

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 مدت ها 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 ویروالانس، کوئوروم سنسینگ اطلاق می گردد. از آنجا که فرآیند کوئوروم سنسینگ در تنظیم بیان ژن های ویروالانس 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 ویروالانس و ایجاد عفونت های باکتریایی مقاوم و از طرفی شیوع در

۱۹۹۴ چنین معرفی شد: 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 آن ها پاسخ می دهند.

از سال ۱۹۹۶ 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 مهندسی 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 است و امروزه می دانیم که ارگانیسم های تک سلولی از ظرفیت فوق العاده ای برای برقراری رفتارهای اجتماعی و هماهنگ با یکدیگر برخوردارند که در بقای آن ها اهمیت زیادی دارد [۴]. به عبارتی عملکرد گروهی باکتری ها، موجب دفاع گروهی در برابر سایر رقبای 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 شرایط هستند. به عبارت دیگر باید برای حفظ بقای خویش، خود را با شرایط موجود آдаپت نمایند که این عمل از طریق بیان ژن های مختلف صورت می گیرد. باکتری ها در طی تکامل و برای چالش و پاسخ به محیط بیوتیک (زیستی) و آبیوتیک (غیرزیستی) که در آن مستقرند یک سری ابزارها را به کار گرفته اند تا به وسیله آن ها رفتار خود را تغییر دهند.

برای بیان یکی از ساده ترین تنظیمات صورت گرفته در باکتری ها می توان به تنظیم بیان ژن توسط اپران لک (lac operan)، در اشرشیا کلی اشاره کرد که طی آن در صورت وجود لاکتوز در محیط، رپرسور 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 آداپت 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.

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 ویروالانس، به امید یافتن راه حل برای بحران بروز مقاومت به آنتی بیوتیک ها، رواج یافت.

به واقع، کوئوروم سنسینگ 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 اوایل دهه ۱۹۷۰ تصور موجود از زندگی انفرادی باکتری ها، با کشف این که قادر به برقراری ارتباط بین سلولی از طریق مولکول های کوچکی به نام سیگنال هستند، به چالش کشیده شد.

اولین مدرک مبتنی بر برقراری ارتباط بین سلولی در باکتری ها از مطالعات انجام گرفته توسط دانشمندی به نام نیلسون (Nealson) بر روی ویبریو فیشری (*Vibrio fischeri*) و ویبریو هاروئی (*Vibrio harveyi*) که باکتری های دریایی تولید کننده نور و به اصطلاح لومینسانت می باشند، به دست آمد. نتایج حاصل، بیانگر برقراری ارتباط همزیستی ویبریو فیشری با یک نوع ماهی از نوع squid به نام *Euprymna scolopes* است.

تحقیقات صورت گرفته بیانگر آن است که باکتری ها در اندام درخشان ماهی (*Light organ*)، یعنی در محلی که میزان تراکم سلولی به 10^{11} - 10^{12} سلول 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 لوسیفراز، لومینسانس را فعال می کنند. در واقع وجود تراکم سلولی بالا برای تولید نور الزامی است و در صورت پایین بودن غلظت سیگنال ها، که نشانگر کم بودن میزان دانسیته سلولی باکتری ها می باشد، هیچ گونه بیولومینسانسی مشاهده نمی گردد [۳].

واژه کوئوروم سنسینگ توسط Greenberg در سال

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 می‌گیرد، در حالی که در سیستم دو جزئی، پیام یا سیگنال، شرایط محیطی است [۶].

در ابتدا چنین تصور می‌شد که تنها یوکاریوت‌ها و ارگانیسم‌های پرسلولی قادر به هماهنگ نمودن سلول‌های خود برای انجام یک عملکرد خاص هستند اما طی دو دهه گذشته، ثابت شده که باکتری‌ها نیز از طریق مکانیسم‌های پیچیده‌ای، فعالیت‌های بیولوژیکی مختلفی را با یکدیگر هماهنگ ساخته و می‌توانند به ارزیابی تراکم جمعیت خود بپردازند.

بنابراین می‌توان گفت که کوئوروم سنسینگ، مکانیسمی تنظیمی است که توسط بسیاری از باکتری‌ها برای دریافت و پاسخ به فاکتورهای متغیر با تراکم سلولی و به کمک بیان ژن‌های خاصی صورت می‌گیرد [۷ و ۸].

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 باکتری‌ها، شعور سلولی و سیگنالینگ سلول به سلول.

معمولاً فرآیندهایی توسط کوئوروم سنسینگ کنترل می‌شوند که یک باکتری واحد قادر به انجام دادن آن‌ها نیست؛ ولی زمانی که گروهی از باکتری‌ها در کنار هم باشند قادر به اتخاذ عملکرد گروهی برای انجام آن خواهند بود. بنابراین کوئوروم سنسینگ به باکتری‌ها این امکان را می‌دهد که مانند ارگانیسم‌های چند سلولی عمل نمایند [۹].

در بیولوژی مولکولی به پدیده‌ای کوئوروم سنسینگ اطلاق می‌شود که در آن، یک باکتری قادر به درک اطلاعات و در واقع سیگنال‌های صادر شده توسط سایر باکتری‌ها باشد. غلظت سیگنال‌ها بیانگر تراکم سلولی باکتری‌های موجود در محیط است و دریافت میزان آستانه (threshold concentration) از سیگنال‌ها حکایت از

آن دارد که سلول‌ها رشد و تکثیر یافته و تعدادشان افزایش یافته است. زمانی که غلظت سیگنال‌ها به حد آستانه و به عبارتی حد کوئوروم برسد، این امکان فراهم می‌شود که باکتری‌ها تراکم توده سلولی موجود را درک و در پاسخ، یکسری از ژن‌ها را روشن یا خاموش نمایند [۱۰].

می‌توان کوئوروم سنسینگ را چنین نیز تعریف کرد: مکانیسم ارتباطی سلول به سلول در توده‌های بیو فیلم که در جهت کنترل عملکردهای سلولی به کار می‌رود [۴]. در واقع تراکم و قدرت انتشار پایین ماتریکس پلی ساکارییدی موجود در بیو فیلم، شرایط ایده‌آلی را برای تجمع سیگنال‌ها و القای تولید فاکتورهای ویروالانس به واسطه کوئوروم سنسینگ فراهم نموده و باکتری‌ها را آماده حمله به میزبان می‌سازد [۱۱].

به سیگنال‌های کوئوروم سنسینگ، خود القاگر (Autoinducer) گفته می‌شود چرا که توسط خود سلول‌ها تولید شده و مولکول‌های سنتز شده، اغلب به طور مثبت بر سنتز خود تاثیر می‌گذارند [۱۰].

وقایع صورت گرفته در طی کوئوروم سنسینگ باکتری‌ها را می‌توان به طور خلاصه در چهار مرحله بیان نمود:

۱- تولید سیگنال‌ها توسط باکتری‌های موجود
۲- ترشح سیگنال‌ها به محیط اطراف باکتری‌ها از طریق انتقال فعال یا انتشار و تجمع سیگنال‌های تولیدی تا زمانی که به حد آستانه برسند.

۳- رسیدن غلظت سیگنال‌ها به حد آستانه و شناسایی توسط ریسپتورهای اختصاصی موجود در سیتوپلاسم یا غشای سیتوپلاسمی.

شناسایی شدن سیگنال‌ها توسط ریسپتورها، علاوه بر بیان ژن‌های ضروری برای انجام عملکردهای گروهی، منجر به فعال سازی تولید مجدد سیگنال‌ها می‌گردد.

۴- تغییر در تنظیم بیان ژن‌های ضروری برای مواجهه با شرایط خاصی که باکتری‌ها با آن روبرو می‌شوند. امروزه مشخص شده که بخش بزرگی از ژنوم باکتریایی (۱۰-۴ درصد) و پروتئوم ($\leq 20\%$ درصد) تحت تاثیر فرآیند کوئوروم سنسینگ قرار دارد. از این مطلب بر می‌آید که باکتری‌های پاتوژن با استفاده از کوئوروم سنسینگ نه تنها می‌توانند تولید فاکتورهای ویروالانس خود را کنترل نمایند، بلکه

انواع سیگنال های به کار رفته در کوئوروم سنسینگ

به سیگنال های شبه هورمون به کار رفته در فرآیند کوئوروم سنسینگ، خود القاگر (Autoinducer) یا فرومون گفته می شود 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:

اسیل هوموسرین لاکتون ها و به بیان دیگر هوموسرین لاکتون های اسیده شده (HSL, acyl-HSL, AHLs) که عمدتاً در سیگنالینگ باکتری های گرم منفی نقش داشته و توسط پروتئینی به نام LuxI (AHL سنتاز) تولید می شوند. AHL ها یک حلقه هوموسرین لاکتون حفاظت شده دارند که از طریق پیوند آمیدی به زنجیره های اسیلی (acyl) اتصال یافته است. تعداد اتم های کربن موجود در زنجیره های اسیلی، بین ۴ تا ۱۴ عدد متغیر است و طی مسیر سنتز اسید چرب تولید می گردد (شکل ۱) [۱]. متفاوت بودن طول زنجیره و میزان اشباع بودن اسکلت اسید چرب در بین سیگنال های AHL، لازمه اختصاصی بودن سیگنالینگ باکتریایی است [۳]. در صورتی که تعداد اتم های کربن بیش از ۱۶ عدد باشد، موجب بروز تغییرات ساختمانی در زنجیره اسیلی می گردد و در نتیجه آن، AHL مذکور با پروتئین های دیگر یا با غشاها میان کنش غیر اختصاصی برقرار نموده و دیگر، به عنوان سیگنالی اختصاصی به شمار نمی رود [۴]. در موقعیت کربن شماره ۳ از زنجیره های اسیلی، تغییرات اکسیداتیو مثل افزوده شدن گروه کربونیل یا هیدروکسیل و یا احیا شدن زنجیره صورت گرفته و آن ها را از این نظر نیز متمایز می نماید [۱]. (S-آدنوزیل متیونین (SAM) سوبسترای مورد استفاده پروتئین های تیپ LuxI برای سنتز حلقه هوموسرین لاکتون در AHL ها می باشد و به عنوان دهنده عامل آمین عمل می کند. اسید های چرب نیز در پی متابولیسم لپید توسط پروتئین های حامل اسیل (ACP) حاصل می شوند [۱۶] و [۱۵]. به AHL ها و سایر سوبسترا هایی که تولید شان به

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

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

بیولومینسانس، تولید متابولیت های ثانویه، تولید آنتی بیوتیک، سوارمینگ، تشکیل بیو فیلم، حفاظت از مکانیسم دفاعی میزبان، صلاحیت دار شدن (Competence)، اسپورولاسیون، تولید فاکتورهای ویروالانس و غیره [۱۲ و ۱۳].

انواع سیستم های کوئوروم سنسینگ

سیستم های کوئوروم سنسینگ مختلفی در باکتری ها شناسایی شده که عبارتند از:

● کوئوروم سنسینگ تیپ LuxI/R که اکثراً توسط باکتری های گرم منفی مورد استفاده قرار می گیرد و مولکول سیگنال به کار رفته در آن از جنس اسیل هوموسرین لاکتون (AHL) است. تیپ LuxI/R اولین بار در ویبریو فیشری شناسایی شد و از آن پس در سایر باکتری های گرم منفی همین الگو ولی با نامگذاری های مختلف بسته به نوع باکتری به کار رفت [۵]. این سیستم غالباً برای برقراری ارتباط داخل گونه ای به کار می رود زیرا اختصاصیت بالایی بین پروتئین های LuxR و سیگنال 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]. به فرآیند کوئوروم سنسینگ در باکتری های گرم مثبت، 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].

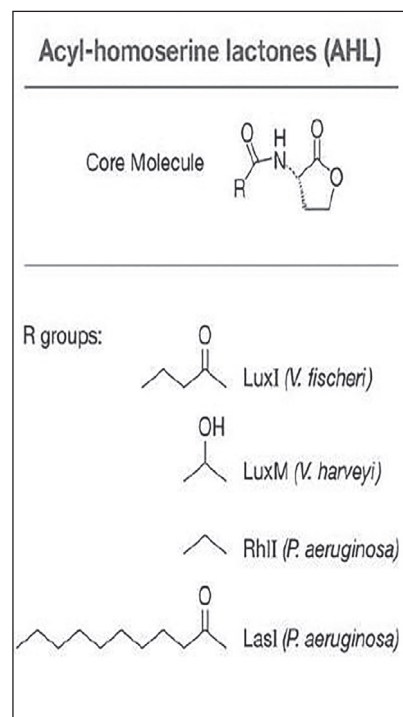
● سیگنالینگ AI-2 / LuxS برای برقراری ارتباط بین گونه ای

● سیگنالینگ اپی نفرین - نوراپی نفرین به کمک سیگنال AI-3 که برای ارتباط بین گونه ها و همچنین قلمروها به کار می رود [۱].

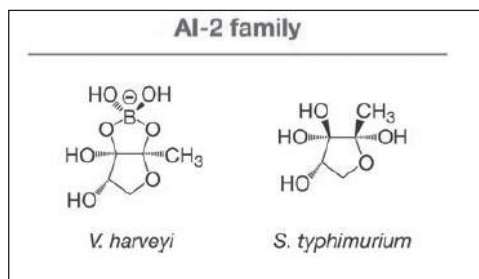
مولکول های سیگنال به کار رفته در باکتری های گرم مثبت، الیگوپپتیدی (شکل ۲) بوده و به نام کلی Autoinducing Peptides (AIP) نامگذاری می شوند و در ابتدا، به صورت پیش ساز تولید می گردند (pro-AIP). از آنجا که غشای سلولی نسبت به پپتیدها نفوذ ناپذیر است، ترانسپورتهایی اختصاصی از نوع ABC ترانسپورتر برای ترشح آن 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 آسپاراتات حفاظت شده در پروتئین تنظیم کننده پاسخ موجود در سیتوپلاسم منتقل می شود. فسفریلاسیون پروتئین تنظیم کننده پاسخ، رونویسی از ژن های 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 سیگنال ها و پاسخ کوئوروم سنسینگ می گردد [۱۴]. رسپتورهای AIP ها در غشای سیتوپلاسمی واقع شده و دارای ۵ تا ۸ قطعه بین غشایی دومین N-ترمینال بوده و یک دوم C-ترمینال از نوع هیستیدین کیناز 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 ژن های مربوط به AIP، رسپتور، ABC ترانسپورتر و تنظیم کننده پاسخ را فعال می نماید. سیگنال های دسته سوم و به عبارتی AI-2 ها (شکل ۳) از فورانون ها (furanones) مشتق شده اند و در برخی مثل ویبریوهاروئی از جنس فورانوزیل بورات دی استر می باشند. AI-2 توسط ژن luxS کد شده و به پروتئین LuxP (هومولوگ LuxR در گرم منفی ها) متصل می شود. رسپتور هدف این

SAM به عنوان سوبسترا بستگی دارد، در کل 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]. LuxR پروتئین هایی هستند که به عنوان رسپتور سیتوپلاسمی بوده و دومین 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 توالی های 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 [۴]. لازم به ذکر است که در گذشته این واژه یعنی autoinduction به جای واژه کوئوروم سنسینگ به کار می رفت [۱۲].



شکل ۱) هسته مرکزی اسیل هوموسرین لاکتون ها و انواع زنجیره های جانبی نشان داده شده است



شکل ۳) سیگنال AI-2

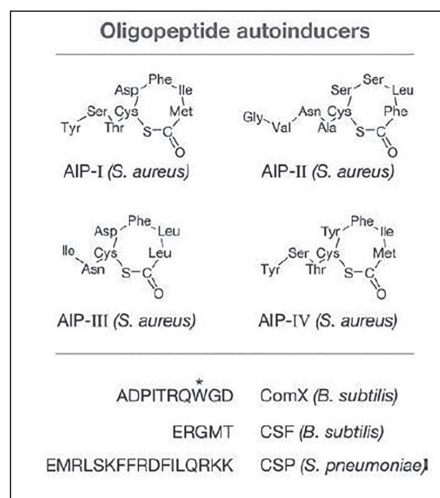
در برخی باکتری ها مثل انتروهومورازیک اشیریشیا کلی سیگنالی به نام AI-3 تولید شده و در فعال سازی ژن های دخیل در کلونیزاسیون در دیواره روده و ایجاد زخم های روده ای نقش ایفا می نماید. همچنین سیگنالینگ صورت گرفته به واسطه AI-3، توسط اپی نفرین و نوراپی نفرین نیز فعال می گردد. نامگذاری دیگر این سیستم به صورت 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⁻، 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 اشیریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه و انتروباکتر کلاوآله نیز شناسایی شده است.

از نتایج به دست آمده بر می آید 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

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 می گذارد [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. 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.

همچنین موجب غلبه یافتن بر مکانیسم 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 پردازند، آن هایی که قادر به تخریب کوئوروم سنسینگ سایر باکتری های وابسته به این فرآیند باشند، نسبت به سایرین مزیت می یابند.

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

به مکانیسم هایی که به منظور مداخله با ارتباطات بین سلولی در باکتری ها تکامل یافته است، کوئوروم کوئنچینگ اطلاق می شود و به معنی "مهار کوئوروم سنسینگ" است [۳]. این فرآیند به طور طبیعی در میان پروکاریوت ها و یوکاریوت ها وجود دارد ولی محققان بر این باورند که می توان از این فرآیند به نفع بشر استفاده کرد. به عبارتی می توان از مهار فرآیند کوئوروم سنسینگ به عنوان اهداف درمانی و برای ساختن مواد سنتتیک استفاده نمود.

کشف راه های درمانی و داروهای جدید، یکی از عرصه های تحقیقاتی مهم در دهه اخیر است و به مهم ترین مسئله پزشکی مدرن تبدیل شده 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 است که به جای کشتن یا مهار رشد باکتری ها، ویروالانس آن ها را به طور اختصاصی کاهش داد. این روش را می توان با هدف قرار دادن سیستم های تنظیمی که نقش کلیدی در رونویسی از فاکتورهای ویروالانس باکتری ها به عهده دارند، به انجام رساند [۱۳].

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

نقش داشته باشد [۱].

در کل ۴ شرط 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 رشد ارگانیسم 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.

۴- توان برقراری پاسخ 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 سیگنال های کوئوروم سنسینگ به جز عملکرد سیگنالینگ که مطالعه چند دهه اخیر بر آن ها متمرکز شده است، دارای عملکردهای دیگری نیز می باشند. به عنوان مثال، باکتریوسین 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 مولکول هایی که طی چند دهه قبل به عنوان خود القاگر شناخته شده بودند [۲].

دانشمندان به این واقعیت پی بردند که بسیاری از آنتی بیوتیک های کاملاً شناخته شده نیز به عنوان سیگنال عمل کرده و در غلظتی پایین تر از غلظت مهاری خود اثر قابل توجهی بر تنظیم بیان ژن های باکتری ها دارند.

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

کارباپنم ها به طور طبیعی توسط تعدادی از باکتری ها مانند *Serratia marcescens* و *Erwinia carotovora* تولید می شوند. تولید کارباپنم توسط این پاتوژن های گیاهی به پیروزی در هنگام رقابت با سایر باکتری ها کمک می کند،

انگیزه خوبی را برای توسعه درمان هایی بر پایه مهار کوئوروم سنسینگ باکتریایی ایجاد نموده است [۴] 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 [۱۹].

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

۱- مهار کننده های طبیعی

۲- مهار کننده های سنتتیک

مهار کننده 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 [۲۰]. 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، احتمالاً در طی تکامل، مکانیسم ها و مواد مختلفی به منظور مهار کوئوروم سنسینگ، در آن ها ایجاد شده است [۲۱].

اولین ترکیب مهار کننده کوئوروم سنسینگ از سطح جلبک بزرگ و قرمز استرالیایی به نام *Delisea pulcra* 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.

فورانون ها، 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 باکتری ها و در پی آن، مهار تشکیل بیوفیلم، مانع کلونیزاسیون باکتری ها در سطح خود می گردد؛ در حالی که هزاران گونه باکتریایی در آب وجود دارد [۱۷ و ۳]. 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 [۱۶].

آزمایش های انجام شده بیانگر آن است که غلظت سطحی فورانون ها، با میزان کلونیزاسیون باکتری ها رابطه معکوس دارد. [۱۶] به نحوی که با اتصال به رسپتورها، موجب القای تغییرات کنفورماسیونی در آن ها شده و ناپایدار شدن رسپتور را سبب می گردند [۱۹]. جلبک حداقل ۳۰ تیپ مختلف از فورانون های هالوژن دار را تولید می نماید و این ترکیبات در زیکول های اختصاصی تجمع یافته و سپس به سطح جلبک ترشح می شوند [۲].

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 [۲]. رزمارینیک اسید (*Rosmarinic acid*) به دست آمده از خانواده نعنایان، رونویسی از الاستاز و پروتئاز را مهار کرده و همچنین مانع تشکیل بیوفیلم سودوموناس آئروژینوزا می شود.

قارچ های مرتبط با ریشه گیاه مثل *Phialocephala fortini* و *Meliniomyces variabilis* و یک ایزوله از آسکومیست ها، توان تخریب AHL ها را داشته و به عنوان گزینه ای مناسب برای کاهش ویروالانس باکتریایی مطرح می باشند. [۲۰].

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 لگوم ها می باشد که در پاسخ به AHL های تولید شده توسط سودوموناس آئروژینوزا و سینوربیزوبیوم ملیلوتی (*Sinorhizobium meliloti*)، بیش از ۱۵۰ پروتئین تولید

● ایجاد تغییر در زنجیره اسید 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 توسط 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 جانبی AHL با گروه سولفیدریل در AHL های آریلی، موجب افزایش اثر ضد کوئوروم سنسینگ آن می شود.

همچنین تعویض حلقه هگزانون با حلقه فنولی، منجر به تولید ترکیبات ضد کوئوروم سنسینگ قوی می گردد [۱۹]. عملکرد کوئوروم سنسینگ را می توان توسط چندین روش مهار کرد:

◆ مهار تولید سیگنال ها

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

آنالوگ های مختلفی از SAM، مانند S-آدنوزیل هوموسیستئین یا S-آدنوزیل سیستئین به مهار سنتز AHL در سودوموناس آئروژینوزا می پردازند.

با این که SAM به عنوان پیش ساز بسیاری از مسیرهای بیوشیمیایی پروکاریوت ها و یوکاریوت ها به کار می رود ولی میانکشی AHL سنتز با SAM بسیار اختصاصی است. آنالوگ 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 ویروانس شده و هیچ اثر مهارکنندگی بر رشد سلول های

می نمایند. به عبارتی، گیاه مذکور در پاسخ 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].

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

افزایش بیان ژن *aiiA* در گیاه تنباکو و گوجه فرنگی، مقاومت در برابر *Erwinia carotovora* را از طریق مهار کوئوروم سنسینگ که برای تولید فاکتورهای ویروانس مورد نیاز باکتری لازم است، سبب می شود. به علاوه کشت همزمان *Bacillus thuringiensis* و *E. carotovora* بیماری گیاهی ایجاد شده توسط *E. carotovora* را در عملکردی وابسته به *aiiA*، کاهش می دهد [۱۹].

ترکیبات ریشه یونجه، تولید آنتی بیوتیک زوئیترومایسین A در باسیلوس سرئوس را تحریک کرده و موجب مهار بیماری زایی *Pythium torulsum* می گردند [۱۷].

مواد استخراج شده از گریپ فروت، حاوی ترکیبات بیواکتیو مثل فوروکومارین، کارتنوئید، لیمونوئید، پکتین و کومارین است که دارای فعالیت ضد باکتریایی و ضد قارچی می باشند. لازم به ذکر است 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 ماهی *Carassius auratus gibelio* جدا نمودند. این مهارکننده قادر است که از مولکول های AHL، به عنوان تنها منبع انرژی استفاده کند و به تخریب AHL های پاتوژن ماهی یعنی آئروموناس 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:

باکتریایی ندارد.

برای مثال، غلظت های پایین تر از غلظت مهاری در آریترومايسين، سنتز سيگنال و فاکتورهای ویروالانس در سودوموناس آئروژینوزا (همولیزین، پروتئازها و همالوتینین) مهار می کند. باکتری هایی که در معرض این آنتی بیوتیک قرار گرفته اند، ویروالانس کمتری را در موش ها ایجاد می کند. آزیترومايسين نیز در غلظت ۲ میکروگرم بر میلی لیتر، تولید AHL و فاکتورهای ویروالانس (الاستاز و رامنولیدها) را مهار می کند در حالی که غلظت مذکور برای مهار رشد این باکتری کافی نیست.

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

◆ مهار اتصال سیگنال به رستپورهای پروتئینی

با استفاده از آنتاگونیست های سیگنال ها و ممانعت از اتصال سیگنال ها به رستپور 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 رستپورهایشان رقابت می کنند. مهارکننده های غیر رقابتی، شباهت بسیار کمی به AHL دارند یا هیچ شباهتی به آن ندارند. این ترکیبات، به مناطق مختلفی از پروتئین رستپوری متصل می شوند.

همانطور که در بخش توضیحات مربوط به کوئوروم کوئچینگ گفته شد، با ایجاد تغییر در زنجیره های اسیلی و حلقه هوموسرین لاکتون می توان آنالوگ های AHL ساخت.

آنالوگ هایی از AHL که حاوی زنجیره های اسیلی 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 اسیلی، موجب کاهش در فعالیت AHL می گردد چرا که زنجیره های اسیلی، برای فعالیت AHL ضروری اند.

تغییر در حلقه هوموسرین لاکتون نیز بر فعالیت AHL اثر می گذارد. جایگزینی حلقه هوموسیستئین لاکتون به جای

هوموسرین لاکتون، فعالیت سیگنال را کاهش می دهد اما قرار دادن حلقه هوموسرین لاکتام، موجب عدم فعالیت آن ها می گردد. در برخی مواقع نیز، مولکول های دارای حلقه هوموسرین تیولاکتون به جای هوموسرین لاکتون، توسط برخی از سیستم های کوئوروم سنسینگ استفاده می شود.

AHL های طبیعی، به صورت ایزومرال (L) هستند اما اکثر ایزومرهای D فاقد فعالیت بیولوژیکی می باشند. فورانون های جدا شده از جلبک *D.pulchra* در این دسته از مهارکننده های سیستم کوئوروم سنسینگ قرار می گیرند.

تحقیقات انجام شده، حاکی از آن است که فورانون های این جلبک دارای یک حلقه فوران، زنجیره ای اسیلی در کربن شماره ۳۴ و اتم برم در کربن شماره ۴ 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 موقعیت های مختلف است.

مشتقات فورانون توسط ارگانیسم های مختلفی مثل جلبک های دریایی سبز، قرمز، قهوه ای، قارچ ها و اکتینومیسست ها تولید می شود و دارای اثر مهاری بر روی برخی فرآیندهای تنظیم شونده با کوئوروم سنسینگ مثل بیولومینسانس و بیوریو فیشری و تولید فاکتورهای ویروالانس سودوموناس آئروژینوزا است.

بعد از این که اثر مهاری فورانون های این جلبک کشف شد، بسیاری از آزمایشگاه ها به سنتز شیمیایی مشتقات فورانون پرداختند. بسیاری 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. سنجنش DNA به وسیله تکنیک میکروآرای نشان داد که فورانون ها بر بیان ۹۳ ژن در سودوموناس آئروژینوزا PAOI اثر می گذارند.

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

بنابراین، از مطالب گفته شده تا به حال، بر می آید که مشتقات فورانون برای ساخت مواد درمانی با هدف از بین بردن بیماری زایی باکتری ها به کار می روند. با این وجود،

پستانداران مشاهده شده است. این یافته، مسیر جدیدی را برای تحقیق می‌گشاید و حکایت از آن دارد که انسان از طریق میان‌کنش با سیستم کوئوروم سنسینگ تنظیم‌کننده فاکتورهای ویروالانس، از عفونت‌های باکتریایی در امان می‌ماند.

◆ مهار کوئوروم سنسینگ در باکتری‌های گرم مثبت

ویروالانس وابسته به کوئوروم سنسینگ در استافیلوکوکوس اورئوس را می‌توان با استفاده از RIP های طبیعی، آنالوگ‌های سنتتیک آن‌ها و پپتیدهای هیبرید کاهش داد. این پپتیدها، فسفریلاسیون TRAP را مهار کرده و در نتیجه با مهار RNAIII، ویروالانس باکتری را کاهش می‌دهد. RIP ها از تولید بیوفیلم های استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در محیط *in vivo*، جلوگیری می‌کنند.

در صورت استفاده همزمان RIP ها و آنتی‌بیوتیک‌ها، موجب بروز اثرات سینرژیک در آن‌ها شده و بقای صد در صدی آن‌ها در موش‌های آلوده با استافیلوکوکوس اورئوس را تضمین می‌نماید.

راهکار دیگر، واکسیناسیون با پروتئین‌های درگیر در کوئوروم سنسینگ است. برای مثال، واکسیناسیون با RAP، موش‌ها را در برابر استافیلوکوکوس اورئوس محافظت می‌کند [۱۸]. به منظور طراحی آنتاگونیست‌های ضد کوئوروم سنسینگ در باکتری‌های گرم مثبت، می‌توان به طراحی آنتاگونیست‌های AIP یا ریسپتورهای آن پرداخت. در گرم منفی‌ها نیز، می‌توان از آنزیم‌های مهارکننده LuxI یا آنتاگونیست‌هایی به منظور اتصال به ریسپتور LuxR استفاده نمود [۱۷]. آنالوگ‌هایی که به پروتئین R متصل می‌شوند، طوری طراحی شده‌اند که با وجود اتصال به این ریسپتورها، آن‌ها را فعال ننموده و کوئوروم سنسینگ را مهار نمایند [۸].

تلاش‌هایی در راستای کشف آنتاگونیست‌های سنتتیک از AI-1 صورت گرفته است. HSL های سنتتیک، فاقد ساختار لاکتونی حساس به هیدرولیز شدن بوده و بنابراین، از نظر شیمیایی، مقاوم‌تر از AI-1 طبیعی‌اند و همچنین در برابر لاکتوناژهای خارجی و داخلی، مقاومت بیشتری دارند

مهارکننده‌های کوئوروم سنسینگ که تست شده تا به امروز، برای انسان توکسیک می‌باشند. ایجاد مدیفیکاسیون در آن‌ها و تحقیق به منظور یافتن ترکیبات غیرتوکسیک مناسب برای درمان، از مسائل مبرم روز هستند.

◆ تخریب AHL

تخریب سیگنال‌های به‌کار رفته در کوئوروم سنسینگ، یکی از روش‌هایی است که در درمان عفونت‌های باکتریایی کاربرد دارد. از آنجا که سیگنال‌های AHL ای، شناخته شده‌ترین سیگنال‌های باکتریایی هستند و توسط بیش از ۷۰ گونه باکتریایی تولید می‌شوند، این سیگنال‌ها بسیار مورد هدف قرار می‌گیرند [۵].

AHL ها از طریق آنزیم‌های اختصاصی باکتری‌ها یا ارگانسیم‌های عالی‌تر و در معرض pH قلیایی، تجزیه شده و هنگام کشت در دماهای بالاتر، دچار تغییرات ساختمانی می‌گردند.

مطالعات زیادی بر روی تحقیق در مورد یافتن آنزیم‌های تجزیه‌کننده خصوصاً لاکتوناژها (قبلاً به اختصار توضیح داده شد) که حلقه هوموسرین لاکتون را می‌شکافند، متمرکز شده است.

لاکتوناژهای هیدرولیزکننده AHL در باسیلوس‌ها، AiiA نام داشته و موجب مهار سایر پاتوژن‌های گیاهی که ویروالانس تنظیم‌شونده با کوئوروم سنسینگ وابسته به AHL دارند، می‌گردد. این یافته، راهکار جدیدی را برای طراحی موادی به منظور کنترل بیولوژیکی داروهای گیاهی به دست می‌دهد [۱۸].

AHL آسیکلایزها هم به منظور تست نمودن قابلیت تخریب AHL ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این آنزیم‌ها زنجیره جانبی را شکافته و تولید هوموسرین لاکتون و اسید چرب می‌نمایند [۱۳].

یوکاریوت‌ها نیز برای تخریب AHL ها از مکانیسم‌های اختصاصی برخوردارند. به عنوان مثال، سلول‌های اپی‌تلیال تنفسی انسان، AHL های از نوع C12-HSL را تخریب می‌کند ولی بر تخریب C4-HSL اثری ندارد. احتمال می‌رود که این عمل به صورت آنزیماتیکی انجام شود. تخریب AHL ها به وسیله تیپ‌های مختلف سلول‌های

[۴]

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 [۴].

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 ویروالانس وابسته به کوئوروم سنسینگ را کاهش داد [۵].

اخیرا روش های ایمونوترابی 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 ارگانسیم هایی که به منظور تولید فاکتورهای ویروالانس، بیش از یک سیستم کوئوروم سنسینگ دارند، از بین بردن تمامی سیستم های حاضر، برای کاهش دادن ویروالانس امری ضروری است. به عنوان مثال، در تنظیم بیان فاکتورهای ویروالانس سودوموناس آئروژینوزا، دو سیستم las و rhl نقش دارند. از آنجا که سیستم las در این ارگانسیم رونویسی از سیستم rhl را کنترل می کند، انتظار می رود که تخریب سیستم las، برای از میان بردن کوئوروم سنسینگ به کار رفته در تولید فاکتورهای ویروالانس 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 رامنولپید خواهند بود. آنالیز یکی از موتانت ها به نام PR1-E4 نشان داد که افزایش بیان rhl، منجر به افزایش تولید رامنولپید و الاستاز می گردد. در عوض در صورتی که هر دو سیستم las و rhl غیر عملکردی شوند، موتانت ها قادر به تولید فاکتورهای ویروالانس 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 آنتی کوئوروم سنسینگ ترابی بر استفاده از آنتی بیوتیک ها این است که این روش ها، مکانیسم های ویروالانس 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 آنتی کوئوروم سنسینگ ترابی 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 نتیجه گیری 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 ۱/۵ برابری 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 می شود.

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

تراکم سلولی، مزیت های قابل توجهی برای آن ها دارد. به عنوان مثال، سیستم کوئوروم سنسینگ باکتری های پاتوژن، آن ها را برای مقابله با سیستم دفاعی میزبان، که یکی از اهداف بسیار مهم آن ها است، مجهز می سازد. در واقع باکتری ها با استفاده از این سیستم، تجمع یافته و قادر به تولید میزان زیادی فاکتور ویرولانسی و حمله گروهی به میزبان خواهند بود.

از آن جا که بسیاری از پاتوژن های گیاهی، حیوانی و انسانی از کوئوروم سنسینگ برای تنظیم ویرولانسی خود استفاده 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].

کشف این که کوئوروم سنسینگ برای انجام پروسه های متابولیکی مورد نیاز باکتری ها برای رشد لازم نیست بدین معنی است که هدف قرار دادن کوئوروم سنسینگ در روش های 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، پاتوژن هایی که تحت درمان با این روش قرار گرفته اند نسبت به آن مقاومت حاصل می نمایند یا خیر [۱۰].

تحقیق بیشتری در ارتباط با این موضوع صورت گیرد و از مکانیسم هایی استفاده شود که ریسک مقاومت را کاهش دهند. به عنوان مثال، آنزیم AHL لاکتوناژ در برابر طیف وسیعی از AHL ها 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 لاکتوناژها اثری نمی گذارد.

احتمالاً تولید فورانون های هالوژن دار مختلف با ساختار شبیه به هم در جلبک *D. pulchra* نیز، یک سازگاری تکاملی باشد تا از توسعه مقاومت در باکتری ها اجتناب نماید. استفاده از مهارکننده های غیر رقابتی یا نارقابتی به جای استفاده از مهارکننده های رقابتی نیز راهکار دیگری است که می توان به این منظور به کار برد [۱۳]. یکی از ترکیبات غیررقابتی که اخیراً معرفی شده، *Malabaricone C* است که از درخت جوز با نام علمی *Myristic cinnamomea* استخراج 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 شده می توان چنین استنباط نمود که توانایی هماهنگی عملکرد باکتری ها در روشی وابسته به

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 Methods 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- Peter B 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*. WILEY-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. Rutherford 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. *laboratory medicine*, 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*, 2005; 312(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.