

Bacterial ghosts and their applications in biomedicine

Aghil Bahramian, Saeed Khoshnoud, Hossein Goudarzi, Mehdi Goudarzi*

Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 2015/03/19 Accept: 2015/10/4)

Abstract

Background: The Bacterial Ghost (BG) are cell envelopes derived from Gram-negative bacteria, which contains all of elements of cells surface; except cytoplasmic content. Now days according to high prevalence incidence rate of cancer in the world and common use of chemotherapy as a common treatment; and its side effects; existence of a carrier for targeted transmission of chemotherapy drugs to cancerous cells is necessary. This review study was performed in order to investigate the bacterial ghosts and their applications in biomedicine. In current study from published articles between 1990 and 2015 and databases such as PubMed, Sciences Direct and Google Scholar was used. Search by keywords

Bacterial ghost, vaccine and gene therapy according to Medical Subject Headings (MeSH) was performed. Finally, 46 articles were included in our study. The results of this survey exhibited that use of bacterial ghosts in biomedicine was relatively desired. Therefore, bacterial ghosts are able to induce stimulation and reinforcement of immune system against microbial pathogens. On the other hand, bacterial ghosts lead to enhancement of drug absorption, transfer and also dissemination of drug in target tissue.

Keywords: Bacterial Ghost, vaccine, gene therapy

* Corresponding authors: Dr. Mehdi Goudarzi, Department of Microbiology, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Email: gudarzim@yahoo.com

شیخ باکتریایی و کاربردهای آن‌ها در بیومدیسین

عقیل بهرامیان، سعید خشنود، حسین گودرزی، مهدی گودرزی*

گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۷/۱۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۲/۲۷

چکیده

سابقه و هدف: شیخ باکتریایی (*Bacterial Ghost*) پوشش سلولی به دست آمده از باکتری‌های گرم منفی است که فاقد محتویات سیتوپلاسمی بوده، ولی تمامی ساختارهای سطح سلول را داراست. امروزه با توجه به شیوع بالای سرطان در دنیا و استفاده از شیمی درمانی به عنوان یک درمان رایج و آثار سوء آن، وجود یک حامل برای انتقال هدفمند دارو به سلول‌های سرطانی ضروری به نظر می‌رسد. همچنین در زمینه واکسیناسیون اهمیت یک حامل با خصوصیات ادجوانتی که بتواند آنتی‌ژن‌ها را انتقال دهد، ضروری است. اشباح باکتریایی با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردی که داراست، می‌تواند قابلیت انتقال دارو، انتقال ژن و آنتی‌ژن را داشته باشد. این مطالعه برای بررسی اشباح باکتریایی و کاربردهای آن در بیومدیسین انجام شد. در این مطالعه از مقاله‌های منتشر شده بین سال‌های ۱۹۹۰ تا ۲۰۱۵ و پایگاه‌های اطلاعاتی *pub med*، *google scholar*، *Science Direct* استفاده شد. جست‌وجو با استفاده از واژگان کلیدی نظیر *Bacterial ghost*، *vaccine*، *gene therapy* بر اساس *MeSH* انجام شد. نتایج این بررسی نشان داد که استفاده از شیخ باکتریایی در بیومدیسین به نسبت مطلوب بود. به طوری که اشباح باکتریایی قادر به القا و تقویت سیستم ایمنی علیه پاتوژن‌های میکروبی شده و از سوی دیگر به افزایش جذب دارو، انتقال و همچنین انتشار آن در بافت هدف منجر می‌شود.

واژگان کلیدی: شیخ باکتریایی، واکسن، انتقال ژن

مقدمه

باکتری زنده است (۲،۱) این روند با ایجاد یک سوراخ کوچک در انولوپ باکتری آغاز و سپس با خروج محتوای سیتوپلاسمی باکتری به دلیل اختلاف فشار اسمزی سیتوپلاسم با محیط، ادامه می‌یابد. یکی از مهم‌ترین مزیت‌های اصلی شیخ باکتری غیر زنده بودن آن است، درحالی که تمامی اجزای آنتی‌ژنی و ساختاری باکتری اولیه با همان عملکردهای طبیعی حفظ شده است (۴،۳،۲).

شیخ باکتریایی (*Bacterial Ghost*) در سال‌های اخیر به دلیل داشتن کاربردهای نوید بخش پزشکی و دارویی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. شیخ باکتریایی، پوشش‌های باکتریایی بدون محتوای داخلی باکتری است. این اشکال همه خصوصیات ساختاری، مورفولوژیکی و آنتی‌ژنی دیواره سلولی را دارا بوده و در حقیقت دارای ویژگی‌های مورفولوژیکی و ساختاری

نویسنده مسئول: دکتر مهدی گودرزی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
gudarzim@yahoo.com

دور ۳۹، شماره ۱، ۱۳۹۴، صفحات ۴۸ تا ۵۴

حالت ثابت جریان مایع اشک فقط مانع نفوذ عوامل آسیب زا نمی‌شوند، بلکه از نفوذ عوامل درمانی نیز جلوگیری می‌کنند. بنابراین برنامه‌های تحویل که بر این مانع غلبه می‌کنند، مصرف موثر دارو را برای مشکلات چشمی و بافت لنفونیدی میسر می‌سازند و به پیشبرد داروها، واکسن‌ها و ژن‌درمانی‌ها در مقابل بیماری‌های مختلف چشمی در آینده کمک خواهد کرد. به نظر می‌رسد شیخ باکتریایی تکنیک مناسب برای انتقال دارو به بافت‌هایی با نفوذپذیری کم باشد.

انتقال ژن

از DNA یا داروها می‌توان به عنوان مواد فعال برای درمان تومور استفاده کرد. تحقیق‌ها نشان می‌دهد که سلول‌های ملانوم انسانی و کارسینوم کلون را می‌توان با شیخ باکتریایی به ترتیب برای انتقال DNA یا داروها مورد هدف قرار داد. (۳۷،۳۶) در یک بررسی، هشت خط سلولی ملانوم که عملکردهای زیادی به صورت مشترک با سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن دارند، از لحاظ توانایی اتصال و فاگوسیتوز کردن شیخ باکتریایی بررسی شدند. سلول‌های Bowes حدود ۸۰ درصد ژن نشان‌دار شده‌ای که توسط شیخ باکتریایی به آن‌ها انتقال داده شده بود، را بیان کردند. این مطالعه نشان داد که سیستم شیخ باکتریایی به عنوان ابزاری برای انتقال RNAهای عملکردی مثل siRNA که آنزیم‌هایی برای تبدیل دارویی هستند، به کار می‌رود. (۳۸)

سلول‌های siRNA که از اجزای عملکردی مسیر RNA interference (RNAi) هستند، یکی از مهم‌ترین و موثرترین راه‌های خاموش‌سازی ژن‌ها در سلول‌های جانوری هستند. آن‌ها می‌توانند بیان ژن‌ها را در مرحله پس از رونویسی مهار کنند. در حقیقت siRNA در تنظیم بیان ژن نقش دارد. siRNA فعال‌کننده قوی سیستم ایمنی اولیه است که می‌تواند بیان سایتوکاین‌ها و ایتروفرن‌ها را با مقدار زیاد القا کند. به نظر می‌رسد از طریق اشباح باکتریایی می‌توان siRNA را وارد سلول‌های سرطانی و بیان ژن‌های سرطانی را خاموش کرد. همچنین می‌توان از آن برای فعال شدن برخی آنزیم‌ها برای شکستن برخی داروها و فعال کردن عملکرد داروها استفاده کرد. باتوجه به اهمیت این ژن‌ها و آنزیم‌ها برای تغییر عملکرد سلول‌های سرطانی و فعال کردن دارو ها، به نظر اشباح باکتریایی سیستم مناسبی برای انتقال هستند.

ساخت واکسن

در مطالعه‌ای که از سوی Arby Abtin و همکاران انجام شد، آثار اشباح باکتریایی به دست آمده از E.coli در تحریک سیستم ایمنی و تولید سایتوکاین‌های پیش التهابی و پپتیدهای آنتی میکروبیال ارزیابی شد به طوری که اشباح باکتریایی مشتق شده از تیپ وحشی E.coli نسبت به اشباح باکتریایی به دست آمده از E.coli با نقص در فلاژلین، بیشتر می‌توانست باعث ایجاد پاسخ های سیستم ایمنی ذاتی و سایتوکاین‌های پیش التهابی شود. در این مطالعه نشان داده شد که اشباح باکتریایی دارای فلاژلین توانایی القای بیان واسطه‌های ایمنی ذاتی را، بیشتر از اشباح باکتریایی فاقد فلاژلین دارد (۳۹). به نظر می‌رسد استفاده از سویه‌های وحشی فاقد نقص زنتیکی در ایجاد شیخ باکتریایی، می‌تواند با تولید سایتوکاین‌ها سیستم ایمنی را بهتر تقویت کند.

در مطالعه‌ای که از سوی طالب خان و همکاران در سال ۲۰۱۰ در تهران انجام گرفت، از شیخ هلیکوباکتر پیلوری حاوی Omp18 نوترکیب به عنوان یک واکسن کارآمد در ایمونیزاسیون موش‌های آلوده به هلیکوباکتر پیلوری استفاده شد. این واکسن در نهایت باعث افزایش قابل توجه آنتی بادی اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری شده و کلونیزاسیون این باکتری را در معده کاهش می‌داد. Omp18 باعث القای تولید IL-10، IL-۱۲ و IFN- γ می‌شد که موش C57BL/6 را در برابر عفونت هلیکوباکتر پیلوری محافظت می‌کرد. (۴۰) واکسیناسیون‌های خوراکی، آنتی ژن‌های بسیار محافظت شده و ایمنی را به مخاط معده منتقل می‌کنند که به خاطر قدرت‌شان در ایجاد ایمنی مخاطی، به عنوان بهترین روش‌ها

فعال‌سازی پاتوژن‌ها باشند. همه این روش‌ها اجزای ساختاری ضروری باکتری‌ها را تغییر شکل می‌دهند در حالی که فرآیند لیز به وسیله ژن E برای تولید اشباح باکتریایی، روش ژنتیکی، بیوشیمیایی است که به حفظ بیشتر خصوصیات آنتی ژنی آن‌ها منجر می‌شود.

انتقال دارو:

همان‌طور که پیشتر اشاره شد اشباح باکتریایی می‌توانند به عنوان یک عامل موثر در انتقال دارو ایفای نقش کنند. در بررسی که از سوی Verena Juliana و همکاران انجام شد، از شیخ باکتریایی برای انتقال داروی رسوراترول (Resveratrol) استفاده شد. آن‌ها نشان دادند که این دارو مانع تولید نیتریک اکسید (NO) در ماکروفاژ شده در حالی که هیچ گونه تاثیر سایتوتوکسیکی روی آن‌ها نداشت. (۳۳) رسوراترول عامل پایین آورنده کلسترول بد خون است و خطر ابتلا به امراض قلبی را کاهش و همچنین به عملکرد بهتر سلول‌های دفاعی کمک می‌کند. به نظر می‌رسد باکتری‌های شیخ و کتور مناسبی برای انتقال این دارو به ماکروفاژها و جلوگیری از افزایش کلسترول خون و تبعات ناشی از آن باشد.

در مطالعه دیگر نشان داده شد که شیخ باکتریایی هیچ گونه تاثیر توكسیکی روی رده‌های سلولی انسانی ندارد و می‌تواند آثار منفی ماده نگهدارنده بنزالکونیوم کلراید (BAC) را از بین ببرد و با فعالیت پر اکسیدازی خود H2O2 تولید شده توسط BAC را خنثی می‌کند. از شیخ باکتریایی مختلفی در این بررسی استفاده شد و بهترین نتایج با ETEC ۱۰۴۰۷ به دست آمد (۳۴). به نظر می‌رسد عدم تاثیرکشنده روی سلول‌ها و قدرت جذب سلولی شیخ باکتریایی می‌تواند برای اهداف درمانی مناسب باشد.

در مطالعه Paukner و همکارانش در سال ۲۰۰۴، طی تحقیقاتی از شیخ باکتریایی بارگذاری شده با دوگزورویسین (DOX) در درمان خط سلولی سرطان روده بزرگ در انسان استفاده و آن را با داروهای آزاد مقایسه کردند. در ادامه تحقیق‌ها مشخص شد که شیخ باکتریایی حاوی DOX غلظت‌های بازدارنده رشد را تا بیش از ۳۰۰ بار در مقایسه با EC50 داروی آزاد کاهش می‌دهد و غلظت‌های DOX داخل سلولی را تا ۴۲ بار در مقایسه با داروی آزاد افزایش می‌دهد. DOX دارای عوارض جانبی بر عملکرد قلب است و اغلب باید به محض رسیدن دارو به حداکثر دوز بحرانی، درمان تومور خاتمه یابد. بنابراین کاهش دوز مصرفی به عنوان یکی از مزیت‌های شیخ باکتریایی محسوب می‌شود (۳۵). این دارو سبب حساس شدن بافت‌های سرطانی نسبت به مواد پرتوزا برای تشخیص سلول‌های سرطانی می‌شود. به نظر می‌رسد با استفاده از شیخ باکتریایی و افزایش ضریب جذب مواد حساس کننده پرتویی، می‌توان در تشخیص سلول‌های سالم از سلول‌های سرطانی بهره جست.

در مطالعه Pavol Kudela و همکارانش، کارایی سلول‌های ملتحمة را در جذب شیخ باکتریایی با استفاده از خط سلول اپیتلیومی Chang و سلول‌های اپیتلیومی مشتق شده از ملتحمة انسان بررسی کردند. در این مطالعه مشاهده شد که شیخ باکتریایی ظرفیت بالایی برای ورود به رده سلولی ملتحمة انسان داراست و هیچ گونه اثرسیتوتوکسینی روی این رده ندارد. علاوه بر این، انکوباسیون ترکیبی با اشباح باکتریایی، ظهور MHC کلاس I و II را افزایش نداد، اما باعث افزایش ظهور ICAM-1 شد. در نتیجه این مطالعه شیخ باکتریایی را به عنوان یک حامل مناسب برای انتقال دارو در بیماری‌های چشمی معرفی می‌کند. (۳) شایان ذکر است که با توجه به بررسی‌های انجام شده ذکر این نکته ضروری به نظر می‌رسد که اپیتلیوم سطح چشم، نقش اساسی در حفاظت از چشم در مقابل فاکتورهای محیطی و پاتوژن‌ها ایفا می‌کند. این اپیتلیوم که ابتدا به عنوان یک مانع فیزیکی عمل می‌کند از چشم در برابر آسیب و پاتوژن‌ها و مواد حساسیت‌زا دفاع و به عنوان بخشی از بافت لنفونید همراه با چشم (EALT) به هموستاز سطح چشم کمک می‌کند. عملکرد ممانعتی اپیتلیوم ملتحمة چالشی را برای تحویل داروها و آنتی‌ژن‌ها برمی‌انگیزد. اتصالات محکم داخل سلولی و

کلامیدیاست، را در ویبریوکلا بیان کردند و سپس با پروتئین E ایجاد BG کردند. در این مطالعه واکنش‌های چند زیر واحدی را با تک زیر واحدی مقایسه کردند. واکنش چند زیر واحدی در مقایسه با واکنش تک زیر واحدی از ایمنی‌زایی بهتری برخوردار بود که فراوانی بیشتر سلول‌های Th1 و قابلیت نسبتاً بیشتری برای ایجاد ایمنی حفاظتی فراهم می‌کرد. (۴۶) موثرترین اقدام بلندمدت برای کنترل بیماری عفونی oculogenital در انسان استفاده از واکنس‌های کارآمد است که از باکتری *Chlamidia trachomatis* ناشی می‌شود. تعیین توالی ژنوم کلامیدیا چندین گزینه بالقوه را به عنوان واکنس مشخص کرده‌است و مشکل فعلی ایجاد وسیله‌ای کارآمد برای انتقال است که سطوح بالایی از پاسخ‌های سلول B مکمل و سلول T مخاطی را ایجاد کند. باکتری‌های شیخ ویبریوکلا سمی نیستند و وسیله‌ای کارآمد برای ارسال محسوب می‌شوند و از ویژگی تحریک ایمنی‌قدرتمندی برخوردارند و در بافت‌های مخاطی پاسخ‌های Ab و سلول T را القا می‌کنند. این فرضیه را بررسی کردیم که rVCG می‌تواند به عنوان وسیله کارآمدی برای ارسال واکنس‌های کلامیدیایی یک یا چند زیر واحدی عمل کند تا به این ترتیب ایمنی حفاظتی بالایی ایجاد کند. عفونت تناسلی با باکتری درون سلولی اجباری به نام کلامیدیا تراکوماتیس بخصوص در زنان خطر مهمی را مطرح می‌کند و اغلب به بیماری التهابی لگن، بارداری خارج رحمی و ناباروری منجر می‌شود. ساخت و استفاده از واکنس پیشگیری کننده یا واکنس درمانی که می‌تواند علیه عفونت یا حتی بهبود بیماری‌های سخت از بدن محافظت کند، همچنان موثرترین و نویدبخش‌ترین استراتژی برای کنترل بیماری‌های کلامیدیایی محسوب می‌شود که به دلیل بیماری‌زایی بالای آن در سراسر جهان مسئله‌ای اساسی در حوزه بهداشت عمومی محسوب می‌شود. پیشرفتی که در دو دهه اخیر در زمینه بیوتکنولوژی و ایمنی‌شناسی مولکولی حاصل شده‌است به جابه جایی تدریجی از سمت واکنس‌های کلاسیک و حاوی سلول کامل به سمت واکنس‌هایی منجر شده‌است که حاوی عوامل بیماری‌زای سالم و زنده ولی تضعیف شده تاپتیدها یا واکنس‌هایی زیر واحدی هستند. بنابراین ایجاد واکنس‌هایی بر اساس اجزای زیر واحدی کلامیدیایی کانون فعلی طراحی واکنس کلامیدیایی محسوب می‌شود. پروتئین غشای خارجی اصلی (MOMP) یکی از گزینه‌های برتر برای واکنس زیر واحدی است. این پروتئین ۴۰ kDa که قدرت ایمنی‌زایی بالایی دارد، به عنوان یک پورین، عامل چسبندگی، شاخص اصلی برای حالت اختصاصی جنس و گونه کلامیدیا و به عنوان واکنس بسیار نویدبخش به خوبی توصیف شده‌است. سایر کاندیدهای بالقوه برای ساخت واکنس در کمپلکس غشاء خارجی کلامیدیا تراکوماتیس عبارتند از پروتئین‌های غشای خارجی که از سیستمین غنی هستند. مانند OMP2 (60 kDa) و OMP3 (15 kDa). هرچند OMP2 در بین گونه‌های مختلف پنج ناحیه را نشان می‌دهد، در هر گونه از کلامیدیا به خوبی حفظ شده‌است و به عنوان آنتی‌ژنی با قابلیت ایجاد واکنش ایمنی بالا شناخته می‌شود که واکنش‌های آنتی‌بادی را در انسان و حیوان القا می‌کند و نیز عامل ایمنی‌زایی اساسی در عفونت‌های کلامیدیایی محسوب می‌شود.

نتیجه گیری و بحث

شیخ باکتریایی (BGs) تمام ویژگی‌های مورفولوژیک، ساختاری، آنتی‌ژنی دیواره سلولی را دارا ست و به عنوان کاندید مناسبی برای تحریک سیستم ایمنی و واکنسیناسیون، همچنین حامل‌های دارویی مطرح است. سرطان در جهان افزایش چشمگیری دارد به طوری که سازمان بین المللی تحقیقات روی سرطان (IARC) میزان مرگ و میر ناشی از سرطان را از ۸٫۲ میلیون نفر به ۱۳ میلیون نفر در سال اعلام کرد چرا که جمعیت جهان افزایش می‌یابد. شیوع بالای سرطان منجر به افزایش استفاده از تکنیک‌های شیمی‌درمانی و پرتو درمانی شده‌است. این تکنیک‌ها سبب آسیب به بافت‌های سالم نیز می‌شود. در نتیجه وجود تکنیک‌های جدید که بتواند به صورت هدفمند دارو را به بافت سرطانی منتقل کند

در واکنسیناسیون Hp شناخته می‌شوند. جدیدترین واکنس مورد استفاده در انسان شامل *CagA*، *NapA* و *VacA* می‌شود که پاسخ‌های سلول T خاصی را نمایان می‌کند. باوجود این موضوع، لیزات تمام سلولی که تمامی اجزای ایمنی Hp را شامل می‌شود به عنوان موثرترین واکنس شناخته می‌شود. *Omp18* به عنوان یک پپتیدوگلیکان در معرض سطح، می‌تواند تولید *IL-10* یک ترویج دهنده *Th2* و *IL-12* یک پیش‌نیاز *Th1* را از سلول‌های دندریتیک مغز استخوان به همراه ترشح *IFN-γ* توسط لمفوسیت‌های *Th1* ایجاد کند که همگی برای فعال‌سازی موثر هومورال میزبان و ایمنی سلولی ضروری هستند. این دستاورد احتمالات جدید و مهیجی را مهیا می‌کند که باید دوباره و با تعداد موش‌های بیشتری تایید شود که دارای پیش‌زمینه‌های ژنتیکی متفاوتی هستند.

در مطالعه ای که از سوی Thomas Ebsen و همکاران انجام گرفت، از شیخ باکتری منهمیا همولیتیکا به عنوان یک سیستم انتقال در ساخت واکنس استفاده شد. این شیخ باکتریایی باعث تعدیل پاسخ‌های *Th1* و *Th2* می‌شد. همچنین نشان داده شد که سلول‌های دندریتیک دارای یک نقش کلیدی در تحریک پاسخ‌های سیستم ایمنی، در زمان استفاده از شیخ باکتریایی به عنوان یک سیستم انتقال DNA هستند. به نظر می‌رسد شیخ باکتریایی به عنوان یک ادجوانت باعث تقویت بلوغ و فعال‌سازی سلول‌های دندریتیک می‌شوند. در این بررسی توانایی شیخ باکتریایی در تحریک تولید سایتوکاین توسط این سلول‌ها ارزیابی شد. به طوری که تولید *IL-1α* و *IL-6* به ترتیب ۲٫۴ و ۶۱۵ بار بیشتر از سلول‌های دندریتیک تحریک نشده بود. (۲)

Eko و همکارانش در سال ۲۰۰۳، روی شیخ باکتریایی و ویبریوکلا در خرگوش مطالعه‌هایی را انجام دادند. در این مطالعه‌ها مشاهده شد که ایمنی‌سازی خرگوش با شیخ باکتریایی به صورت خوراکی باعث افزایش پاسخ ایمنی علیه سرووار O1 و سرووار O139 می‌شود. (۴۱،۱۶) به نظر می‌رسد با استفاده از شیخ باکتریایی بتوان سیستم ایمنی را علیه عامل وبا تقویت و باعث ایمنی در انسان شد.

در مطالعه Hensel و همکارانش که روی آئروسول‌های اشباح باکتریایی اکینوباسیلوس پلورپنومونیه در خوک انجام دادند قطر این آئروسول‌ها ۱-۳ میکرومتر بود. در این مطالعه مشاهده شد خوک‌هایی که با این آئروسول‌ها مورد هدف قرار گرفته‌اند، دارای سطح بالایی از ایمنی هستند و شدت زخم‌های ناشی از این باکتری در آن‌ها به طور چشمگیری کاهش یافت. پاتوژن اکینوباسیلوس و مدل آزمایشگاهی خوک که در این بررسی استفاده شده بود، مدل خوبی برای ایمن‌سازی ریه انسان یا تحویل داروهای آئروسولی به عمق فضای آلوئولی به شمار می‌روند (۴۳،۴۲،۱۶). در این مطالعه به خوبی نشان داده شد که استفاده از شیخ باکتریایی سطح ایمنی را در خوک افزایش داد.

در مطالعه‌ای که از سوی Mayer و همکارانش روی EHEC BG در موش انجام شد، نتایج به دست آمده نشان داد که موش‌ها پس از دو دوز مصرف خوراکی BG ایمن شدند، در حالی که در بررسی‌های بیشتر مشاهده شد که همین نتیجه را می‌توان با یک ایمن‌سازی مقعدی در موش با EHEC BG به دست آورد. (۴۴)

در یکی از مطالعه‌های اخیر، آنتی‌ژن ۱۴۹ هسته ویروس هپاتیت B به عنوان پروتئین فیوژن در OMP-A قرار داده شد و بر سطح اشباح باکتریایی، *E.coli* بیان شد. این شیخ منجر به القای پاسخ ایمنی معناداری در برابر آنتی‌ژن ۱۴۹ هسته HBC در موش‌ها شد. (۴۵،۱۶) به نظر می‌رسد با این تکنیک بتوان آنتی‌ژن‌های ویروسی را روی شیخ باکتریایی لود کرد و سلول‌های سیستم ایمنی را علیه عوامل ویروسی تقویت کرد.

Francis و همکارانش برای درمان عفونت‌های کلامیدیا تراکوماتیس از باکتری‌های شیخ ویبریوکلا استفاده کردند. این شیخ باکتریایی اثر سمی ندارد و وسیله‌ای کارآمد برای انتقال محسوب می‌شوند و از ویژگی تحریک ایمنی قدرتمندی برخوردارند. پروتئین Omp که از پروتئین‌های غشایی

می‌تواند منجر به آسیب‌های بافتی شود. لازم است با دستکاری ژنتیکی، بخشی از این آنتی‌ژن‌ها را قبل از عرضه به بدن، غیر فعال کرد. از محدودیت‌های دیگر BGs، دشوار بودن تولید آن در باکتری‌های گرم مثبت است که باید مطالعه‌های بیشتری برای یافتن روش‌های مناسب‌تر برای ایجاد BGs در گرم مثبت انجام گیرد.

با این حال آسان بودن روش تولید BGs، هزینه کم و ایجاد ایمنی پایدار می‌تواند این تکنیک را به عنوان روش مناسبی برای اهداف درمانی معرفی کند. تحقیقات نشان داده که استفاده از تکنیک‌های ژنتیکی در مقایسه با روش‌های شیمیایی در تولید واکسن، باعث افزایش تحریک سیستم ایمنی می‌شود.

باتوجه به کاربردهای فراوان این تکنیک و نتایج به دست آمده، ضرورت مطالعه بیشتر روی این تکنیک و کارایی آن ضروری است.

پیشنهادهای:

باتوجه به کاربردها و ویژگی‌های شبیح باکتریایی می‌توان در زمینه تصویربرداری مولکولی به عنوان یک ایده جدید استفاده کرد. همچنین می‌توان از آن برای افزایش جذب حساس کننده‌های پرتویی لود شده در شبیح باکتریایی استفاده کرد که باعث افزایش ضریب جذب حساس کننده پرتویی در بافت تومورال هدف شود.

لود مواد پرتوزا درون شبیح باکتریایی که باعث افزایش ضریب جذب مواد پرتوزا درون بافت هدف می‌شود، می‌تواند باعث افزایش کیفیت تصویربرداری و همچنین حفاظت پرتویی ارگان‌های سالم می‌شود.

منابع

1. Amara AA, Salem-Bekhit MM, Alanazi FK. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *Sci World J*. 2013;1-7.
2. Ebensen T, Paukner S, Link C, Kudela P, de Domenico C, Lubitz W, Guzmán CA. Bacterial ghosts are an efficient delivery system for DNA vaccines. *J Immunol*. 2004;172(11):6858-65.
3. Kudela P, Koller VJ, Mayr UB, Nepp J, Lubitz W, Barisani-Asenbauer T. Bacterial Ghosts as antigen and drug delivery system for ocular surface diseases: Effective internalization of Bacterial Ghosts by human conjunctival epithelial cells. *J Biotech*. 2011;153(3):167-75.
4. Witte A, Wanner G, Sulzner M, Lubitz W. Dynamics of PhiX174 protein E-mediated lysis of *Escherichia coli*. *Arch Microbiol*. 1992;157(4):381-8.
5. Weisbeek PJ, Borrias WE, Langeveld SA, Baas PD, Van Arkel GA. Bacteriophage phiX174: gene A overlaps gene B. *Proc Natl Acad Sci*. 1977; 4(6):2504-8.
6. Pollock TJ, Tessman E, Tessman I. Identification of lysis protein E of bacteriophage phiX174. *J Virol*. 1978;28(1):408-10.
7. Witte A, Bläsi U, Halfmann G, Szostak M, Wanner G, Lubitz W. PhiX174 protein E-mediated lysis of *Escherichia coli*. *Biochimie*. 1990;72(2-3):191-200.
8. Markert A, Zillig W. Studies on the lysis of *Escherichia coli* C by bacteriophage phiX174. *Virology*. 1965;25(1):88-97.
9. Lubitz W, Harkness RE, Ishiguro EE. Requirement for a functional host cell autolytic enzyme system for lysis of *Escherichia coli* by bacteriophage phi X174. *J Bacteriol*. 1984;159(1):385-7.
10. Bläsi U, Linke RP, Lubitz W. Evidence for membrane-bound oligomerization of bacteriophage phi X174 lysis protein-E. *J Biol Chem*. 1989;264(8):4552-8.
11. Schön P, Schrot G, Wanner G, Lubitz W, Witte A. Two-stage model for

ضروری است. اشباح باکتریایی با قابلیت جذب سلولی قوی و ظرفیت بالایی که در انتقال آنتی ژن و دارو دارا هستند، به نظر می‌رسد بتوانند جایگزین مناسب برای درمان باشند. همان طوری که Paukner و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در تحقیقاتی از BG بارگذاری شده با دوگروویسین (DOX) در درمان خط سلولی سرطان روده بزرگ در انسان استفاده کردند. نتایج نشان داد که جذب درون سلولی دارو افزایش یافته و در نتیجه داروی آزاد کمتری در بدن می‌تواند جریان یابد و آسیب کمتری بر سلول‌های سالم ایجاد کند. (۳۵) اشباح باکتریایی خاصیت ادهزینی بالایی دارند. با توجه به این ویژگی استفاده از اشباح باکتریایی برای درمان بافت‌ها با قابلیت نفوذپذیری کم می‌تواند یک راهکار جدید باشد. استفاده از شبیح باکتریایی برای انتقال دارو به این بافت‌ها به نظر موثر باشد. همانطوری که Pavol و Kudela و همکارانش کارایی سلول‌های ملتحمة را در جذب BGs با استفاده از خط سلول اپیتلیومی Chang و سلول‌های اپیتلیومی مشتق شده از ملتحمة انسان بررسی کردند. نتایج نشان داد که اشباح باکتریایی بدون خاصیت سیتوتوکسیک و با ظرفیت بالایی می‌تواند جذب سلول‌های ملتحمة شود. (۳) حامل‌های باکتریایی در مقایسه با حامل‌های ویروسی، دارای فضای بیشتری برای لود یا بارگیری آنتی‌ژن، دارو و پلاسمید است.

با این وجود باید توجه داشت که وجود مقدار زیادی از لیپوپلی ساکارید، می‌تواند در بدن ایجاد تب و شوک کند. بنابراین دوز استفاده از BGs باید کنترل شود. هر چند در مطالعه‌های انجام گرفته، تا کنون عوارض جانبی گزارش نشده است. (۱۸) وجود آنتی ژن‌های فراوانی که در باکتری شبیح موجود است، می‌تواند سیستم ایمنی را بیش از حد تحریک و در نتیجه

integration of the lysis protein E of Φ X174 into the cell envelope of *Escherichia coli*. *FEMS microbiol Rev*. 1995;17(1-2):207-12.

12. Langemann T, Koller VJ, Muhammad A, Kudela P, Mayr UB, Lubitz W. The bacterial ghost platform system: production and applications. *Bioeng Bugs*. 2010;1(5):326-36.

13. Panthel K, Jechlinger W, Matis A, Rohde M, Szostak M, Lubitz W, et al. Generation of *Helicobacter pylori* ghosts by PhiX protein E-mediated inactivation and their evaluation as vaccine candidates. *Infect Immun*. 2003;71(1):109-16.

14. Szostak MP, Hensel A, Eko FO, Klein R, Auer T, Mader H, Haslberger A, Bunka S, Wanner G, Lubitz W. Bacterial ghosts: non-living candidate vaccines. *J Biotech*. 1996;44(1):161-70.

15. Witte A, Brand E, Mayrhofer P, Narendja F, Lubitz W. Dependence of PhiX174 protein E-mediated lysis on cell division activities of *Escherichia coli*. *Arch Microbiol*. 1998;170:259-68.

16. Mayr UB, Walcher P, Azimpour C, Riedmann E, Haller C, Lubitz W. Bacterial ghosts as antigen delivery vehicles. *Adv Drug Delivery Rev*. 2005;57(9):1381-91.

17. Altman E, Young K, Garrett J, Altman R, Young R. Subcellular localization of lethal lysis proteins of bacteriophages lambda and phiX174. *J Virol*. 1985;53(3):1008-11.

18. Halfmann G, Götz F, Lubitz W. Expression of bacteriophage PhiX174 lysis gene E in *Staphylococcus carnosus* TM300. *FEMS Microbiol Lett*. 1993;108(2):139-43.

19. Witte AN, Wanner GE, Bläsi U, Halfmann GA, Szostak M, Lubitz W. Endogenous transmembrane tunnel formation mediated by phi X174 lysis protein E. *J Bacteriol*. 1990;172(7):4109-14.

20. Eko FO, Witte A, Huter V, Kuen B, Fürst-Ladani S, Haslberger A, Katinger

- A, Hensel A, Szostak MP, Resch S, Mader H. New strategies for combination vaccines based on the extended recombinant bacterial ghost system. *Vaccine*. 1999;17(13):1643-9.
21. Yu SY, Peng W, Si W, Yin L, Liu SG, Liu HF, Zhao HL, Wang CL, Chang YH, Lin YZ. Enhancement of bacteriolysis of Shuffled phage PhiX174 gene E. *Virology*. 2011;8(1):1.
22. Ebensen T, Paukner S, Link C, Kudela P, de Domenico C, Lubitz W, Guzmán CA. Bacterial ghosts are an efficient delivery system for DNA vaccines. *J Immunol*. 2004;172(11):6858-65.
23. Lubitz W, Halfmann G, Plapp R. Lysis of *Escherichia coli* after infection with ϕ X174 depends on the regulation of the cellular autolytic system. *Microbiology*. 1984;130(5):1079-87.
24. Halfmann G, Leduc M, Lubitz W. Different sensitivity of autolytic deficient *Escherichia coli* mutants to the mode of induction. *FEMS Microbiol Lett*. 1984;24(2-3):205-8.
25. Zheng Y, Struck DK, Young R. Purification and functional characterization of ϕ X174 lysis protein E. *Biochemistry*. 2009;48(22):4999-5006.
26. Witte A, Brand E, Mayrhofer P, Narendja F, Lubitz W. Mutations in cell division proteins FtsZ and FtsA inhibit ϕ X174 protein-E-mediated lysis of *Escherichia coli*. *Arch Microbiol*. 1998;170(4):259-68.
27. Jechlinger W, Szostak MP, Witte A, Lubitz W. Altered temperature induction sensitivity of the lambda pR/cI857 system for controlled gene E expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*. 1999;173(2):347-52.
28. Plackett RL, Burman JP. The design of optimum multifactorial experiments. *Biometrika*. 1946;33(4):305-25.
29. Hatfaludi T, Liska M, Zellinger D, Ousman JP, Szostak M, árpád Ambrus, Jalava K, Lubitz W. Bacterial ghost technology for pesticide delivery. *J Agric Food Chem*. 2004;52(18):5627-34.
30. Mayr UB, Walcher P, Azimpour C, Riedmann E, Haller C, Lubitz W. Bacterial ghosts as antigen delivery vehicles. *Adv Drug Delivery Rev*. 2005;57(9):1381-91.
31. Jechlinger W, Haidinger W, Paukner S, Mayrhofer P, Riedmann E, Marchart J, Mayr U, Haller C, Kohl G, Walcher P, Kudela P. Bacterial ghosts as carrier and targeting systems for antigen delivery. *Vaccine Delivery Strategies*. 2002:163-84.
32. Walcher P, Mayr UB, Azimpour-Tabrizi C, Eko FO, Jechlinger W, Mayrhofer P, Alefantis T, Mujer CV, DelVecchio VG, Lubitz W. Antigen discovery and delivery of subunit vaccines by nonliving bacterial ghost vectors. *Expert Rev Vaccines*. 2004;3(6):681-91.
33. Koller VJ, Dirsch VM, Beres H, Donath O, Reznicek G, Lubitz W, Kudela P. Modulation of bacterial ghosts-induced nitric oxide production in macrophages by bacterial ghost-delivered resveratrol. *FEBS J*. 2013;280(5):1214-25.
34. Khoshnoud S, Bahramian A, Goudarzi M. bacterial ghosts: new challenges in medical and pharmaceutical applications. *Int J Anal Pharm Biomed Sci*. 2015;4(6):43-7.
35. Paukner S, Kohl G, Lubitz W. Bacterial ghosts as novel advanced drug delivery systems: antiproliferative activity of loaded doxorubicin in human Caco-2 cells. *J Controlled Release*. 2004;94(1):63-74.
36. Brady MS, Lee F, Petrie H, Eckels DD, Lee JS. CD4+ T cells kill HLA-class-II-antigen-positive melanoma cells presenting peptide in vitro. *Cancer Immun Immunother*. 2000;48(11):621-6.
37. Curiel-Lewandrowski C, Demierre MF. Advances in specific immunotherapy of malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol*. 2000;43(2):167-88.
38. Kudela P, Paukner S, Mayr UB, Cholujova D, Kohl G, Schwarczova Z, Bizik J, Sedlak J, Lubitz W. Effective gene transfer to melanoma cells using bacterial ghosts. *Cancer Lett*. 2008;262(1):54-63.
39. Abtin A, Eckhart L, Mildner M, Gruber F, Schröder JM, Tschachler E. Flagellin is the principal inducer of the antimicrobial peptide S100A7c (psoriasin) in human epidermal keratinocytes exposed to *Escherichia coli*. *FASEB J*. 2008;22(7):2168-76.
40. Talebkhan Y, Bababeik M, Esmaili M, Oghalaei A, Saberi S, Karimi Z, Afkhami N, Mohammadi M. *Helicobacter pylori* bacterial ghost containing recombinant Omp18 as a putative vaccine. *J Microbiol Methods*. 2010;82(3):334-7.
41. Eko FO, Schukovskaya T, Lotzmanova EY, Firstova VV, Emalyanova NV, Klueva SN, Kravtsov AL, Livanova LF, Kuttyrev VV, Igietseme JU, Lubitz W. Evaluation of the protective efficacy of *Vibrio cholerae* ghost (VCG) candidate vaccines in rabbits. *Vaccine*. 2003;21(25):3663-74.
42. Katinger A, Lubitz W, Szostak MP, Stadler M, Klein R, Indra A, Huter V, Hensel A. Pigs aerogenously immunized with genetically inactivated (ghosts) or irradiated *Actinobacillus pleuropneumoniae* are protected against a homologous aerosol challenge despite differing in pulmonary cellular and antibody responses. *J Biotech*. 1999;73(2):251-60.
43. Hensel A, van Leengoed LA, Szostak M, Windt H, Weissenböck H, Stockhofe-Zurwieden N, Katinger A, Stadler M, Ganter M, Bunka S, Pabst R. Induction of protective immunity by aerosol or oral application of candidate vaccines in a dose-controlled pig aerosol infection model. *J Biotech*. 1996;44(1):171-81.
44. Mayr UB, Haller C, Haidinger W, Atrasheuskaya A, Bukin E, Lubitz W, Ignatyev G. Bacterial ghosts as an oral vaccine: a single dose of *Escherichia coli* O157: H7 bacterial ghosts protects mice against lethal challenge. *Infect Immun*. 2005;73(8):4810-7.
45. Jechlinger W, Haller C, Resch S, Hofmann A, Szostak MP, Lubitz W. Comparative immunogenicity of the hepatitis B virus core 149 antigen displayed on the inner and outer membrane of bacterial ghosts. *Vaccine*. 2005;23(27):3609-17.
46. Eko FO, Barisani-Asenbauer T. Development of a *Chlamydia trachomatis* bacterial ghost vaccine to fight human blindness. *Hum Vaccines*. 2008;4(3):176-83.