کوئوروم سنسینگ در باکتری ها

• دکتر حبیب ضیغمی

استادیار باکتری شناسی، مدیر گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان (رئیس اداره آزمایشگاه های استان زنجان)

zeighami@zums.ac.ir

• غزال نادری

کارشناسی ارشد میکروب شناسی، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

• دکتر فخری حقی

استادیار باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

چکیده

برای مدت‌ها باکتری ها به عنوان سلول های منفردی در نظر گرفته می شدند که اساسا در حال تغذیه و تکثیر هستند. شناسایی ارتباط بین سلولی در میان باکتری ها، منجر به فهم این واقعیت شد که عملکرد های هماهنگ با یکدیگر، منحصر به ارگانیسم های یوکاریوتی نبوده و در باکتری ها نیز وجود دارد. به فرآیند هماهنگی و ارتباط بین سلولی که شامل تولید مولکول های خارج سلولی و قابل انتشار (خود القاگرها) و در پی آن تنظیم بیان ژن ها، از جمله ژن های ویرولانس، کوئوروم سنسینگ اطلاق می گردد. از آنجا که فرآیند کوئوروم سنسینگ در تنظیم بیان ژن های ویرولانس دخیل است، هدف مناسبی برای توسعه تکنیک های آنتی کوئوروم سنسینگ تراپی، بدون وابستگی به استفاده از آنتی بیوتیک ها، قرار گرفته است. آنتی کوئوروم سنسینگ تراپی به عنوان استراتژی کارآمدی در مبارزه با عفونت های باکتریایی در نظر گرفته می شود و از آنجا که هیچ گونه فشار انتخابی اعمال نمی نماید، مقاوم شدن پاتوژن های مقاوم به چند دارو به این تکنیک غیر محتمل است. چالش آینده پزشکان در این مورد، به کار گرفتن این سیستم سیگنالینگ وابسته به خود القاگرها به منظور توسعه عوامل درمانی موثر یا تکنیک های پیشگیری کننده خواهد بود.

کلمات کلیدی: باکتری، کوئوروم سنسینگ، آنتی کوئوروم سنسینگ تراپی

مقدمه

کوئوروم سنسینگ فرآیندی است که دید ما را نسبت به نحوه زندگی باکتری ها تغییر داده است. بدین معنی که در گذشته، باکتری ها موجوداتی منفرد به شمار می آمدند و اعتقاد بر این بود که بقای خود را از طریق سازگار شدن با شرایط محیطی و بدون برقراری هیچ گونه ارتباطی، تضمین می نمایند. ولی امروزه محققان به وجود سیگنالینگ و ارتباط سلول به سلول در باکتری ها و میان کنش آن ها از طریق تبادل اطلاعات با سایر سلول ها پی برده اند. بنابراین نتیجه حاصل شده، از این قرار است که وجود شبکه سیگنالینگ در باکتری ها، یک جنبه پیچیده و ضروری در زندگی آن ها است. از این رو، جای تعجب ندارد که تحقیق در این زمینه، بسیار پویا و فعال باشد. طوری که از سال ۱۹۹۶ به بعد، تحقیق در مورد کوئوروم سنسینگ گسترش یافت و پیشرفت در کشف حقایق مربوط به آن، تا به امروز ادامه یافته است.

طی دو دهه اخیر، دانسته های بشر از رفتار میکروب ها بسیار افزایش یافته و امروزه می دانیم که ارگانیسم های تک سلولی، از ظرفیت فوق العاده ای برای برقراری روابط اجتماعی برخوردارند و این که برقراری ارتباط و تشکیل تیم کاری، به اندازه رقابت بر سر کلونیزاسیون در مناطق جدید، انتشار در مواد غذایی و مبارزه با دفاع میزبان اهمیت دارد.

پس از مشخص شدن نقش کوئوروم سنسینگ در فرآیندهای حیاتی مختلف از جمله بیان فاکتورهای ویرولانس و ایجاد عفونت های باکتریایی مقاوم و از طرفی شیوع در

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

حال گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی، اندیشه مبتنی بر به کار گرفتن این سیستم به منظور طراحی داروهای جدید بر مبنای هدف قرار دادن مستقیم فاکتورهای ویرولانس، به امید یافتن راه حـــل برای بحران بروز مقاومت به آنتی بیوتیک ها، رواج یافت.

به واقع، کوئوروم سنســـینگ را می توان این گونه معرفی نمود: «مهم ترین مبحث بیولوژی مولکولی در دهه اخیر»

کوئوروم سنسینگ

مدت مدیدی، باکتری ها به عنوان سلول های منفردی در نظر گرفته می شدند که اساسا در جستجوی یافتن مواد غذایی و تکثیرند و از پتانسیل محدودی برای برقراری میان کنش با یکدیگر برخوردارند [۲ و ۱].

در اوایـــل دهـــه ۱۹۷۰ تصور موجـــود از زندگی انفرادی باکتری ها، با کشف این که قادر به برقراری ارتباط بین سلولی از طریق مولکول های کوچکی به نام ســـیگنال هســـتند، به چالش کشیده شد.

اولیـــن مدرک مبتنی بـــر برقراری ارتباط بین ســـلولی در باکتری‌هـــا از مطالعـــات انجام گرفته توســـط دانشـــمندی به نـــام نیلســـون (Nealson) بـــر روی ویبریو فیشـــری (Vibrio fischeri) و ویبریو هاروئی (Vibrio harveyi) که باکتـــری های دریایـــی تولید کننده نـــور و به اصطلاح لومینســـانت می باشند، به دســـت آمد. نتایج حاصل، بیانگر برقراری ارتباط همزیستی ویبریو فیشری با یک نوع ماهی از نوع squid به نام Euprymna scolopes است.

تحقیقـــات صورت گرفته بیانگر آن اســـت که باکتری ها در اندام درخشـــان ماهی (Light organ)، یعنی در محلی که میزان تراکم ســـلولی به $۱۰^{۱۱}$ -$۱۰^{۱۰}$ ســـلول در هر میلی لیتر می رسد، کلونیزه گشته و رشد می نمایند. سیگنال های تولیدی توسط این باکتری ها به اندازه کافی تجمع یافته و با تنظیم بیان ژن های لوســـیفراز، لومینسانس را فعال می کنند. در واقع وجود تراکم سلولی بالا برای تولید نور الزامی است و در صورت پایین بودن غلظت ســـیگنال ها، که نشانگر کم بودن میزان دانســـیته ســـلولی باکتری ها می‌باشد، هیچ گونه بیولومینسانسی مشاهده نمی گردد [۳].

واژه کوئوروم سنســـینگ توســـط Greenberg در سال ۱۹۹٤ چنین معرفی شـــد: بیان ژن ها به صورت هماهنگ و وابسته به تراکم سلولی در جمعیت هایی که سیگنال ها را (که به حد آستانه رسیده اند) حس کرده و به طور همزمان به آن‌ها پاسخ می دهند.

از سال ۱۹۹٦ تحقیق در مورد کوئوروم سنسینگ گسترش یافت و تا آن جا پیشرفت کرد که صدها گروه از شاخه های مختلف علمی مثل بیولوژی تکامل، علوم کامپیوتری، ریاضی و مهندســـی در کنار هم جمع شدند تا به این رشته پویا و در حال گسترش سر و سامان دهند.

طی دو دهه اخیر دانسته های ما از رفتار میکروب ها بسیار بیشتر شده اســـت و امروزه می دانیم که ارگانیسم های تک ســـلولی از ظرفیت فوق العاده ای بـــرای برقراری رفتارهای اجتماعی و هماهنگ با یکدیگر برخوردارند که در بقای آن‌ها اهمیت زیادی دارد [٤]. به عبارتی عملکرد گروهی باکتری‌ها، موجب دفاع گروهی در برابر ســـایر رقبـــای پروکاریوتی و مکانیسم های دفاع یوکاریوتی می گردد [۵].

باکتری ها برای این که در محیط های مختلف مثل محیط بیرون یا داخل بدن انسان بقا داشته باشند، نیازمند درک شرایط محیطی و پاسخ به آن شـــرایط هستند. به عبارت دیگر باید بـــرای حفظ بقای خویش، خود را با شـــرایط موجود آداپته نمایند که این عمـــل از طریق بیان ژن های مختلف صورت می گیرد. باکتری ها در طی تکامل و برای چالش و پاسخ به محیط بیوتیک (زیســـتی) و آبیوتیک (غیرزیستی) که در آن مستقرند یک سری ابزارها را به کار گرفته اند تا به وسیله آن‌ها رفتار خود را تغییر دهند.

برای بیان یکی از ســـاده ترین تنظیمـــات صورت گرفته در باکتـــری ها می توان به تنظیم بیان ژن توســـط اپران لک (lac operan)، در اشرشـــیا کلی اشـــاره کرد که طی آن در صورت وجود لاکتوز در محیط، رپرســـور غیرفعال گشته و موجب القای ژن های دخیل در کاتابولیسم لاکتوز می گردد.

با این وجود، باکتری ها از مکانیسم های بسیار پیچیده تری برای تنظیم بیان ژن های خود در پاسخ به فاکتورهای حاوی اطلاعاتی از محیط باکتری، بهره می گیرند.

مکانیسم مهم مرتبط با آداپته کردن باکتری با محیط اطراف، فرآیند کوئوروم سنسینگ است که می توان آن را نوعی سیستم دو جزئی قلمداد کرد ولی تفاوت های عمده ای با آن دارد.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

بارزترین تفاوت فرآیند کوئوروم سنسینگ و سیستم دو جزئی در این است که در تنظیم بیان ژن به واسطه کوئوروم سنسینگ، انتقال پیام و ارتباط سلول به سلول از طریق سیگنال‌هایی که خود باکتری تولید می‌کند صورت می گیرد، در حالی که در سیستم دو جزئی، پیام یا سیگنال، شرایط محیطی است [٦].

در ابتدا چنین تصور می شد که تنها یوکاریوت ها و ارگانیسم های پرسلولی قادر به هماهنگ نمودن سلول های خود برای انجام یک عملکرد خاص هستند اما طی دو دهه گذشته، ثابت شده که باکتری ها نیز از طریق مکانیسم های پیچیده ای، فعالیت های بیولوژیکی مختلفی را با یکدیگر هماهنگ ساخته و می توانند به ارزیابی تراکم جمعیت خود بپردازند.

بنابراین می توان گفت که کوئوروم سنسینگ، مکانیسمی تنظیمی است که توسط بسیاری از باکتری ها برای دریافت و پاسخ به فاکتورهای متغیر با تراکم سلولی و به کمک بیان ژن‌های خاصی صورت می گیرد [٨ و ٧].

معنی واژه "کوئوروم" در عبارت کوئوروم سنسینگ در دیکشنری PMD و Adv.Learner's به ترتیب این گونه آمده است: حد نصاب، حداقل تعداد افراد که باید در یک جلسه حضور داشته باشند تا جلسه به طور رسمی آغاز و تصمیمی اتخاذ گردد. در ترجمه کوئوروم سنسینگ نیز چنین عباراتی استفاده شده است: زبان گفتگوی باکتری ها، شعور سلولی و سیگنالینگ سلول به سلول.

معمولا فرآیندهایی توسط کوئوروم سنسینگ کنترل می‌شوند که یک باکتری واحد قادر به انجام دادن آن ها نیست؛ ولی زمانی که گروهی از باکتری ها در کنار هم باشند قادر به اتخاذ عملکرد گروهی برای انجام آن خواهند بود. بنابراین کوئوروم سنسینگ به باکتری ها این امکان را می دهد که مانند ارگانیسم های چند سلولی عمل نمایند [٩].

در بیولوژی مولکولی به پدیده ای کوئوروم سنسینگ اطلاق می شود که در آن، یک باکتری قادر به درک اطلاعات و در واقع سیگنال های صادر شده توسط سایر باکتری ها باشد. غلظت سیگنال ها بیانگر تراکم سلولی باکتری های موجود در محیط است و دریافت میزان آستانه (thershold concentration) از سیگنال ها حکایت از آن دارد که سلول ها رشد و تکثیر یافته و تعدادشان افزایش یافته است. زمانی که غلظت سیگنال ها به حد آستانه و به عبارتی حد کوئوروم برسد، این امکان فراهم می شود که باکتری ها تراکم توده سلولی موجود را درک و در پاسخ، یکسری از ژن ها را روشن یا خاموش نمایند [١٠].

می توان کوئوروم سنسینگ را چنین نیز تعریف کرد: مکانیسم ارتباطی سلول به سلول در توده های بیو فیلم که در جهت کنترل عملکردهای سلولی به کار می رود [٤]. در واقع تراکم و قدرت انتشار پایین ماتریکس پلی ساکاریدی موجود در بیو فیلم، شرایط ایده آلی را برای تجمع سیگنال‌ها و القای تولید فاکتورهای ویرولانس به واسطه کوئوروم سنسینگ فراهم نموده و باکتری ها را آماده حمله به میزبان می سازد [١١].

به سیگنال های کوئوروم سنسینگ، خود القاگر (Autoinducer) گفته می شود چرا که توسط خود سلول‌ها تولید شده و مولکول های سنتز شده، اغلب به طور مثبت بر سنتز خود تاثیر می گذارند [١٠].

وقایع صورت گرفته در طی کوئوروم سنسینگ باکتری ها را می توان به طور خلاصه در چهار مرحله بیان نمود:

١- تولید سیگنال ها توسط باکتری های موجود

٢- ترشح سیگنال ها به محیط اطراف باکتری ها از طریق انتقال فعال یا انتشار و تجمع سیگنال های تولیدی تا زمانی که به حد آستانه برسند.

٣- رسیدن غلظت سیگنال ها به حد آستانه و شناسایی توسط رسپتورهای اختصاصی موجود در سیتوپلاسم یا غشای سیتوپلاسمی.

شناسایی شدن سیگنال ها توسط رسپتورها، علاوه بر بیان ژن های ضروری برای انجام عملکرد های گروهی، منجر به فعال سازی تولید مجدد سیگنال ها می گردد.

٤- تغییر در تنظیم بیان ژن های ضروری برای مواجهه با شرایط خاصی که باکتری ها با آن روبرو می شوند. امروزه مشخص شده که بخش بارزی از ژنوم باکتریایی (١٠-٤ درصد) و پروتئوم (≤٢٠درصد) تحت تاثیر فرآیند کوئوروم سنسینگ قرار دارد. از این مطلب بر می‌آید که باکتری های پاتوژن با استفاده از کوئوروم سنسینگ نه تنها می توانند تولید فاکتورهای ویرولانس خود را کنترل نمایند، بلکه

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

قادر خواهند بود که با نیازهای متابولیکی جامعه ای که در آن حضور دارند آداپته شوند [۱۰].

از جمله فرآیندهـــای فیزیولوژیکی تحت کنترل کوئوروم سنسینگ می توان به موارد زیر اشاره کرد:

بیولومینســـانس، تولیـــد متابولیت های ثانویـــه، تولید آنتی بیوتیک، ســـوارمینگ، تشـــکیل بیو فیلم، حفاظت از مکانیسم دفاعی میزبـــان، صلاحیـــت دار شـــدن (Competence)، اسپورولاســـیون، تولیـــد فاکتورهـــای ویرولانـــس و غیره [۱۲ و ۱۳].

انواع سیستم های کوئوروم سنسینگ

سیســـتم های کوئوروم سنســـینگ مختلفی در باکتری ها شناسایی شده که عبارتند از:

- کوئـــوروم سنســـینگ تیپ LuxI/R که اکثرا توســـط باکتری‌های گرم منفی مورد استفاده قرار می گیرد و مولکول سیگنال به کار رفته در آن از جنس اسیل هوموسرین لاکتون (AHL) اســـت. تیپ LuxI/R اولین بار در ویبریو فیشری شناســـایی شـــد و از آن پس در سایر باکتری های گرم منفی همین الگو ولی با نامگذاری های مختلف بسته به نوع باکتری بـــه کار رفت [۵]. این سیســـتم غالبا برای برقـــراری ارتباط داخل گونه ای بـــه کار می رود زیرا اختصاصیت بالایی بین پروتئین‌های LuxR و ســـیگنال های AHL مرتبط با آن ها وجود دارد [۳].
- سیستم های سیگنالینگ پپتیدی که بیشتر توسط باکتری های گرم مثبت مورد استفاده قرار می گیرد [۱].

به‌فرآیند کوئوروم سنسینگ در باکتری‌های گرم‌مثبت، کوئوروم سنسینگ دو جزئی نیز گفته می شود چرا که نحوه تنظیم بیان ژن در آن ها به چگونگی تنظیم بیان در سیستم دو جزئی شباهت دارد [۱۴].

- ســـیگنالینگ AI-2 / LuxS برای برقراری ارتباط بین گونه ای
- سیگنالینگ اپی نفرین – نوراپی نفرین به کمک سیگنال AI-3 که برای ارتباط بین گونه ها و همچنین قلمروها به کار می رود [۱].

انواع سیگنال های به کار رفته در کوئوروم سنسینگ

به سیگنال های شبه هورمون به کار رفته در فرآیند کوئوروم سنســـینگ، خود القاگر (Autoinducer) یا فرومون گفته می‌شود و می توان آن ها را "واژگان شیمیایی" به کار رفته در طی گفتگوی باکتری ها نامید. باکتری ها در طی رشد، خود القاگرها را تولید کرده و رسیدن آن ها به حد آستانه، منجر به فعال شدن سیستم کوئوروم سنسینگ می گردد [۹].

امروزه انواع مختلفی از سیگنال ها (فرومون ها) شناسایی شده که می توان آن ها را در چند دسته قرار داد:

اســـیل هوموســـرین لاکتون ها و به بیان دیگر هوموسرین لاکتون های اسیله شده (AHLs , acyl-HSL , HSL) که عمدتا در ســـیگنالینگ باکتری های گرم منفی نقش داشته و توسط پروتئینی به نام LuxI (AHL سنتاز) تولید می‌شوند. AHLها یک حلقه هوموســـرین لاکتون حفاظت شده دارند که از طریق پیوند آمیدی به زنجیره های اسیلی (acyl) اتصال یافته است. تعداد اتم های کربن موجود در زنجیره‌های اسیلی، بین ٤ تا ١٤ عدد متغیر اســـت و طی مسیر سنتز اسید چرب تولید می گردد (شـــکل ۱) [۱]. متفاوت بودن طول زنجیره و میزان اشباع بودن اســـکلت اسید چرب در بین سیگنال های AHL، لازمه اختصاصی بودن سیگنالینگ باکتریایی است [۳]. در صورتـــی که تعداد اتم های کربن بیش از ١٦ عدد باشـــد، موجب بروز تغییرات ساختمانی در زنجیره اسیلی می گردد و در نتیجه آن،AHL مذکور با پروتئین های دیگر یا با غشاها میـــان کنش غیر اختصاصی برقرار نمـــوده و دیگر، به عنوان سیگنالی اختصاصی به شمار نمی رود [٤]. در موقعیت کربن شماره ۳ از زنجیره های اسیلی، تغییرات اکسیداتیو مثل افزوده شـــدن گروه کربونیل یا هیدروکســـیل و یا احیا شدن زنجیره صورت گرفته و آن ها را از این نظر نیز متمایز می نماید [۱].

(S-آدنوزیل متیونین(SAM) سوبســـترای مورد استفاده پروتئین های تیپ LuxI برای سنتز حلقه هوموسرین لاکتون در AHL ها می باشـــد و به عنـــوان دهنده عامل آمین عمل می کند. اســـید های چرب نیز در پی متابولیسم لیپید توسط پروتئین های حامل اســـیل (ACP[1]) حاصل می شوند [١٦ و ١٥]. به AHL ها و ســـایر سوبسترا هایی که تولید شان به

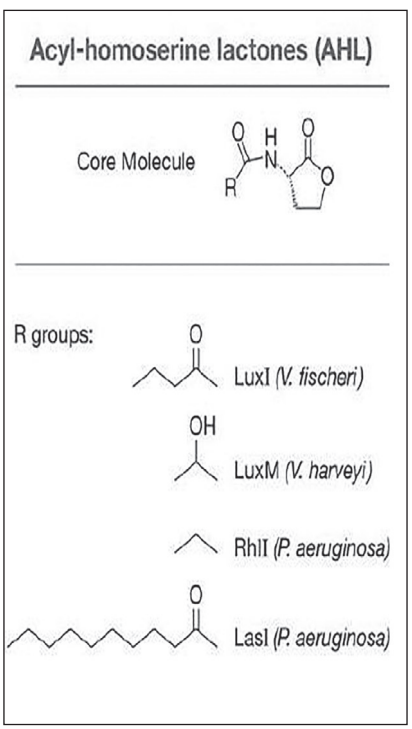
1- Acyl Carrier Protein

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

SAM به عنوان سوبسترا بستگی دارد، درکل AI [۱۴] و به AI های از نوع AHL ,AI-1 اطلاق می گردد [۹].

تنوع ساختاری موجود در AHL ها موجب می شود که توسط LuxR های مختلف شناسایی شوند [۱]. LuxRها پروتئین هایی هستند که به عنوان رسپتور سیتوپلاسمی بوده و دومن C- ترمینال آن ها، شناسایی AHL ها را بر عهده دارد [۱۵].

AHL ها سیگنال هایی محلول بوده و می توانند به راحتی به محیط خارج سلول انتشار یافته و در آنجا تجمع یابند [۹]. LuxR ها در پی شناسایی کردن AHL ها دایمریزه گشته و با اتصال به مناطق پروموتری ژن های هدف، رونویسی از آن ها را فعال یا مهار می نمایند [۱۵]. همچنین کمپلکس LuxR-AHL، امکان اتصال به توالی‌های lux (lux boxes) در DNA و افزایش بیان ژن های مذکور را فراهم می نماید. به تنظیم مثبتی که انجام می شود autoinduction گفته می شود [٤]. لازم به ذکر است که در گذشته این واژه یعنی autoinduction به جای واژه کوئوروم سنسینگ به کار می رفت [۱۲].



شکل۱) هسته مرکزی اسیل هوموسرین لاکتون ها و انواع زنجیره های جانبی نشان داده شده است

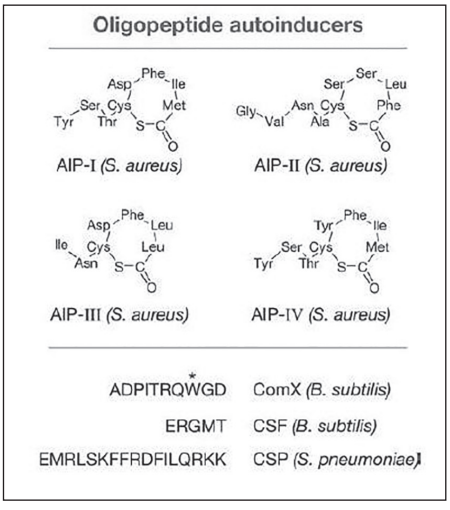
مولکول های سیگنال به کار رفته در باکتری های گرم مثبت، الیگوپپتیدی (شکل ۲) بوده و به نام کلی Autoinducing Peptids (AIP) نامگذاری می شوند و در ابتدا، به صورت پیش ساز تولید می گردند (pro-AIP).

از آنجا که غشای سلولی نسبت به پپتیدها نفوذ ناپذیر است، ترانسپورترهایی اختصاصی از نوع ABC ترانسپورتر برای ترشح آن ها مورد نیاز است. پردازش پیش سازهای AIP نیز بر عهده ترانسپورترها می باشد. سپس AIP پردازش شده که تعداد آمینو اسیدهای آن از ۵ تا ۱۷ عدد متغیر است، تحت تغییرات پس ترجمه ای قرار گرفته و به صورت خطی یا حلقوی در می آید. پپتیدهای خود القاگر خارج سلولی توسط سنسورهای هیستیدین کینازی متصل به غشا شناسایی شده و پس از اتصال به AIP، اتوفسفریلاسیون را در آمینو اسید "هیستیدین" حفاظت شده خود موجب می شوند. سپس گروه فسفات از هیستیدین به آسپارتات حفاظت شده در پروتئین تنظیم کننده پاسخ موجود در سیتوپلاسم منتقل می‌شود. فسفریلاسیون پروتئین تنظیم کننده پاسخ، رونویسی از ژن‌های هدف کوئوروم سنسینگ را کنترل می کند.

در باکتری های گرم مثبت، ژن های مرتبط با ترانسپورتر AIP، رسپتور هیستیدین کینازی (HK) و تنظیم کننده پاسخ (RR)، بر روی یک اپران قرار دارند. بیان این اپران توسط فسفریله شدن فعال گشته و منجر به تولید مجدد سیگنال‌ها و پاسخ کوئوروم سنسینگ می گردد [۱٤]. رسپتورهای AIPها در غشای سیتوپلاسمی واقع شده و دارای ۵ تا ۸ قطعه بین غشایی دومن N-ترمینال بوده و یک دوم C- ترمینال از نوع هیستیدین‌کیناز دارند. با اتصال AIP، رسپتور کینازی فعال شده و اتوفسفریله می گردد. سپس، رسپتور فعال شده، تنظیم کننده پاسخ را فسفریله نموده و این عمل به نوبه خود، بسیاری از ژن ها مثل ژن‌های مربوط به AIP، رسپتور، ABC ترانسپورتر و تنظیم کننده پاسخ را فعال می نماید. سیگنال های دسته سوم و به عبارتی AI-2ها (شکل ۳) از فورانون ها (furanones) مشتق شده اند و در برخی مثل ویبریوهاروئی از جنس فورانوزیل بورات دی استر می‌باشند. AI-2 توسط ژن luxS کد شده و به پروتئین LuxP (هومولوگ LuxR در گرم منفی ها) متصل می شود. رسپتور هدف این

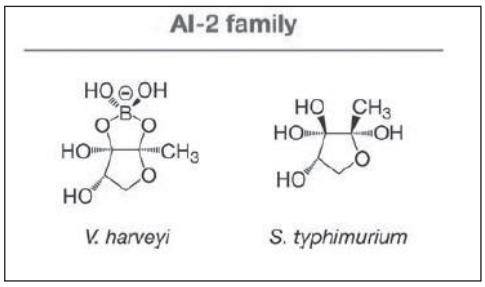
[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

سیگنال بسته به نوع گونه باکتریایی متفاوت است. به عنوان مثال، رسپتور ویبریو هاروئی برای اتصال به AI-2 ,LuxP است (آنالوگ LuxR). سپس کمپلکس AI-2/LuxP به سنسور هیستیدین کینازی متصل به غشا تشکیل اتصال یافته و انتقال سیگنال از طریق فسفریلاسیون چند مرحله ای، مشابه آنچه در مورد AIP ها وجود دارد، صورت می گیرد. در سالمونلا تایفی موریوم، AI-2 خارج سلولی به ترانسپورتر Lsr اتصال یافته، به داخل سلول وارد می شود و بر روی ژن های تنظیم کننده AI-2، اثر می‌گذارد [۱۷]. لازم به ذکر است که تولید AI-2 وابسته به فاز رشد باکتری است و در فاز log به اوج می رسد [۹].



شکل ۲) سیگنال های الیگوپپتیدی

AI-2 طی یک سری واکنش های آنزیمی از S- آدنوزیل متیونین (SAM) حاصل می شود. SAM در حضور ترانس متیلاز، یک گروه متیل از دست داده و به S - آدنوزیل هوموسیستئین (SAH) تبدیل می شود. SAH خاصیت توکسیک داشته و توسط آنزیم Pfs تحت هیدرولیز قرار گرفته و با آزاد شدن یک مولکول آدنوزین، به S- ریبوزیل هوموسیستئین (SRH) تبدیل می گردد.



شکل ۳) سیگنال AI-2

در برخی باکتری ها مثل انتروهموراژیک اشریشیا کلی سیگنالی به نام AI-3 تولید شده و در فعال سازی ژن های دخیل در کلونیزاسیون در دیواره روده و ایجاد زخم های روده‌ای نقش ایفا می نماید. همچنین سیگنالینگ صورت گرفته به واسطه AI-3، توسط اپی نفرین و نوراپی نفرین نیز فعال می گردد. نامگذاری دیگر این سیستم به صورت AI-3/اپی نفرین/نوراپی نفرین نیز حکایت از این حقیقت دارد.

دو هورمون اپی نفرین و نوراپی نفرین یوکاریوت ها، علاوه بر اثری که بر سیستم عصبی دارند، انقباضات خفیف روده و ترشح یون های پتاسیم و کلرید را سبب شده و بر عملکرد AI-3 اثر می گذارند.

سیگنال AI-3، ترکیبی آروماتیک بوده و فاقد اسکلت قندی، مانند آن چه در AI-2 وجود دارد، است و توسط آنزیم LuxS تولید می گردد. در واقع LuxS، تنها در تولید AI-2 نقش ندارد بلکه آنزیمی است که در مسیر سنتز متیونین و SAM به کار می رود طوری که در موتانت luxS, S- ریبوزیل هوموسیستئین در داخل سلول تجمع یافته و توان تبدیل شدن به هوموسیستئین را نخواهد داشت.

در مطالعات سال های اخیر مشاهده شده که اگر مدفوع افراد سالم داوطلب، تحت شرایط بی هوازی کشت داده شود، اعضای فلور روده موجود در مدفوع به تولید AI-3 می پردازند. به علاوه، AI-3 در باکتری های فلور نرمال روده مثل اشرشیا کلی،کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر کلاوآله نیز شناسایی شده است.

از نتایج به دست آمده بر می‌آید که تولید AI-3 محدود به EHEC نیست و این امکان وجود دارد که سیگنال مذکور، در برقراری سیگنالینگ بین گونه ای در باکتری های روده ای

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

نقش داشته باشد [۱].

در کل ٤ شـــرط اساسی باید رعایت گردد تا یک مولکول به عنوان سیگنال در فرآیند کوئوروم سنسینگ به کار رود که عبارتند از:

۱- مولکول مورد نظر خود القاگر باشد، یعنی توانایی تنظیم خود را داشته باشد.

۲- در طی رشـــد ارگانیســـم و در یک مرحله خاص، که بستگی به هر گونه باکتری و تراکم سلولی دارد، تولید شده و یک مولکول وابسته به تراکم سلولی به شمار آید.

۳- اگر به یک موتانت که در تولید سیگنال دچار نقص و جهش شده افزوده گردد، منجر به تحریک تولید سیگنال در آن گردد.

٤- توان برقراری پاســخ فیزیولوژیکی مربوط به متابولیزه کردن یا دتوکسیفیه ساختن خود مولکول را داشته باشد [۲].

در توضیح شرط چهارم از موارد ذکر شده، می توان چنین گفت که ســیگنال های کوئوروم سنســینگ به جز عملکرد ســیگنالینگ که مطالعه چند دهه اخیر بر آن ها متمرکز شده است، دارای عملکردهای دیگری نیز می باشند. به عنوان مثال، باکتریوســین ها پپتیدهای ضد میکروبی کوچکی هستند که توسط باکتری های گرم مثبت همچون لاکتوکوکوس لاکتیس تولید شده و به علت داشتن فعالیت آنتی بیوتیکی، چند دهه مورد مطالعه قرار گرفته اند. اخیرا مشاهده شده که در بسیاری از موارد، باکتریوسین ها به عنوان مولکول های سیگنال عمل می کنند و بر سنتز خودشان اثر تنظیمی دارند؛ درست مانند مولکـــول هایی که طی چند دهه قبل بـــه عنوان خود القاگر شناخته شده بودند [۲].

دانشـــمندان به این واقعیت پی بردند که بســـیاری از آنتی بیوتیک های کاملا شـــناخته شده نیز به عنوان سیگنال عمل کـــرده و در غلظتی پایین تـــر از غلظت مهاری خود اثر قابل توجهی بر تنظیم بیان ژن های باکتری ها دارند.

به عنوان مثال، کارباپنم هـــا گروهی از آنتی بیوتیک های بتالاکتامی هستند که در اواخر دهه ۱۹۷۰ شناسایی شدند.

کارباپنم ها به طور طبیعی توســـط تعـــدادی از باکتری ها مانند Erwinia carotovora و Serratia marcescens تولید می شوند. تولید کارباپنم توسط این پاتوژن های گیاهی به پیروزی در هنگام رقابت با سایر باکتری ها کمک می کند، همچنین موجب غلبه یافتن بر مکانیســـم های دفاعی میزبان می گردد و شانس خود را برای کلونیزاسیون در میزبان افزایش می دهد [۱۵].

کوئوروم کوئنچینگ (Quorum Quenching) و آنتی کوئوروم سنسینگ تراپی

باکتری های موجود در یک محل، با یکدیگر بر سر منابع محدود به رقابت می پردازنـــد، آن هایی که قادر به تخریب کوئوروم سنسینگ ســـایر باکتری های وابسته به این فرآیند باشند، نسبت به سایرین مزیت می یابند.

به علاوه میزبان یوکاریوتی با مداخله در ارتباط ســـلول به سلول باکتری ها، از کلونیزاسیون باکتری های پاتوژن متکی به کوئوروم سنسینگ برای تولید فاکتورهای ویرولانس، ممانعت می نماید.

به مکانیســـم هایی که به منظور مداخلـــه با ارتباطات بین سلولی در باکتری ها تکامل یافته است، کوئورومکوئنچینگ اطلاق می شـــود و به معنی "مهار کوئوروم سنسینگ" است [۳]. ایـــن فرآیند به طور طبیعی در میـــان پروکاریوت ها و یوکاریوت‌ها وجود دارد ولی محققان بر این باورند که می‌توان از این فرآیند به نفع بشـــر استفاده کرد. به عبارتی می‌توان از مهار فرآیند کوئوروم سنسینگ به عنوان اهداف درمانی و برای ساختن مواد سنتتیک استفاده نمود.

کشـــف راه هـــای درمانـــی و داروهای جدیـــد، یکی از عرصه‌های تحقیقاتی مهم در دهه اخیر است و به مهم ترین مسئله پزشکی مدرن تبدیل شـــده است. در واقع از آنجا که بروز مقاومت به درمان سنتی با آنتی بیوتیک ها رو به افزایش است، نیاز به یافتن راه حلی مناسب برای مقابله با این بحران احساس می شود [۱۸].

یک راه چاره این اســـت که به جای کشـــتن یا مهار رشد باکتری ها، ویرولانس آن ها را به طور اختصاصی کاهش داد. این روش را می توان با هدف قرار دادن سیستم های تنظیمی کـــه نقش کلیدی در رونویســـی از فاکتورهـــای ویرولانس باکتری‌ها به عهده دارند، به انجام رساند [۱۳].

در واقع از آنجا که سیستم سیگنالینگ کوئوروم سنسینگ در تنظیم بیان فاکتورهای ویرولانس به کار می رود، تخریب آن منجر به پیشگیری از عفونت های میکروبی خواهد شد و

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

انگیزه خوبی را برای توسعه درمان هایی بر پایه مهار کوئوروم سنسینگ باکتریایی ایجاد نموده است [٤] و چندین شرکت بیوتکنولوژیکی حمایت از طراحی مواد مهار کننده کوئوروم سنسینگ برای کاهش بیماری زایی و جلوگیری از تشکیل بیوفیلم های باکتریایی را متقبل شده اند [١٩].

در کل ترکیباتی که مهارکننده کوئوروم سنسینگ می باشند را می توان در دو دسته کلی جای داد:

١- مهارکننده های طبیعی

٢- مهارکننده های سنتتیک

مهارکننده های طبیعی کوئوروم سنسینگ

برخلاف انسان و پستانداران که برای دفاع علیه عوامل خارجی مهاجم، دارای سیستم ایمنی هستند، گیاهان فاقد دستگاه ایمنی برای مبارزه با پاتوژن مهاجم می باشند؛ ولی در عوض در آن ها سیستم های دفاعی بیوشیمیایی و سلولی خاصی تکامل یافته که با تولید ترکیبات ضد کوئوروم سنسینگ، به تخریب کوئوروم سنسینگ پاتوژن ها اقدام نمایند. در واقع گیاهان برای مدتی طولانی به عنوان منبع دارویی مطرح بوده اند و امروزه، ترکیبات طبیعی و بیولوژیکی مشتق شده از آن ها، منجر به طراحی داروهای جدید برای درمان بیماری های مختلف شده است [٢٠]. ترکیبات مهار کننده کوئوروم سنسینگ را می توان از منابع طبیعی مختلف همچون گیاهان و قارچ ها به دست آورد. از آنجا که گیاهان و قارچ ها طی میلیون ها سال، از زندگی همزیستی با باکتری ها برخوردار بوده اند، احتمالا در طی تکامل، مکانیسم ها و مواد مختلفی به منظور مهار کوئوروم سنسینگ، در آن ها ایجاد شده است [٢١].

اولین ترکیب مهارکننده کوئوروم سنسینگ از سطح جلبک بزرگ و قرمز استرالیایی به نام Delisea pulcbra به دست آمد. سطح این جلبک برخلاف سایر گیاهانی که همراه با هم در یک محیط حضور دارند، توسط بی مهرگان دریایی یا گیاهان دیگر پوشیده نمی شود به همین دلیل هم بود که توجه بیولوژیست های دریایی را به سمت خود معطوف کرد. بررسی این جلبک نشان داد که سطح آن از فورانون های هالوژن دار (مثل فورانون های برم دار) که دارای شباهت ساختاری با AHL ها می باشند، پوشیده شده است.

فورانون‌ها، به پروتئین های LuxR باکتری ها متصل شده و موجب تخریب آن ها می گردند. استراتژی به کار گرفته شده توسط این جلبک، به واسطه مهار کوئوروم سنسینگ باکتری‌ها و در پی آن، مهار تشکیل بیوفیلم، مانع کلونیزاسیون باکتری‌ها در سطح خود می گردد؛ در حالی‌که هزاران گونه باکتریایی در آب وجود دارد [١٧ و ٣]. پوشیده شدن سطح جلبک به چند دلیل به آن آسیب می زند: فتوسنتز جلبک را کاهش می دهد، جلبک را متحمل فشار کرده و زیستگاهی را برای بسیاری از انگل های گیاهی فراهم می آورد [١٦].

آزمایش های انجام شده بیانگر آن است که غلظت سطحی فورانون ها، با میزان کلونیزاسیون باکتری ها رابطه معکوس دارد. [١٦] به نحوی که با اتصال به رسپتورها، موجب القای تغییرات کنفورماسیونی در آن ها شده و ناپایدار شدن رسپتور را سبب می گردند [١٩]. جلبک حداقل ٣٠ تیپ مختلف از فورانون های هالوژن دار را تولید می نماید و این ترکیبات در وزیکول های اختصاصی تجمع یافته و سپس به سطح جلبک ترشح می شوند [٢].

متابولیت های ثانویه ای همچون دی سولفیدها و تری سولفیدهایی که از سیر استخراج می شوند، دارای اثر مهاری بر سیستم LasR سودوموناس آئروژینوزا می باشند [٢].

رزمارینیک اسید (Rosmarinic acid) به دست آمده از خانواده نعناعیان، رونویسی از الاستاز و پروتئاز را مهار کرده و همچنین مانع تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا می‌شود.

قارچ های مرتبط با ریشه گیاه مثل Phialocephala fortini و Meliniomyces variabili و یک ایزوله از آسکومیست ها، توان تخریب AHL ها را داشته و به عنوان گزینه ای مناسب برای کاهش ویرولانس باکتریایی مطرح می‌باشند. [٢٠].

ترکیبات تولید شده توسط گیاهانی مثل هویج، دانه سویا، زنبق آبی، گوجه فرنگی، فلفل، سیر و جوانه نخود فرنگی قادر به مداخله نمودن با کوئوروم سنسینگ باکتریایی می باشند.

Medicago truncatula گیاهی از خانواده لگوم‌ها می‌باشد که در پاسخ به AHL های تولید شده توسط سودوموناس آئروژینوزا و سینوربیزوبیوم ملیلوتی (Sinorbizobium meliloti)، بیش از ١٥٠پروتئین تولید

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

می نمایـــد. به عبارتی، گیاه مذکور در پاســـخ به AHL ها، ترکیباتی را ترشح می کند که مانع سیگنالینگ توسط AI-2 می شود. در واقع احتمال می رود که گیاه از سیگنالینگ بین باکتری های مولد AHL، سود می برد و به همین دلیل دارای اثر افزایشی بر روی آن است [۱۹].

برخـــی بخش های گیـــاه مثل جوانه هـــای نخود فرنگی (Pisum sativum) نیز ترشحاتی دارند که حاوی ترکیبات مداخله کننده با سیستم کوئوروم سنسینگ می باشد [۲۰].

افزایش بیـــان ژن aiiA در گیاه تنباکـــو و گوجه فرنگی، مقاومت در برابر Erwinia carotovora را از طریق مهار کوئوروم سنســـینگ که برای تولیـــد فاکتورهای ویرولانس مورد نیاز باکتری لازم است، سبب می شود. به علاوه کشت همزمـــان Bacillus thuringiensis و E.carotovora، بیماری گیاهی ایجاد شـــده توســـط E.carotovora را در عملکردی وابسته به aiiA، کاهش می دهد [۱۹].

ترکیبات ریشه یونجه، تولید آنتی بیوتیک زوئیتروماپسین A در باســـیلوس ســـرئوس را تحریک کرده و موجب مهار بیماری‌زایی Pythium torulsum می گردند [۱۷].

مواد اســـتخراج شـــده از گریپ فروت، حاوی ترکیبات بیواکتیو مثل فوروکومارییـــن، کارتنوئید، لیمونوئید، پکتین و کومارین است که دارای فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی می باشـــند. لازم به ذکر اســـت که فوروکومارین ها عملکرد مهاری علیه AI-1 و AI-2 داشته و از تشکیل بیو فیلم در، E.coli , S.typhimurium و P.aeruginosa ممانعت می کنند [۲۰].

دانشمندان طی تحقیقات جدید خود، مهار کننده ای به نام QSI-1 را از روده ماهـــی Carassius auratus gibelio جدا نمودند. این مهارکننده قادر اســـت که از مولکول های AHL، به عنوان تنها منبع انرژی اســـتفاده کند و به تخریب AHL هـــای پاتوژن ماهی یعنی آئرومونـــاس هیدروفیلا و افزایش بقای ماهی عفونی شده گردد. بنابراین می توان QSI-1 را به عنوان پروبیوتیک در کشت آبی به کار برد [۱۰].

مهار کننده های سنتتیک کوئوروم سنسینگ

اساسا سه روش برای توقف کوئوروم سنسینگ انجام شده به واسطه AHL وجود دارد:

- ایجاد تغییر در زنجیره اسیل چرب AHL، بدون آن که بر حلقه تیولاکتونی اثری داشته باشد.
- ایجاد تغییر در حلقه تیولاکتونی بدون اثر بر زنجیره اسید چرب آن
- تغییر همزمان در زنجیره اسید چرب و حلقه تیولاکتونی

به عنوان مثال، تعویض اتم کربن شماره ۳ در زنجیر اسید چرب AHL با گوگرد، آنالوگ هایی با توان مهار بیان ژن ها توســـط کوئوروم سنسینگ بر پایه LasR و LuxR را ایجاد می نماید. به علاوه با جایگزینی مواد آکریلی در انتهای زنجیره جانبی، می توان مهارکننده خوبی به دست آورد که نقش آن در مداخله با C6-HSL تحت کنترل LuxR به اثبات رسیده است.

جایگزین نمودن کربن شماره ۱ گروه کربونیلی در زنجیره جانبـــی AHL با گروه ســـولفیدریل درAHL های آریلی، موجب افزایش اثر ضد کوئوروم سنسینگ آن می شود.

همچنیـــن تعویض حلقه هگزانون با حلقه فنولی، منجر به تولید ترکیبات ضد کوئوروم سنسینگی قوی می گردد [۱۹].

عملکرد کوئوروم سنســـینگ را می توان توســـط چندین روش مهار کرد:

مهار تولید سیگنال ها

همانطور که قبلا ذکر شد، SAM به عنوان سوبسترایی در سنتز AHL ها و AI-2 های به کار رفته در سیستم کوئوروم سنسینگ استفاده می شود.

آنالـــوگ هـــای مختلفـــی از SAM، ماننـــد S-آدنوزیل هوموسیســـتئین یا S-آدنوزیل سیستئین به مهار سنتز AHL در سودوموناس آئروژینوزا می پردازند.

با این که SAM به عنوان پیش ســـاز بسیاری از مسیرهای بیوشـــیمیایی پروکاریوت ها و یوکاریوت ها به کار می رود ولی میانکنش AHL سنتاز با SAM بسیار اختصاصی است. آنالـــوگ های SAM، به طور اختصاصی و بدون اثر گذاری بر یوکاریوت ها، سنتز سیگنال ها را در سیستم های کوئوروم سنسینگ مهار می کند.

برخی آنتی بیوتیک ها مثل ماکرولیدها، در غلظتی پایین تر از غلظت مهاری، موجب مهار تولید سیگنال ها و فاکتور های ویرولانس شـــده و هیچ اثر مهارکنندگی بر رشد سلول های

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

باکتریایی ندارد.

بـــرای مثال، غلظـــت های پایین تر از غلظـــت مهاری در آریترومایســـین، سنتز ســـیگنال و فاکتورهای ویرولانس در سودوموناس آئروژینوزا (همولیزین، پروتئازها و هماگلوتینین) مهار می کنـــد. باکتری هایی که در معرض این آنتی بیوتیک قرار گرفته اند، ویرولانس کمتری را در موش ها ایجاد می‌کند.

آزیترومایسین نیز در غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تولید AHL و فاکتورهای ویرولانس (الاســـتاز و رامنولیپیدها) را مهار می کند در حالی که غلظت مذکور برای مهار رشد این باکتری کافی نیست.

افزودن AHL به کشت، تولید مجدد فاکتورهای ویرولانس را سبب می شـــود و بیانگر آن است که سنتز AHL، هدف اولیه این آنتی بیوتیک اســـت ولی تاثیر تمامی ماکرولیدها بر سنتز AHL هنوز مبهم است.

◆ مهار اتصال سیگنال به رسپتورهای پروتئینی

با اســـتفاده از آنتاگونیست های ســـیگنال ها و ممانعت از اتصال سیگنال ها به رسپتور ها، می توان کوئوروم سنسینگ را مهار کرد. مهارکننده هایی که از نظر ساختاری مشابه AHL ها باشند، با آن ها بر سر اتصال به رسپتورهایشان رقابت می‌کنند.

مهارکننده های غیر رقابتی، شباهت بسیار کمی به AHL دارند یا هیچ شـــباهتی به آن ندارند. این ترکیبات، به مناطق مختلفی از پروتئین رسپتوری متصل می شوند.

همانطور کـــه در بخش توضیحات مربـــوط به کوئوروم کوئنچینگ گفته شـــد، با ایجاد تغییر در زنجیره های اسیلی و حلقه هوموســـرین لاکتون می تـــوان آنالوگ های AHL ساخت.

آنالوگ هایـــی از AHL که حاوی زنجیره های اســـیلی بلندتر از AHL طبیعی هستند، به عنوان مهارکننده کوئوروم سنسینگ عمل می کنند.

جایگزینی گروه 3-OH یا متیل به جای گروه های 3-oxo یا ایجاد پیوند های دو گانه در زنجیره های اســـیلی، موجب کاهش در فعالیت AHL می گردد چرا که زنجیره‌های اسیلی، برای فعالیت AHL ضروری اند.

تغییر در حلقه هوموسرین لاکتون نیز بر فعالیت AHL اثر می گذارد. جایگزینی حلقه هوموسیســـتئین لاکتون به جای هوموسرین لاکتون، فعالیت ســـیگنال را کاهش می دهد اما قرار دادن حلقه هوموسرین لاکتام، موجب عدم فعالیت آن‌ها می گـــردد. در برخی مواقع نیز، مولکـــول های دارای حلقه هوموســـرین تیولاکتون به جای هوموسرین لاکتون، توسط برخی از سیستم های کوئوروم سنسینگ استفاده می شود.

AHL های طبیعـــی، به صورت ایزومرال (L) هســـتند امـــا اکثر ایزومرهای D فاقد فعالیت بیولوژیکی می باشـــند. فورانون های جدا شده از جلبک D.pulchra در این دسته از مهارکننده‌های سیستم کوئوروم سنسینگ قرار می گیرند.

تحقیقات انجام شـــده، حاکی از آن است که فورانون های این جلبک دارای یک حلقه فوران، زنجیره ای اسیلی در کربن شـــماره ۳٤ و اتم برم در کربن شـــماره ٤ است. اما ترکیب موجود در کربن شماره ۵ متغیر است. هالوژن های به کار رفته در فورانون های طبیعی شامل برم، ید یا کلر در موقعیت‌های مختلف است.

مشـــتقات فورانون توســـط ارگانیســـم های مختلفی مثل جلبک‌هـــای دریایـــی ســـبز، قرمز، قهـــوه ای، قـــارچ ها و اکتینومیســـت‌ها تولید می شـــود و دارای اثر مهاری بر روی برخی فرآیندهای تنظیم شـــونده با کوئوروم سنســـینگ مثل بیولومینسانس ویبریو فیشری و تولید فاکتورهای ویرولانس سودوموناس آئروژینوزا است.

بعد از این که اثر مهاری فورانون های این جلبک کشـــف شد، بســـیاری از آزمایشگاه ها به ســـنتز شیمیایی مشتقات فورانون پرداختند. بســـیاری از فورانون های سنتتیک موثرتر از آنالوگ های طبیعی خود هستند. اثر فورانون های سنتتیک علیه باکتری هایی که در بیو فیلم به سر می برند، به اندازه اثری است که بر باکتری های منفرد و به اصطلاح پلانکتونی دارند.

ســـنجش DNA به وســـیله تکنیک میکروواری نشان داد کـــه فورانون ها بر بیان ۹۳ ژن در ســـودوموناس آئروژینوزا PAO1 اثر می گذارند.

اخیرا دیده شـــده که یکی از مشتقات فورانونی تولید شده توســـط D.pulchra، سیستم کوئوروم سنسینگ به واسطه AI-2 در E.coli را مهار می کند.

بنابراین، از مطالب گفته شـــده تا به حـــال، بر می آید که مشـــتقات فورانون برای ساخت مواد درمانی با هدف از بین بـــردن بیماری زایی باکتری ها به کار می روند. با این وجود،

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

مهارکننده های کوئوروم سنسینگ که تست شده تا به امروز، برای انسان توکسیک می باشند. ایجاد مدیفیکاسیون در آن ها و تحقیق به منظور یافتن ترکیبات غیرتوکسیک مناسب برای درمان، از مسائل مبرم روز هستند.

◆ تخریب AHL

تخریب سیگنال های به‌کار رفته در کوئوروم سنسینگ، یکی از روش هایی است که در درمان عفونت های باکتریایی کاربرد دارد. از آنجا که سیگنال های AHL ای، شناخته شده‌ترین سیگنال های باکتریایی هستند و توسط بیش از ۷۰ گونه باکتریایی تولید می شوند، این سیگنال ها بسیار مورد هدف قرار می گیرند [۵].

AHL ها از طریق آنزیم های اختصاصی باکتری ها یا ارگانیسم های عالی تر و در معرض pH قلیایی، تجزیه شده و هنگام کشت در دماهای بالاتر، دچار تغییرات ساختمانی می گردد.

مطالعات زیادی برروی تحقیق در مورد یافتن آنزیم های تجزیه کننده خصوصا لاکتونازها (قبلا به اختصار توضیح داده شد) که حلقه هوموسرین‌لاکتون را می شکافند، متمرکز شده است.

لاکتونازهای هیدرولیزکننده AHL در باسیلوس‌ها، AiiA نام داشته و موجب مهار سایر پاتوژن های گیاهی که ویرولانس تنظیم شونده با کوئوروم سنسینگ وابسته به AHL دارند، می گردد. این یافته، راهکار جدیدی را برای طراحی موادی به منظور کنترل بیولوژیکی داروهای گیاهی به دست می دهد [۱۸].

AHL آسیکلازها هم به منظور تست نمودن قابلیت تخریب AHL ها مورد بررسی قرار گرفته اند. این آنزیم ها زنجیره جانبی را شکافته و تولید هوموسرین لاکتون و اسید چرب می نماید [۱۳].

یوکاریوت ها نیز برای تخریب AHL ها از مکانیسم های اختصاصی برخوردارند. به عنوان مثال، سلول های اپی‌تلیال تنفسی انسان، AHL های از نوع C12-HSL را تخریب می کند ولی بر تخریب C4-HSL اثری ندارد. احتمال می‌رود که این عمل به صورت آنزیماتیکی انجام شود.

تخریب AHL ها به وسیله تیپ های مختلف سلول های پستانداران مشاهده شده است. این یافته، مسیر جدیدی را برای تحقیق می گشاید و حکایت از آن دارد که انسان از طریق میان کنش با سیستم کوئوروم سنسینگ تنظیم کننده فاکتورهای ویرولانس، از عفونت های باکتریایی در امان می‌ماند.

◆ مهار کوئوروم سنسینگ در باکتری های گرم مثبت

ویرولانس وابسته به کوئوروم سنسینگ در استافیلوکوکوس اورئوس را می توان با استفاده از RIP های طبیعی، آنالوگ‌های سنتتیک آن ها و پپتیدهای هیبرید کاهش داد.

این پپتیدها، فسفریلاسیون TRAP را مهار کرده و در نتیجه با مهار RNAIII، ویرولانس باکتری را کاهش می دهد.

RIP ها از تولید بیوفیلم های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در محیط in vivo، جلوگیری می کنند.

در صورت استفاده همزمان RIP ها و آنتی بیوتیک ها، موجب بروز اثرات سینرژیک در آن ها شده و بقای صد در صدی آن ها در موش های آلوده با استافیلوکوکوس اورئوس را تضمین می نماید.

راهکار دیگر، واکسیناسیون با پروتئین های درگیر در کوئوروم سنسینگ است. برای مثال، واکسیناسیون با RAP، موش ها را در برابر استافیلوکوکوس اورئوس محافظت می‌کند [۱۸]. به منظور طراحی آنتاگونیست های ضد کوئوروم سنسینگ در باکتری های گرم مثبت، می توان به طراحی آنتاگونیست های AIP یا رسپتورهای آن پرداخت.

درگرم منفی ها نیز، می توان از آنزیم های مهار کننده LuxI یا آنتاگونیست هایی به منظور اتصال به رسپتور LuxR استفاده نمود [۱۷]. آنالوگ هایی که به پروتئین R متصل می شوند، طوری طراحی شده اند که با وجود اتصال به این رسپتورها، آن ها را فعال ننموده و کوئوروم سنسینگ را مهار نمایند [۸].

تلاش هایی در راستای کشف آنتاگونیست های سنتتیک از AI-1 صورت گرفته است. HSL های سنتتیک، فاقد ساختار لاکتونی حساس به هیدرولیز شدن بوده و بنابراین، از نظر شیمیایی، مقاوم تر از AI-1 طبیعی اند و همچنین در برابر لاکتونازهای خارجی و داخلی، مقاومت بیشتری دارند

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

[٤].

مهارکننده های آنزیمی LuxS یا مهارکننده ترانسپورتر Lsr را می توان در هر دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی به کار برد [۱۷]. پس آنتاگونیست های کوئوروم سنسینگ، کلاس جدیدی از مهارکننده های این فرآیند را شامل شده و در برابر آن ها سویه مقاوم ایجاد نمی گردد [٤].

دانشمندان به وجود پروتئین های تنظیمی دیگری که در کنترل سیگنالینگ کوئوروم سنسینگ باکتریایی نقش دارند نیز پی برده اند. با استفاده از ایجاد جهش در ژن های pprB و vqsM ترانس پوزون که به ترتیب در تولید تنظیم کننده پاسخ و فاکتوری رونویسی نقش دارند، می توان بیوسنتز AHL و تولید فاکتورهای ویرولانس وابسته به کوئوروم سنسینگ را کاهش داد [۵].

اخیرا روش های ایمونوتراپی برای مهار کوئوروم سنسینگ از طریق تولید آنتی بادی های مونوکلونال (mAb) برضد AHL، ابداع شده است. مهار اختصاصی سیگنالینگ کوئوروم سنسینگ در سودوموناس آئروژینوزا توسط این آنتی بادی ها، مشاهده شده است.

در ارگانیسم هایی که به منظور تولید فاکتورهای ویرولانس، بیش از یک سیستم کوئوروم سنسینگ دارند، از بین بردن تمامی سیستم های حاضر، برای کاهش دادن ویرولانس امری ضروری است. به عنوان مثال، در تنظیم بیان فاکتورهای ویرولانس سودوموناس آئروژینوزا، دو سیستم las و rhl نقش دارند. از آنجا که سیستم las در این ارگانیسم رونویسی از سیستم rhl را کنترل می کند، انتظار می رود که تخریب سیستم las، برای از میان بردن کوئوروم سنسینگ به کار رونده در تولید فاکتورهای ویرولانس کافی باشد. اما در هنگام رشد تحت شرایط تنش و استرس، موتانت های خود به خودی که فاقد lasR هستند، قادر به تولید الاستاز و رامنولیپید خواهند بود. آنالیز یکی از موتانت ها به نام PR1-E4 نشان داد که افزایش بیان rhl، منجر به افزایش تولید را منولیپید و الاستاز می گردد. در عوض در صورتی که هر دو سیستم las و rhl غیر عملکردی شوند، موتانت ها قادر به تولید فاکتورهای ویرولانس نخواهند بود. این مطلب بیانگر آن است که استراتژی های به کار رفته در درمان سودوموناس آئروژینوزا، باید هر دو سیستم مذکور را مورد هدف قرار دهد [۱۷].

در صورتی که روش های ذکر شده به صورت ترکیبی به کار روند، موثرتر از یک مکانیسم واحد عمل می کنند.

مهم ترین مزیت روش های آنتی‌کوئوروم سنسینگ تراپی بر استفاده از آنتی بیوتیک ها این است که این روش ها، مکانیسم های ویرولانس باکتری ها را هدف قرار داده و بر رشد باکتری ها اثری ندارند؛ در نتیجه باعث بروز مقاومت در باکتری نمی گردد [۵].

ارزیابی احتمال ایجاد مقاومت در برابر روش آنتی‌کوئوروم سنسینگ تراپی از موارد ضروری است. نتایج بسیاری از تحقیقات حاکی بر این مطلب بوده اند که تخریب کوئوروم سنسینگ بر روی رشد باکتری ها یا اثری ندارد و یا دارای اثر بسیار کمی است. اما تمام مشاهداتی که منجر به نتیجه‌گیری فوق شده بود، تحت شرایطی بود که باکتری ها در محیط رشد سنتتیک غنی از مواد مغذی رشد کرده اند یعنی در شرایطی که ژن های تنظیم شونده با کوئوروم سنسینگ، برای رشد باکتری ضروری نمی باشند.

نتایج حاصل شده اخیر بیانگر آن است که تحت شرایط خاص، تخریب کوئوروم سنسینگ بر رشد باکتری ها اثر می گذارد. در یک مطالعه ای، محققین به بررسی رشد سودوموناس آئروژینوزا تیپ وحشی و موتانت های lasI و lasR در شرایط مختلف پرداخته و مشاهده نمودند که در محیط غنی از مواد مغذی، موتانت هایی که دارای نقص در سیستم کوئوروم سنسینگ هستند، به تراکم سلولی ۱/۵برابری نسبت به تیپ وحشی می رسند. این مطلب بیانگر آن است که تحت این شرایط، ارزش سیگنالینگ نسبت به استفاده نمودن از مواد مغذی محیط، بالاتر است. اما در شرایطی که محیط باکتری از نظر داشتن منابع تغذیه ای مغذی فقیر باشد، رشد موتانت ها نسبت به تیپ وحشی، سه تا چهار برابر کمتر می‌شود.

بنابراین گسترش یا عدم گسترش مقاومت به تخریب کوئوروم سنسینگ، به شرایط محیطی باکتری بستگی دارد در حالی که در آنتی بیوتیک های قدیمی، این عارضه را می توان در هر محیطی شاهد بود.

اگر چه در حال حاضر تخمین دقیق ریسک توسعه مقاومت نسبت به تخریب کوئوروم سنسینگ مشکل است، اما دانشمندان نیاز به تمرکز بر این موضوع دارند و باید

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

تحقیق بیشـــتری در ارتباط با این موضوع صورت گیرد و از مکانیسم‌هایی استفاده شود که ریسک مقاومت را کاهش دهند. به عنوان مثال، آنزیم AHL لاکتوناز در برابر طیف وسیعی از AHLها فعال بوده و قادر به هیدرولیز هر دو AHL زنجیر بلند و زنجیر کوتاه، با کارایی مشابه می باشد و بنابراین، تغییر تیپ AHL، بر کارایی لاکتونازها اثری نمی گذارد.

احتمالا تولید فورانون های هالوژن دار مختلف با ساختار شـــبیه به هم در جلبـــک D.pulchra نیز، یک ســـازگاری تکاملی باشد تا از توسعه مقاومت در باکتری ها اجتناب نماید.

اســـتفاده از مهارکننده های غیر رقابتی یا نارقابتی به جای اســـتفاده از مهارکننده های رقابتی نیز راهکار دیگری است کـــه می توان به این منظور به کار برد [۱۳]. یکی از ترکیبات غیررقابتی که اخیرا معرفی شده، Malabaricone C است که از درخت جوز با نام علمی Myristic cinnamomea اســـتخراج شده و به مهار سیستم las و rhl در سودوموناس آئروژینوزا PAO و همچنین سیستم CviR در کروموباکتریوم ویولاسئوم می پردازد ولی بر تولید AHL در این باکتری اثر مهاری ندارد [۲۰].

البته بیشتر محققین بر این باورند که احتمال مقاومت یافتن پاتوژن ها به این تکنیک های جدید بسیار ضعیف است ولی به هر حال احتمال این قضیه وجود دارد و همان طور که ذکر شد باید از روش هایی استفاده شود که احتمال مقاومت یافت پاتوژن ها را کاهش دهد [۲۱].

نتیجه گیری و نگاهی به افق های آینده

از مطالب بیان شـــده مـــی توان چنین اســـتنباط نمود که توانایی هماهنگی عملکرد باکتری ها در روشـــی وابسته به تراکم ســـلولی، مزیت های قابل توجهی برای آن ها دارد. به عنوان مثال، سیستم کوئوروم سنسینگ باکتری های پاتوژن، آن هـــا را برای مقابله با سیســـتم دفاعـــی میزبان،که یکی از اهداف بســـیار مهم آن ها است، مجهز می ســـازد. در واقع باکتری ها با اســـتفاده از این سیســـتم، تجمع یافته و قادر به تولید میـــزان زیادی فاکتور ویرولانـــس و حمله گروهی به میزبان خواهند بود.

از آن جا که بســـیاری از پاتوژن هـــای گیاهی، حیوانی و انســـانی از کوئوروم سنســـینگ برای تنظیم ویرولانس خود اســـتفاده می کنند، طراحی تکنیک هایی به منظور مداخله با این سیستم سیگنالینگ، راهکار بسیار مناسبی برای پیشگیری از بیماری زایی پاتوژن ها و مداوای عفونت های ایجاد شده توسط آن ها خواهد بود. از طرفی به علت مقاومت یافتن اکثر باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، نیاز به روش درمانی جدید به شدت احساس می شود [۱۰].

کشـــف این که کوئوروم سنسینگ برای انجام پروسه‌های متابولیکی مورد نیاز باکتری ها برای رشـــد لازم نیست بدین معنی اســـت که هدف قـــرار دادن کوئوروم سنســـینگ در روش‌های درمانی، بر باکتری ها فشار انتخابی وارد نیاورده و موجبات توسعه مقاومت، مشابه به آن چیزی که در برابر آنتی بیوتیک ها دیده شد را باعث نمی گردد [۲۱].

از آنجا که احتمال مقاومت یافتن باکتری ها به این روش درمانی هم وجود دارد، یکی از زمینه های تحقیقاتی بسیار مهم در آینده، بررسی این موضوع خواهد بود که آیا پس از این که مدتی روش آنتی کوئوروم سنسینگ تراپی به کار رفت، پاتوژن‌هایی که تحت درمان با این روش قرار گرفته اند نسبت به آن مقاومت حاصل می نمایند یا خیر [۱۰].

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]

References

1- Reading N C, Sperandio V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. FEMS microbiology letters, 2006; 254(1), 1-11.

2- Raina S, Vizio D D, Odell M, Clements M, Vanhulle S, Keshavarz T. Microbial quorum sensing: a tool or a target for antimicrobial therapy?.Biotechnology and applied biochemistry, 2009; 54(2), 65-84.

3- Waters C M, & Bassler B L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 2005; 21, 319-346.

4- Rumbaugh Kendra P.Quorum Sensing Mehhods and Protocols, Humanna Press,USA; 2011.

5- Joint I. Bacterial conversations: talking, listening and eavesdropping. A NERC Discussion Meeting held at the Royal Society on 7 December 2005.Journal of The Royal Society Interface, 2006; 3(8), 459-463.

6- PeterB orriell p, Patrick R. Murray p, Guido Funke G,(2005). Topley & WILSON'S Bacteriology, 2006; 1,10.173.

7- Sifri C D. Quorum sensing: bacteria talk sense. Clinical infectious diseases, 2008; 47(8), 1070-1076.

8- De Kievit T R, Iglewski B H. Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. Infection and Immunity, 2000; 68(9), 4839-4849.

9- Reinhard Kramer R&Kristen Jung K(2010).Bacterial Signaling.WILLEY-BLACK WELL.

10- Deep A, Chaudhary U, Gupta V. Quorum sensing and bacterial pathogenicity: from molecules to disease. Journal of laboratory physicians, 2011; 3(1), 4.

11- Hentzer M, Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. Journal of Clinical Investigation, 2003; 112(9), 1300-1307.

12- Platt T G, Fuqua C. What's in a name? The semantics of quorum sensing. Trends in microbiology, 2010; 18(9), 383-387.

13- Defoirdt T, Boon N, Bossier P. Can bacteria evolve resistance to quorum sensing disruption?. PLoS pathogens, 2010; 6(7).

14- T.Rtherford S,Bassler B L. Bacterial Quorum Sensing:Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control.Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2012

15- Antunes L C M, Ferreira R B, Buckner M M, Finlay B B. Quorum sensing in bacterial virulence. Microbiology, 2010; 156(8), 2271-2282.

16- Hentzer M, Givskov, R.Parsek.Targeting Quorum Sensing for Treatment of Chronic Bacterial Biofilm Infections.laboratorymedicine, 2002; (4),33.

17- Raffa R B, Iannuzzo J R, Levine D R, Saeid K K, Schwartz R C, Sucic N T, Young J M. Bacterial communication ("quorum sensing") via ligands and receptors: a novel pharmacologic target for the design of antibiotic drugs. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2005312(2), 417-423.

18- Khmel I A, Metlitskaya A Z. Quorum Sensing Regulation of Gene Expression:A Promising Target for Drug against Bacterial Pathogenicity.Institute of Molecular Genetics, 2006; 2 (40),195-210.

19- Adak S, Upadrasta L, Kumar S J, Soni R, Banerjee R. Quorum quenching–an alternative antimicrobial therapeutics.

20- Koh C L, Sam C K, Yin W F, Tan L Y, Krishnan T, Chong Y M, Chan K G. Plant-Derived Natural Products as Sources of Anti-Quorum Sensing Compounds. Sensors, 2013; 13(5), 6217-6228.

21- Atkinson S, Williams P. Quorum sensing and social networking in the microbial world. Journal of The Royal Society Interface, 2009; 6(40), 959-978.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2025-03-20]