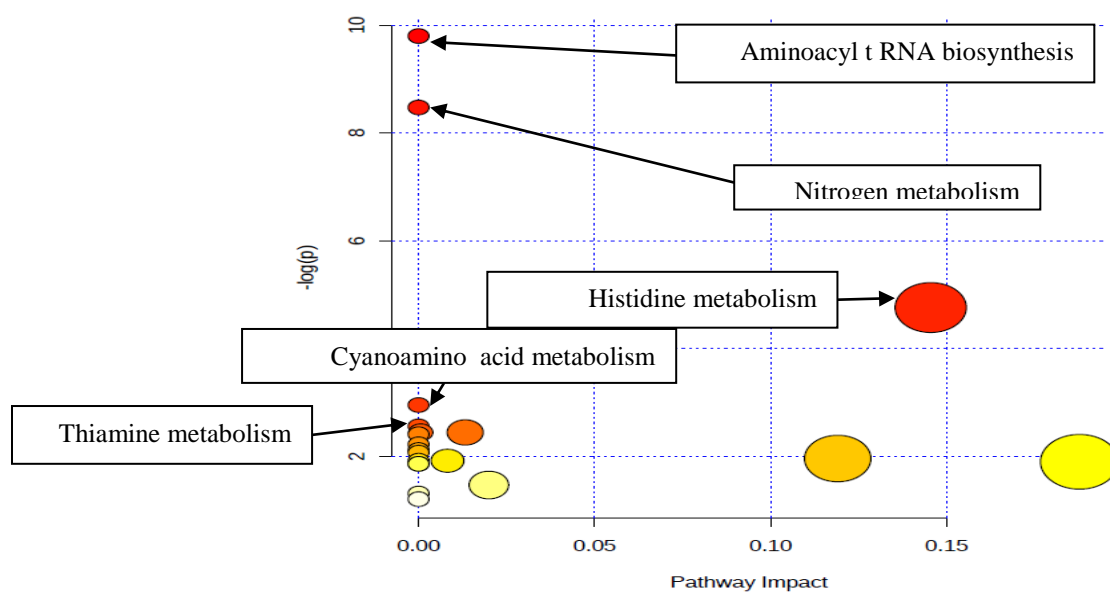
از نرم‌افزار Metaboanalyst Data Base تاثیرگذاری چرخه‌های متابولیتی با p value معنی‌دار به دست آمد که در

جدول ۲. نتایج آنالیز چرخه‌های متابولیکی پس از استفاده از Metaboanalyst Data Base

	Total	Expected	Hits	Raw p
Aminoacyl t- Aminoacyl t-RNA biosynthesis	۷۵	۰/۲۵	۴	۵/۵۴E-05
Nitrogen metabolism	۳۹	۰/۱۳	۳	۲/۸۰ E-۰۴
Histidine metabolism	۴۴	۰/۱۵	۲	۸/۵۳E-03
Cyanoamino acid metabolism	۱۶	./۰۵	۱	5/20E-02
Thiamine metabolism	۲۴	./۰۸	۱	۷/۷۱E-02
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	۲۷	./۰۹	۱	۸/۶۴E-02
Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	۲۷	./۰۹	۱	8/64E-02
beta Alanine metabolism	۲۸	۰/۰۹	۱	8/95E-02
Methane metabolism	۳۴	./۱۱	۱	1/08E-01
Glutathione metabolism	۳۸	./۱۳	۱	۱/۲۶E-01
Valine, leucine and isoleucine degradation	۴۰	./۱۳	۱	۱/۲۶E-01
Phenylalanine metabolism	۴۵	./۱۵	۱	۱/۴۰E-01
Lysine degradation	۴۷	./۱۶	۱	۱/۴۶E-01
Primary bile acid biosynthesis	۴۷	./۱۶	۱	۱/۴۶E-01
Glycine, serine and threonine metabolism	۴۸	./۱۶	۱	۱/۴۹E-01
Fatty acid metabolism	۵۰	./۱۷	۱	۱/۵۵E-01
Starch and sucrose metabolism	۵۰	./۱۷	۱	۱/۵۵E-01
Arginine and proline metabolism	۷۷	./۲۶	۱	۲/۲۹E-01
Purine metabolism	۹۲	./۳۱	۱	۲/۶۸E-01
Porphyryn and chlorophyll metabolism	۱۰۴	./۳۵	۱	۲/۹۸E-01

Total: تعداد کل متابولیت‌های چرخه‌های متابولیتی، Expected: مورد انتظار، p value

Hits: خام محاسبه شده از آنالیز چند متغیره: Raw p، تعداد متابولیت‌های حاصله از اطلاعات داده شده به نرم افزار



شکل ۳. خلاصه آنالیز چرخه‌ها با روش enrichment analysis: دایره‌های بالاتر و تیره‌تر نزدیک به محور y، نشانگر تاثیر بیشتر آن چرخه است.

## بحث و نتیجه گیری

سرطان کولورکتال یکی از علل مرگ و میر در جهان است. ۹۵٪ این سرطان ناشی از پولیپ روده بزرگ است. این نوع پولیپها اغلب موارد بدون علامت بوده و تنها با انجام معاینه‌ها و آزمایش‌های دوره‌ای و منظم تشخیص داده می‌شوند. لذا اگر این سرطان در مرحله پولیپ یافت شود، قابل پیشگیری است. هم‌اکنون در امریکا تنها ۳۹٪ موارد این سرطان در مرحله اول تشخیص داده می‌شود که قابل درمان است. پس از تشخیص سرطان، میزان زنده ماندن ۵ ساله برای سرطان کولورکتال فقط ۶۳/۵٪ است. ولی اگر پولیپ‌های روده بزرگ سریع تشخیص داده شوند، درصد زنده ماندن به ۹۵٪ خواهد رسید. بنابراین تشخیص اولیه می‌تواند از هزینه پر بار درمان، مانند بستری شدن و جراحی بکاهد [۱۵، ۱۴].

متابونومیکس به مطالعه متابولیتی گفته می‌شود که در انتهای متابولیسم سلولی تولید می‌شوند و نشان می‌دهند که در حال حاضر در سلول چه اتفاقی صورت می‌گیرد. به طور مثال، سلول‌هایی که رشد سرطانی یا پولیپی دارند، نسبت به سلول‌های نرمال تغییر متابولیتی دارند و با مطالعه این تغییرات می‌توان پولیپ، سرطان و سایر بیماری‌های مزمن را تعیین کرد [۱۶].

در این مطالعه با یک روش غیر تهاجمی و ساده، بیومارکرهای متابولیتی حاصله را با استفاده از دستگاه طیف سنجی <sup>1</sup>HNMR شناسائی نموده و هم‌چنین با استفاده از علم کموتریکس نتایج حاصل از طیف <sup>1</sup>HNMR را آنالیز نمودیم. مطابق شکل ۳، چرخه‌های متابولیسم آمینواسیل tRNA سنتتاز، متابولیسم هیستیدین، متابولیسم تیامین، متابولیسم نیتروژن و متابولیسم سیانوآمین از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند.

اولین چرخه مورد توجه، متابولیسم آمینواسیل tRNA سنتتاز است. آنزیم‌های aminoacyl-tRNA (ARS) synthetases با کاتالیز کردن اتصال اسیدهای آمینه به tRNAs مربوطه، اولین مرحله سنتز پروتئین را انجام می‌دهند. آن‌ها علاوه بر دومن‌های کاتالیتیک، حاوی دومن‌های دیگری

هستند که با یک‌دیگر و یا با سایر فاکتورهای تنظیمی سلول، کمپلکس‌های مختلفی را تشکیل می‌دهند. اخیراً نقش ARS در رشد سلول، افتراق، پردازش RNA، فعالیت سیتوکین‌ها و آنژیوژنز مطالعه شده و مشخص گردیده که آن‌ها در بیماری‌های مختلف انسانی از جمله سرطان نقش دارند. بیان نادرست و موتاسیون آن‌ها منجر به فرم‌های مختلف ARS می‌شود که عامل بیماری‌های مختلفی از جمله انواع تومورها می‌باشند. ARS در سرطان کولون، به طور غیر طبیعی افزایش و یا کاهش بیان را نشان داده است [۱۹، ۱۸].

چرخه با اهمیت دیگر، تغییر در متابولیسم هیستامین است. شواهد تجربی زیادی نشان داده شده است که هیستامین نقش مهمی در ایجاد سرطان دارند. اثر پیشنهادی بر این اساس است که هیستامین درجات مختلفی از اتصال اختصاصی به فرم‌های مختلف DNA تخلیص شده را دارد و محققین احتمال می‌دهند که این تعامل بین هیستامین و DNA، شبیه مدولاسیون بیان ژنومیک DNA به وسیله تعدادی از پلی‌آمین‌ها است.

آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز، آنزیمی است که واکنش هیستیدین به هیستامین را به کمک ویتامین B6 کاتالیز می‌کند. فعالیت این آنزیم در سلول‌های سرطانی بالا است. موش‌های دارای فعالیت بالای این آنزیم، میزان بالاتری از سرطان‌زایی در سلول‌های پوست و کولون را نشان داده‌اند. مشاهده شده است که در سلول‌های تومور و پولیپ، فعالیت هیستیدین دکربوکسیلاز افزایش یافته است. هم‌چنین افزایش دفع متابولیت‌های هیستیدین در ادرار موش‌های مبتلا به تومور مشاهده شده است. اگر بیان آنزیم هیستیدین دکربوکسیلاز در سلول‌های سرطانی CT26 کولون موش با افزایش متیلاسیون پروموتور کاهش هم‌راه باشد، رشد تومور سرکوب می‌شود [۱۷].

چرخه قابل توجه دیگر تیامین است. این ویتامین برای فعالیت ۴ آنزیم کلیدی در متابولیسم سلولی: پیرووات دهیدروژناز،  $\alpha$  کتوگلوکوتارات دی‌هیدروژناز در سیکل تری‌کربوکسیلیک اسید، ترانس کتولاز در راه پنتوز فسفات، کمپلکس  $\alpha$  کتو دی‌هیدروژناز زنجیره شاخ‌دار در کاتابولیسم

با تشکر از پرسنل آندوسکوپی بیمارستان امیراعلم و پرسنل و بخش شیمی دانشگاه صنعتی شریف ایران که در انجام این طرح تحقیقاتی ما را یاری نمودند.

## منابع

- [1] Wong CK, Fedorak RN, Prosser CI, Stewart ME, van Zanten SV, Sadowski DC. The sensitivity and specificity of guaiac and immunochemical fecal occult blood tests for the detection of advanced colonic adenomas and cancer. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1657-1664.
- [2] Gorey KM, Luginaah IN, Bartfay E, Fung KY, Holowaty EJ, Wright FC, et al. Effects of socioeconomic status on colon cancer treatment accessibility and survival in Toronto, Ontario, and San Francisco, California 1996-2006. *Am J Public Health* 2011; 101: 112-119.
- [3] Weljie AM, Newton J, Mercier P, Carlson E, Slupsky CM. Targeted profiling: quantitative analysis of  $^1\text{H}$  NMR metabolomics data. *Anal Chem* 2006; 78: 4430-4442.
- [4] Wishart DS. Quantitative metabolomics using NMR. *TrAC Trends Anal Chem* 2008; 27: 228-237.
- [5] Bollard ME, Stanley EG, Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E. NMR-based metabolomic approaches for evaluating physiological influences on biofluid composition. *NMR Biomed* 2005; 18: 143-162.
- [6] Spratlin JL, Serkova NJ, Eckhardt SG. Clinical applications of metabolomics in oncology: a review. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 431-440.
- [7] Madsen R, Lundstedt T, Trygg J. Chemometrics in metabolomics--a review in human disease diagnosis. *Anal Chim Acta* 2010; 659: 23-33.
- [8] Qiu Y, Cai G, Su M, Chen T, Liu Y, Xu Y, et al. Urinary metabolomic study on colorectal cancer. *J Proteome Res* 2010; 9: 1627-1634.
- [9] Cheng Y, Xie G, Chen T, Qiu Y, Zou X, Zheng M, et al. Distinct urinary metabolic profile of human colorectal cancer. *J Proteome Res* 2012; 11: 1354-1363.
- [10] Viant MR. Improved methods for the acquisition and interpretation of NMR metabolomic data. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 943-948.
- [11] Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C, Liu Y, et al. HMDB 3.0--The human metabolome database in 2013. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: D801-807.
- [12] Zamani Z, Arjmand M, Vahabi F, Eshaq Hosseini SM, Fazeli SM, Irvani A, et al. A metabolic study on colon cancer using  $(^1\text{H})$  nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochem Res Int* 2014; 2014: 348712.
- [13] Xia J, Mandal R, Sinelnikov IV, Broadhurst D, Wishart DS. *MetaboAnalyst 2.0*--a comprehensive server for metabolomic data analysis. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: W127-133.
- [14] Mahdavinia M, Bishehshari F, Ansari R, Norouzbeigi N, Khaleghinejad A, Hormazdi M, et al. Family history of colorectal cancer in Iran. *BMC Cancer* 2005; 5: 112.
- [15] Monleon D, Morales JM, Barrasa A, Lopez JA, Vazquez C, Celda B. Metabolite profiling of fecal water extracts from human colorectal cancer. *NMR Biomed* 2009; 22: 342-348.
- [16] Yang XD, Ai W, Asfaha S, Bhagat G, Friedman RA, Jin G, et al. Histamine deficiency promotes inflammation-associated carcinogenesis through reduced myeloid maturation and accumulation of CD11b+Ly6G+ immature myeloid cells. *Nat Med* 2011; 17: 87-95.

اسیدهای آمینه نقش حیاتی دارد. اگر چه تیامین یک کوانتریم نیست، اما به‌طور داخل سلولی بفرم فعال دی فسفات، تیامین پیرو فسفات تبدیل می‌شود. این واکنش توسط آنزیم تیامین پیروفسفو کیناز ۱ صورت می‌گیرد [۲۰].

دو ناقل تیامین، RFC1 و THTR2 هستند. نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به سرطان پستان، کولون و معده در مقایسه با افراد نرمال، کاهش در بیان ناقل THTR2 وجود دارد که به‌علت هیپرمتیلاسیون و داستیلاسیون هیستون پروموتور THTR2 است. شواهد نشان می‌دهد که در سلول‌های سرطانی با آسیب میتوکندری در حالت هیپوکسی، عدم تعادل انواع اکسیژن فعال (ROS) به‌وجود می‌آید که افزایش ROS، می‌تواند منجر به آپوپتوز سلولی و نکروز شود. اما خصوصیت آنتی‌اکسیدانی تیامین و هم‌چنین نقش در سنتز گلوکوتایون آن، می‌تواند سبب کاهش ROS می‌شود [۲۱].

در مطالعه گذشته که بر روی سرطان کولون انجام شده است، تغییر در متابولیت‌هایی مانند اسیدتوروکولیک و اسید ۳-هیدروکسی بوتریک و هم‌چنین ویتامین B6 حائز اهمیت بودند که به ترتیب در متابولیسم اسیدهای صفرای و متابولیسم نقش داشتند ولی تغییر در متابولیت‌ها و چرخه‌های متابولیسمی در پولیپ‌های روده، پیش‌زمینه سرطان کولون می‌باشند.

لذا با استفاده از روش  $^1\text{HNMR}$  و روش‌های کموتریکس، می‌توان تغییر متابولیت‌ها و چرخه‌های متابولیتی تاثیرگذار در پولیپ را مشاهده نمود که در این مطالعه، تغییر در چرخه متابولیسم آمینواسیل tRNA سنتتاز، هیستامین، تیامین، نیتروژن و سیانو آمین قابل توجه می‌باشد. اگر این بررسی در آینده بر روی تعداد بیشتری از نمونه‌ها انجام شود، می‌توان توصیه نمود که از روش  $^1\text{HNMR}$  به عنوان روشی غیر تهاجمی، پیش از انجام کولونوسکوپی و یا سیگموئیدوسکوپی بیماران استفاده نمود.

## تشکر و قدردانی

[20] Reidling JC, Said HM. Adaptive regulation of intestinal thiamin uptake: molecular mechanism using wild-type and transgenic mice carrying hTHTR-1 and -2 promoters. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288: G1127-1134.

[21] Zastre JA, Sweet RL, Hanberry BS, Ye S. Linking vitamin B1 with cancer cell metabolism. *Cancer Metab* 2013; 1: 16.

[17] Garcia-Caballero M, Neugebauer E, Campos R, Nunez de Castro I, Vara-Thorbeck C. Increased histidine decarboxylase (HDC) activity in human colorectal cancer: results of a study on ten patients. *Agents Actions* 1988; 23: 357-360.

[18] Guo M, Yang XL, Schimmel P. New functions of aminoacyl-tRNA synthetases beyond translation. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 668-674.

[19] Kim S, You S, Hwang D. Aminoacyl-tRNA synthetases and tumorigenesis: more than housekeeping. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 708-718.

# Study of colorectal polyps using $^1\text{H}$ Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy

Sedigheh Sadeghi (M.L.D)<sup>1</sup>, Ayda Iravani (M.Sc)<sup>1</sup>, Mohammad Arjmand (Ph.D)<sup>1</sup>, Farideh Vahabi (M.D)<sup>2</sup>, Seyed Mahmood Eshaq Hosseini (M.D)<sup>3</sup>, Akbar Oghalayee(B.Sc)<sup>2</sup>, FatemehMirkhani (M.Sc)<sup>1</sup>, Zahra Zamani (Ph.D)<sup>1\*</sup>

1 - Biochemistry Dept., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

2 - Biotechnology Dept., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

3 - Amir Alam Hospital, Tehran, Iran

(Received: 14 Jun 2014; Accepted: 11 Gan 2016)

**Introduction:** The patients with polyps and ulcerative colitis diagnosis are more susceptible to colorectal cancer. So far, the diagnosis of colorectal diseases has been dependent on invasive procedures, such as sigmoidoscopy and colonoscopy. However, some recent research has been initiated for early diagnosis of colon cancer by using  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance ( $^1\text{H}$  NMR) spectroscopy and chemometrics methods. In this study, spectrum results of patients and samples of normal subjects were compared.

**Materials and Methods:** Participants who referred for colonoscopy (n=40) filled a consent form. They had received liquid diets for last 72 hours. Blood samples were collected in heparinized tubes. Samples were collected from patients who were diagnosed with polyps and also normal subjects. The separated plasma samples were sent for  $^1\text{H}$ NMR spectroscopy using CPMG Spin-echo methods. The samples were analyzed using ProMetab software, with performance of Principle Component Analysis. The different metabolites were identified by their chemical shifts.

**Results:** There were 1624 metabolites in each spectrum. Effective metabolites were detected using Human Metabolome Data Base and effective metabolic cycle were determined using metaboanalyst Data Base.

**Conclusion:** These findings indicated that the metabolism of amino acid tRNA synthase, histidine, cyanoamine and thiamine are the main differentiating metabolic cycles involved in the production of colorectal polyp.

**Keywords:** Colorectal Polyp, Colorectal Cancer, Spectroscopy, Chemometrics

\* Corresponding author. Tel: +98 21 66402770

zamani@pasteur.ac.ir