مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و نهم، شماره پنج، مرداد ۱۴۰۰
تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۰۴/۱۴
تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۰۸/۲۸

اصلاحات اپی‌ژنتیکی ناشی از عفونت باکتریایی در ژن‌های میزبان

مریم پرهام‌فر[۱]، مرضیه رضایی[۲*]

مقاله مروری

مقدمه: مکانیسم اپی‌ژنتیک، تنظیم بیان ژنوم برای تولید انواع مختلف سلول در طی توسعه یا هماهنگی پاسخ‌های سلولی به محرک‌های خارجی است. در حالی‌که اپی‌ژنتیک از اهمیت اساسی در یوکاریوت‌ها برخوردار است، نقش متفاوتی نیز در باکتری‌ها دارد. این مقاله به مهم‌ترین تحقیقات اخیر در مورد اینکه چگونه باکتری‌ها می‌توانند علائم اپی‌ژنتیک را تغییر دهند و منجر به بیماری‌های مختلف شوند و یا در ایجاد آن همکاری کنند، می‌پردازد.

در این مطالعه مروری، جهت جستجوی مقالات از پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed, Sciencedirect, Google Scholar و Scopus استفاده شد.

تحقیقات نشان داده‌اند، باکتری‌ها می‌توانند ساختار کروماتین و برنامه رونویسی سلول‌های میزبان را با نفوذ عوامل اپی‌ژنتیک متنوع (مانند تغییرات هیستونی، متیلاسیون DNA، کروماتین وابسته به کمپلکس و فاکتورهای پیرایش RNA) تحت تاثیر قرار دهند. هم‌چنین، اختلال تنظیم اپی‌ژنتیک ناشی از باکتری‌ها ممکن است بر عملکرد سلول میزبان در دفاع میزبان یا اجازه تداوم پاتوژن، موثر باشد. بنابراین، باکتری‌های بیماریزا را می‌توان به‌عنوان اپی‌موتاژنز بالقوه که قادر به تغییر شکل اپی‌ژنوم هستند، در نظر گرفت که اثرات آن‌ها منجر به اختلال عملکرد سلولی می‌گردد و احتمالاً روی ایمنی و منشأ بیماری‌های مزمن و غیرمنتظره، نقش دارد و باعث بروز یا همکاری در گسترش تغییرات پاتولوژیکی می‌شود.

نتیجه‌گیری: تغییرات اپی‌ژنتیک در طول توسعه و در پاسخ به عوامل محیطی در ایجاد تنوع فنوتیپی و استعداد ابتلا به بعضی از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عفونی، سرطان‌ها، اختلالات خود ایمنی و متابولیکی، مشارکت می‌کند.

واژه‌های کلیدی: عفونت‌های باکتریایی، متیلاسیون DNA، اپی‌ژنتیک، تغییرات هیستونی

ارجاع: پرهام فر مریم، رضایی مرضیه. **اصلاحات اپی‌ژنتیکی ناشی از عفونت باکتریایی در ژن‌های میزبان.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۵): ۳۷۰۹-۳۶۹۸.

۱- گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران.
۲- گروه سلولی مولکولی و میکروبیولوژی، دانشکده علوم و فن‌آوری‌های زیستی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۳۱۳۷۹۳۲۴۶۹، پست الکترونیکی: m.rezaeibio@gmail.com، صندوق پستی : ۷۳۴۴۱-۸۱۷۱۶

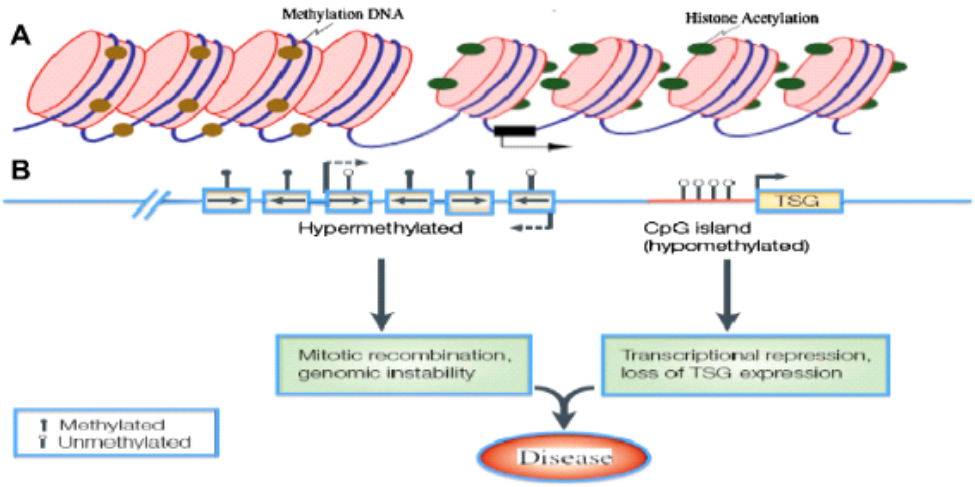
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

مقدمه

اپی‌ژنتیک در باکتری‌ها

در گذشته، اصطلاح "اپی‌ژنتیک" برای توصیف تمایز سلول‌های ژنتیکی یکسان به سمت انواع سلول‌های مجزا به شکل بافت و اندام در طول توسعه یک ارگانیسم چند سلولی به‌کار می‌رفت. در سال ۱۹۴۲، وادینگتون برای اولین بار مفهوم اپی‌ژنتیک را به‌صورت تاثیر عوامل زیست محیطی در توسعه و ایجاد صفات خاص از طریق تعامل ژن - محیط، معرفی نمود (۱). عبارت وادینگتون "تعامل ژن با محیط خود که باعث ایجاد فنوتیپ می‌شود" کلیدی برای زیست شناسی تکاملی می‌باشد، یعنی "ایده‌ای که خصوصیات فنوتیپی یا مورفولوژیکی و عملکردی یک ارگانیسم، به‌طور مداوم با یک برنامه تعریف شده توسط ژنوم تحت تاثیر محیط ارگانیسم، به‌وجود می‌آید" (۲). در مفهوم گسترده‌تر، هر نوع اطلاعات اضافی بر روی توالی DNA (به‌عنوان مثال متیلاسیون DNA) را می‌توان "اپی‌ژنتیک" در نظر گرفت (۳). جنبه‌های مدرن اپی‌ژنتیک به تغییر DNA یا پروتئین‌های مرتبط بدون تغییر در توالی DNA، اشاره می‌کند که اطلاعات موجود را به نسل بعدی منتقل می‌نماید (شکل ۱).



شکل ۱: یک منطقه نماینده از DNA ژنومی نشان داده شده است. متیلاسیون باقی مانده سیتوزین با خاموش کردن ژن در ارتباط است. هم‌چنین تغییرات در متیلاسیون می‌تواند اکتسابی باشد (برای مثال در سلول‌های سرطانی). رونویسی ژن سرکوبگر تومور مرتبط با یک جزیره CpG هیپو متیله است (با رنگ قرمز نشان داده شده است) (۳).

در مجموع پدیده اپی‌ژنتیک شامل موارد زیر است:

- پریون‌ها که در ساختار پروتئین به‌طور وراثتی منتقل می‌شوند (۴)،
- نقش‌پذیری ژنی (genomic imprinting) که با سرکوب مونو آلل ژن مادری و یا پدری به ارث می‌رسد (۵)،
- تغییر هیستون، مانند متیلاسیون لیزین‌ها توسط فاز هیستون متیل ترانسفرازها (MTases) که حالت فعال و خاموش کروماتین را حفظ می‌کند (۶)،
- تشکیل الگوهای متیلاسیون DNA به‌عنوان یک نتیجه از مهار متیلاسیون DNA اختصاصی به‌وسیله اتصال پروتئین (۷). هر کدام از این پدیده‌ها شامل هم حالت‌های خود پایدار بوده که پروتئین یا DNA به آن‌ها مرتبط هستند (۸) و هم وضعیت خاصی از مولکول‌ها می‌باشد که بر بیان ژن تاثیر می‌گذارند. تنظیم اپی‌ژنتیک می‌تواند موجودات تک سلولی را قادر به پاسخ سریع به تنش‌های محیطی و یا پیام‌دهی کند. به‌عنوان مثال، مخمر پریون +PSI که با تغییر ساختار فاکتور انتهایی ترجمه Sup35p تولید می‌شود، توسط سلول‌های دختر به ارث می‌رسد. در پریون +PSI، کدون‌های غیر کدگذار خوانده می‌شوند که می‌تواند یک مزیت بقا در شرایط نامطلوب مانند رشد در پاراکوات یا کافئین فراهم کند (۹). در یک جمعیت مخمر،

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]
[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

برخی از سلول‌های مخمر، پریون را حمل می‌کنند و برخی دیگر حمل نخواهند کرد. این وضعیت، انعطاف پذیری بالقوه در پاسخ جمعیت مخمر به تغییرات محیطی، فراهم می‌کند (۱۰). باکتری‌ها هم‌چنین از مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک برای تغییر فاز و کنترل این تغییر استفاده می‌کنند. در تغییر فاز، بیان ژن بین حالت فعال (فاز ON) و غیر فعال (فاز OFF) تناوب دارد. به‌عنوان مثال، سلول‌های اشرشیاکلی عامل عفونت دستگاه ادراری (UPEC) دستخوش تغییر فاز پیلی می‌باشند (شکل ۲) (۱۱). هم‌چنین اغلب ژن‌های ادهسین در اشرشیاکلی توسط مکانیسم‌های اپی‌ژنتیک درگیر در الگوهای متیلاسیون DNA تنظیم می‌شوند (۱۲).

۱. تغییرات میزبان ناشی از پاتوژن

غالباً تصور بر این است که بیماری‌ها عمدتاً توسط تغییرات ژنتیکی اکتسابی، هدایت می‌شوند. در حال حاضر، روشن شده است که هر فنوتیپ نتیجه فعل و انفعالات پیچیده بین ژنوتیپ، اپی-ژنوم و محیط زیست می‌باشد (۱۳). متیلاسیون DNA و هیستون، استیلاسیون، فسفریلاسیون، ADP- ریبوزیلاسیون، تکرار ناشی از ژن‌های خاموش، تداخل miRNAها، تجمع، نقش‌پذیری ژنی و غیره ...، تعداد کمی از نمونه‌های اپی‌ژنتیک می‌باشند (۱۳،۱۴). از طرفی تغییرات فیزیولوژی، مورفولوژی و رفتاری میزبان ناشی از پاتوژن، به طور گسترده در تحقیقات علمی نشان داده شده است. یکی از جذاب‌ترین نمونه‌های این تغییرات، آن‌هایی هستند که نتیجه یک استراتژی دستکاری پاتوژن هدف در به حداکثر رساندن بقا و انتقال را نشان داده‌اند. شواهدی گزارش شده که تغییرات هیستون و بازسازی کروماتین، بیان ژن را تنظیم می‌کند که اهداف کلیدی برای دستکاری پاتوژن در طول یک عفونت هستند (۱۵). از اهداف دیگر، سیستم ایمنی بدن میزبان است. مدولاسیون اپی‌ژنتیک در برنامه رونویسی میزبان به ژن‌های دفاعی میزبان مرتبط می‌شود که معمولاً در عفونت باکتریایی و حتی ویروسی، آشکار می گردد (۱۶).

۲. تغییرات اپی‌ژنتیک ناشی از تهاجم میکروبی

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عوامل عفونی خاص (هلیکوباکتر پیلوری، استرپتوکوکوس بوویس، کلامیدیا پنومونیه، کمپیلوباکتر رکتوس، ویروس اپشتین‌بار، ویروس هپاتیت، ویروس پاپیلومای انسانی، پولیوما ویروس و غیره) می‌توانند در تغییرات اپی‌ژنتیک از جمله متیلاسیون ژن میزبان، مشارکت کنند و منجر به شروع و پیشرفت برخی از بیماری‌ها به‌خصوص سرطان شوند. به‌عنوان مثال، نقش فلور میکروبی روده پستانداران به‌عنوان فاکتور تغییر دهنده اپی‌ژنتیک در بیماری سندرم متابولیک و سایر بیماری‌های مرتبط گزارش شده است (۱۷). به این ترتیب، سیگنال‌های مختلف زنده و غیر زنده باعث تغییر در بیان ژن می‌شوند و حتی می‌توانند پس از توقف اثر، باقی بمانند (۱۸). علاوه براین، باکتری‌های بومی روده در مکانیسم‌های اپی‌ژنومی و عواقب ناشی از عدم تعادل میکرواکولوژیک روده و ناهنجاری‌های اپی‌ژنتیک در شروع و پیشرفت بیماری نقش دارند (۱۹). میکروب‌هایی که باعث عفونت‌های مداوم می‌شوند، احتمالاً از تغییرات اپی‌ژنتیک ارثی در رونویسی میزبان بهره می‌برند که برای حالت نهفته یا مزمن خود، بدون نیاز به بیان مداوم عوامل موثر در شروع و راه اندازی یک محیط ویژه، فعالیت می‌کنند (۲۰). برخی از عفونت‌های باکتریایی مزمن نیز با بدخیمی همراه هستند که در این زمینه، بیشتر عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مخاط معده انسان مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۱). علاوه بر باکتری‌ها، عفونت‌های ویروسی نیز می‌توانند باعث عدم تنظیم الگوهای سرکوبگر تغییرات هیستونی شوند که می‌تواند متیلاسیون DNA نابجا، برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های آلوده و نسل بعدی آن‌ها را تسریع کند. این مسئله می‌تواند باعث مهار ژن‌های سرکوب‌گر تومور شود که یک انتخاب قوی در پیشرفت سرطان خواهد بود (۲۰). در نهایت باید متذکر شد که مکانیسم‌های کنترل بیان ژن در سطح کروماتین، سطح بالایی از پیچیدگی را نشان می‌دهند. محصولات باکتریایی مختلف می‌توانند آن‌ها را در بسیاری از مسیرها (جدول ۱) از طریق فعال‌سازی سیگنال‌های متوالی یا به‌طور مستقیم در هسته، تحت تاثیر قرار دهند که در ادامه به تفصیل آمده است (۲۲).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

جدول ۱: گونه‌های باکتریایی، عوامل و اثرات

گونه‌های باکتریایی	فاکتورهای بکتریایی	اثرات
آناپلاسما فاگوسیتوفیلوم	-	۱) داستیلاسیون هیستون و خاموش کردن ژن‌های دفاعی میزبان
	AnkA	۲) اتصال به توالی کروماتین غنی از AT، خاموش کردن CYBB
باسیلوس آنتراسیس	LT (سم کشنده)	مهار MAPKand و H3S10p و تنظیم کاهشی ژن‌های *IL-8* و *KC*.
کمپیلوباکتر رکتوس	-	هایپرمتیلاسیون در منطقه پروموتر P0 ژن *IGF2* در جفت موش آلوده
کلامیدیا تراکوماتیس	NUE	متیلاسیون هیستون پستانداران
اشرشیاکلی (UPEC)	-	متیلاسیون DNA و تنظیم کاهشی CDKN2A
ارلیشیا کافینسیس	-	اتصال به کروماتین در عناصر Alu-Sx
هلیکوباکتر پیلوری	-	۱) القا متیلاسیون DNA در مخاط معده ۲) القای تغییرات H3 ۳) القای بیان miRNA ۴) القا فاکتورهای پیرایش RNA
لژیونلا پنموفیلا	فلاژلین	استیلاسیون هیستون در سلول‌های اپیتلیال آلوده ریه
لیستریا	-	۱) استیلاسیون H4 و فسفریلاسیون / استیلاسیون H3، به ویژه در پروموتر IL-8 و کاهش اتصال HDAC1 در پروموتر IL8 در سلول‌های اندوتلیال عفونی با لیستریا. ۲) تغییرات هیستون و مدولاسیون ژن‌های دفاعی میزبان توسط یک مسیر سیگنالینگ شامل جریان K^+
	LLO (لیستریولیزین O)	۳) تنظیم کاهشی ISG توسط BAHD1 مرتبط با کمپلکس در سلول‌های اپیتلیال ۴) تنظیم افزایشی ISG با مهار واسطه LntA از BAHD1 مرتبط با کمپلکس ۵) تغییر در بیان یک زیر مجموعه از miRNA های میزبان
	-	
	LntA	
موراکسلا کاتارالیس	-	کاهش در بیان سراسری و فعالیت HDAC1/2 در مسیر جریان هوا سلول‌های اپیتلیال
مایکوباکتریوم توبرکلوزیس	-	کنترل کمپلکس کروماتین در ISG پایین دست IFN-γ
پورفیرومونواس ژنژیوالیس	-	فعال شدن مجدد ویروس نهفته از طریق تغییر کروماتین ناشی از اسید بوتیریک
سالمونلا		تغییر در بیان یک زیر مجموعه از miRNA های میزبان
شیگلا فلکسنری	OspF	۱) تنظیم کاهشی MAP کیناز در هسته توسط المینیلاسیون، مهار فسفریلاسیون، تنظیم کاهشی ژن‌های پاسخ ایمنی مهار کننده دسترسی به NF-κB کروماتین که منجر به غیر فعال شدن IL-8 و ژن‌های ضروری دیگر برای پاسخ ایمنی ذاتی می گردد.
	OspB	۲) اتصال به Rb
	IpaH9.3	۳) لیگاز یوبیکوئیتن که یک فاکتور پیرایش برای تخریب مورد هدف قرار می‌دهد و باعث اختلال در پیرایش می‌شود.
محصولات باکتریایی	LPS (لیپوپلی ساکارید)	۱) القاکننده ایمنی ذاتی از طریق فعال شدن پاسخ با واسطه TLR4 و تولید سیتوکین‌های پیش التهابی، القا سرکوب سیستم ایمنی توسط تغییرات کروماتین در چالش‌های تکرار شده
	(بوتیرات)	۲) مهار فعالیت HDAC

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

۳. گونه‌های باکتریایی، عوامل و اثرات

۳-۱. تغییرات هیستونی

تاکنون، بسیاری از تغییرات کروماتین القا شده توسط باکتری‌ها مانند، استیلاسیون / داستیلاسیون و فسفریلاسیون / دفسفریلاسیون هیستون از طریق فعال شدن پیام‌دهی آبشاری سلول میزبان توسط اجزای باکتریایی (به‌عنوان مثال، الگوهای مولکولی وابسته به میکروب، متابولیت‌ها و عوامل ویرولانس) رخ می‌دهند (۲۳). در میان مسیرهای سیگنال‌دهی میزبان که تعدادی از باکتری‌ها فعال می‌شوند، MAPKs، NF-kB و مسیرهای PI3K برای فعال کردن کینازها که H3S10 را در هسته فسفریله می‌کنند، شناخته شده‌اند (۲۴). هر محرک باکتریایی فعال در این مسیرها، دارای پتانسیل القا H3S10p می‌باشد و مرتبط با هیستون‌های استیله شده است. در سلول‌های HUVEC اندوتلیال، لیستریا مونوسیتوژنز عامل لیستریوز به سرعت فسفریلاسیون و استیلاسیون هیستون‌ها، به ویژه در پروموتر ژن پیش التهابی IL-8 را افزایش می‌دهد (۲۵). فلاژل لژیونلا پنموفیلا، عامل بیماری لژیونر و لیپوپلی‌ساکارید باکتریایی (LPS)، دارای اثرات مشابهی به ترتیب روی IL-8 در سلول‌های اپیتلیال ریه و سلول‌های دندریتیک می‌باشند (۲۷، ۲۶). باکتری‌های همسفره، مانند موراکسلا کاتارالیس، یک باکتری ساپروفیت دستگاه تنفسی یا باکتریوئیدس ولگاتوس یک کامنسال فلور روده‌ای، می‌توانند فسفریلاسیون/ استیلاسیون H3 را از طریق القا یک پیام‌دهی آبشاری التهابی، تحریک کنند (۲۹، ۲۸). سموم باکتریایی مانند سم کشنده (LT) باسیلوس آنتراسیس عامل سیاه‌زخم، نیز پاسخ ایمنی ذاتی میزبان را توسط مهار فسفریلاسیون/ استیلاسیون H3، کاهش می‌دهند (۳۰). سموم دیگر، از جمله لیستریولیزین O (LLO) لیستریا مونوسیتوژنز، PFO کلستریدیوم پرفرینجنس، PLY استرپتوکوکوس پنومونیه و آئرولیزین از آئروموناس هیدروفیلا اثرات مشابهی دارند (۳۱). باکتری هلیکوباکتر پیلوری سرطان‌زا نیز قادر به تغییر هیستون با استفاده از ابزارهای متنوع از جمله مدولاسیون مسیر MAPK است (۳۲). تغییرات کروماتین ممکن است به اثرات هلیکوباکتر در پیشرفت چرخه سلولی، تکثیر و مرگ سلول‌ها کمک کند (۳۳). باکتری‌ها هم‌چنین می‌توانند متابولیت‌های فعال به‌عنوان مهار کننده‌های آنزیم‌های تغییر دهنده کروماتین تولید کنند که یکی از این محصولات اسید بوتیریک می‌باشد. قابل ذکر است که اثر سوء پورفیروموناس ژنژیوالیس در فعال شدن مجدد ویروس‌های پنهان، مانند ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) و سندرم اپشتین بار (EBV)، ظاهراً ناشی از تولید بوتیرات توسط این باکتری می‌باشد (۳۴).

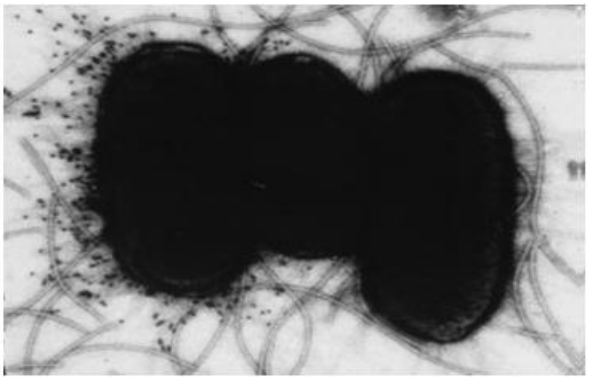
۳-۲. متیلاسیون DNA

اکثر سیستم‌های اپی‌ژنتیک شناخته شده در باکتری‌ها از متیلاسیون DNA به‌عنوان یک سیگنال استفاده می‌کنند که تعامل DNA - پروتئین خاص را تنظیم می‌کند. این سیستم‌ها معمولا از یک DNA آدنین متیلاز (Dam) و پروتئین‌های متصل شونده به DNA تشکیل شده‌اند که این پروتئین‌ها به توالی‌هایی از DNA که با جایگاه متیلاسیون هدف هم‌پوشانی دارد، متصل شده و مکان متیلاسیون آن محل را مسدود می‌کند. متیلاسیون جایگاه هدف به نوبه خود، مانع از اتصال پروتئین می‌شود و منجر به دو حالت متیلاسیون متناوب (متیله و غیرمتیله) در جایگاه هدف می‌شود (۳۵). دو مورد از آنزیم‌های متیلاز، Dam متیلاز از باکتری‌های روده‌ای و CcrM متیلاز از کالوباکتر کرسنتوس می‌باشند که نمونه‌های یک فرآیند تکاملی بوده که در متیلاسیون آدنین DNA به‌عنوان یک مکانیسم سیگنال‌دهی فعالیت می‌کنند و تعاملات DNA - پروتئین را تنظیم می‌نمایند. در هر دو گاما و آلفاپروتئوباکتریا، متیلاسیون آدنین DNA، همانندسازی کروموزوم و رونویسی جفت ژن‌های خاص برای عبور چنگال همانندسازی DNA را تنظیم می‌کند. در برخی موارد، پروتئین متصل شونده تنظیم کننده، متیلاسیون DNA را مهار می‌کند و الگوهای متیلاسیون DNA که نشانه وضعیت‌های متناوب اپی‌ژنتیک هستند، تولید می‌کند. الگوهای متیلاسیون DNA توسط شرایط محیطی از طریق تغییرات در پروتئین متصل شونده نظارتی، تعدیل می‌شوند. جمعیت‌های باکتریایی ممکن است از الگوهای متیلاسیون DNA به ارث برده، استفاده کنند که به‌عنوان یک حافظه کوتاه مدت شرایط متابولیک می‌باشد که در نسل قبل، پیشرفت کرده و تقسیم می‌شوند.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

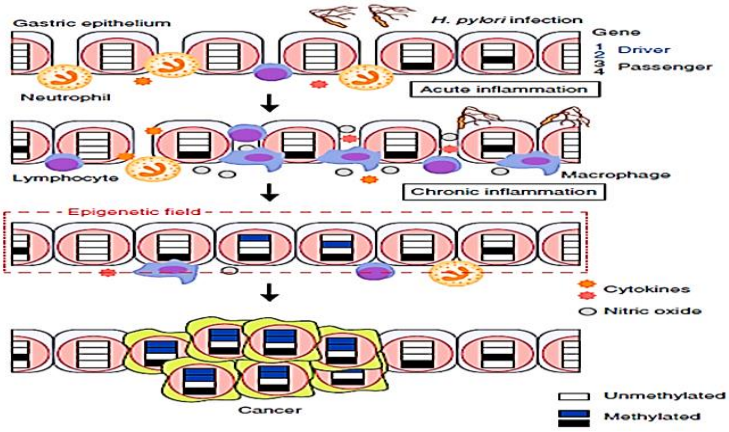
متیلاسیون DNA نیز نقش مهمی در تنوع پاتوژن‌های باکتریایی دارد و احتمال طراحی داروهای ضد باکتری جدید را بالا می‌برد که ممکن است متیلاسیون آدنین DNA را مهار کند. از یک دارو از این نوع می‌توان انتظار داشت که ویرولانس نوع وحشی باکتری‌ها را توسط تبدیل آن‌ها به فنوکپی‌های موتان‌های Dam، مهار کند (۳۶). باید در نظر داشت که با افزایش چشمگیر باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، امروزه طراحی و معرفی داروهای جدید، اهمیت قابل توجهی دارد (۳۷). نقش وقوع متیلاسیون DNA در ارتباط با عفونت‌های باکتریایی به‌طور فزاینده درک شده است. بهترین مثال، عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد که باعث متیلاسیون DNA نابجا در مخاط معده انسان می‌شود و به‌طور قابل توجهی در پروموترهای ژن‌های متیله در سلول‌های سرطان معده، یافت شده است (۳۸). هایپرمتیلاسیون وابسته به‌هلیکوباکتر پیلوری، برای مثال در ژن E–کادهرین در CDH1 (۳۹)، ژن سرکوب کننده تومور (۴۰)، ژن ترمیم کننده DNA (۴۱) و هم‌چنین در جزایر CpG در ژن‌های miRNA ها رخ می‌دهد (۴۲). توانایی هلیکوباکتر پیلوری به القاء متیلاسیون DNA در مخاط معده در مدل حیوانی موش صحرائی تایید شده است (۴۳). هم‌چنین، در برابر محرک اتانول یا NaCl که موجب نفوذ نوتروفیل‌ها در معده می‌شود، التهاب با واسطه هلیکوباکتر پیلوری باعث رها شدن لنفوسیت‌ها و نفوذ ماکروفاژها می‌گردد که به نظر می‌رسد نقش کلیدی در القای متیلاسیون داشته باشد (شکل ۳) (۴۴). علاوه براین، متیلاسیون DNA القا شده توسط باکتری می‌تواند بر ژن‌های دخیل در تکثیر سلولی و بقا پاتوژن، تاثیر گذارد، مانند آنچه توسط اشرشیاکلای عامل عفونت ادراری (UPEC) نشان داده شده است (۴۵). هم‌چنین برخی از مطالعات نشان داده‌اند که کمپیلوباکتر رکتوس درگیر در عفونت‌های پریودنتال و مرتبط با افزایش خطر تولد زودرس ناشی از عفونت جفت و جنین در انسان می‌تواند در موش آلوده، متیلاسیون بیش از حد در منطقه پروموتر P0 از ژن *IGF2* در جفت (فاکتور رشد ۲ شبه انسولین) را القا کند (۴۶). بنابراین محدودیت رشد داخل رحمی که در حیوانات آلوده به کمپیلوباکتر رکتوس مشاهده شده، یک پیامد از تغییر اپی‌ژنتیک ناشی از عفونت باکتریایی در جفت موش می باشد (۲۱).



شکل ۲: تغییر فاز پیلی Pap17 در اشرشیاکلی سویه C1212 در مبتلایان به عفونت ادراری که با آنتی‌بادی‌های آنتی- Pap17 نشان‌دار شده با ذرات ۱۰ نانومتری کلوئیدی طلا قابل مشاهده است. باکتری در سمت چپ در حالت فاز ON برای بیان Pap17 است، در حالی‌که دو باکتری در سمت راست در فاز OFF هستند. لازم به ذکر است که این دو باکتری، پیلی Pap21 غیرنشاندار را بیان می‌کنند که تحت کنترل تغییر فاز هستند اما با آنتی‌سرم آنتی- Pap17 مشخص نمی‌شوند (۱۱).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]



شکل ۳: مکانیسم‌های القاء متیلاسیون DNA نابجا توسط عفونت هلیکوباکتر پیلوری (۴۴).

۴. حافظه اپی‌ژنتیک عفونت: نقش‌پذیری ژنی باکتریایی

تغییرات کروماتین ممکن است به سلول‌های دختر در طول تقسیم سلولی منتقل شود و منجر به تغییرات وراثتی در عملکرد ژن گردد، هم‌چنین احتمال دارد یک عفونت باکتریایی علائم قابل توارث پس از ریشه‌کن کردن پاتوژن تولید کند. دو مثال زیر از این ایده حمایت می کنند.

۴-۱. اجزای اپی‌ژنتیک التهاب سیستمیک شدید و تحمل LPS

واکنش‌های التهابی نابجا در پاسخ به قرار گرفتن مداوم در معرض میکروب‌ها و محصولات میکروبی مانند LPS، منجر به آسیب بافت، اختلال عملکرد چند اندام، شوک سپتیک و مرگ می‌شوند. برای جبران این عوارض جانبی، سیستم ایمنی، مکانیسم سرکوب ایمنی پس از عفونت (postseptic immunosuppression :PSI) را توسعه داده که سلول‌های خون‌ساز قادر به تبدیل شدن به سلول‌های واکنشی ضعیف موقتی می‌شوند. این پاسخ ضد التهابی جبرانی با اثرات مضر عفونت، مقابله می‌نماید، اما افراد برای مدت زمان طولانی (از هفته تا سال) به عفونت‌های فرصت طلب حساس باقی می‌مانند (۴۷). یکی از جنبه‌های PSI، تحمل LPS است که در آن پاسخ‌های TLR4 حاصل از LPS به سمت خاموشی ژن‌های سیتوکین پیش التهابی و بیان واسطه‌های ضد میکروبی یا ضد التهابی، برنامه‌ریزی می‌شوند. باز شدن کروماتین در ژن‌های هدف در این فاز حاد، شامل فسفریلاسیون هیستون و استیلاسیون می‌باشد (۴۸).

۴-۲. سرطان‌های مرتبط با عفونت باکتریایی

همانطور که قبلا ذکر شد، هلیکوباکتر پیلوری یک عامل خطر اکتسابی مهم برای سرطان معده است. این باکتری دارای پروتئین و آنتی‌ژن‌های مختلفی (CagA, FlaA, VacA) می‌باشد که در بیماری‌زایی آن نقش عمده‌ای دارند و بررسی‌های متعددی برای شناسایی و تولید نوترکیب و تعیین آنتی‌ژنیسیتی آن‌ها صورت گرفته است (۴۰-۳۸). علاوه بر این، اثرات با واسطه هلیکوباکتر پیلوری بر رشد سلول و تمامیت DNA ناشی از متیلاسیون DNA نابجا به‌عنوان یک مکانیسم مهم در بروز سرطان معده، ظاهر شده است (۴۴). شایان ذکر است که ریشه کن کردن عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران انسانی باعث ناپدید شدن کامل متیلاسیون پروموتر جزایر CpG در ژن‌های نزدیک مرتبط با خطر ایجاد سرطان معده نمی‌شود، اما این فرایند را کاهش می‌دهد (۴۹). این یک نشانه قوی است که یک عفونت باکتریایی ممکن است آثار اپی‌ژنتیک در یک بافت باقی بگذارد که منجر به تغییرات دائمی در بیان ژن شود. با توجه به این واقعیت که سرطان باید از یک سلول ایجاد شود که دارای پتانسیل تقسیم می‌باشد، این برنامه‌ریزی مجدد باکتری ممکن است در سلول‌های با عمر طولانی، مانند سلول‌های بنیادی یا سلول‌های اجدادی، القا شود و در نتیجه به سلول‌های دختر گسترش یابد. هم‌چنین ممکن است سلول‌های اپیتلیال بالغ برای عدم تمایز با اجزای خاموش، شبکه پیام‌دهی

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

سلول‌های بنیادی را مورد هدف قرار دهد که منجر به افزایش تکثیر و بقای آن‌ها می‌شود (۵۰). "نمونه هلیکوباکتر"، قابلیت جابجایی به دیگر بافت‌های هدف باکتری را نیز دارد. هم‌چنین این باور وجود دارد که ممکن است عفونت باکتری اشرشیاکلی با خطر ابتلا به سرطان مثانه در ارتباط باشد (۴۵) و باکتری‌های روده‌ای مستعد کننده سرطان روده بزرگ باشند. به‌طور کلی، عدم تنظیم سرکوب کننده تومور و یا مسیرهای مرتبط با سلول‌های بنیادی (به‌عنوان مثال Wnt، JAK-STAT، JNK و Notch) در تغییر ژنتیکی و برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیک ناشی از باکتری، یک دلیل احتمالی از توسعه سرطان در نیچ‌های اپیتلیالی است (۵۱).

نتیجه‌گیری

تنظیم ژنوم پیچیده یوکاریوت‌ها نه تنها مستلزم فاکتورهای متصل شونده به‌توالی DNA اختصاصی است، بلکه به سطوح بیشتری از تنظیمات از قبیل تغییرات DNA، تغییرات هیستون پس از ترجمه و بازسازی کروماتین، نیاز دارد. این تغییرات اغلب به‌عنوان اپی‌ژنتیک نشان داده می‌شوند. توانایی میکروب‌ها که به‌طور اپی‌ژنتیکی بیان ژن میزبان را تحت تاثیر قرار می‌دهند، نقش عمده‌ای در پاتوژنز بیماری‌های مزمن دارند. شواهد رو به رشدی برای نقش عفونت باکتریایی در مدولاسیون اطلاعات اپی‌ژنتیک سلول‌های میزبان توسط مکانیسم‌های متنوع وجود دارد. امروزه پیشرفت‌های فن‌آوری، نقشه برداری متیلاسیون DNA ژنوم کامل انسان و پروفایل تغییرات هیستونی را امکان‌پذیر کرده است. باکتری‌هایی که باعث تغییرات کروماتین در سلول‌های پستانداران می‌شوند، بدون شک از این تکنولوژی‌های جدید بهره‌مند می‌شوند. اپی‌ژنتیک در تنظیم رونویسی، تقسیم سلولی، ترمیم و تکثیر DNA نقش مهمی دارد. از دست دادن کنترل اپی‌ژنتیک از این فرآیندهای مبتنی بر DNA ممکن است در ارتباط با بیماری‌های عفونی باکتریایی باشد. برای درک نقش تغییرات کروماتین و تنظیم کننده‌های دیگر در بیماری‌های عفونی، تحقیقات باید در سطح بافت و سلول‌های دارای عمر طولانی انجام شود. نتایج این تحقیقات احتمالاً به نوع سلول و زمینه ژنتیکی میزبان بستگی دارد. با درک بهتر ارتباط بین بیماری‌های عفونی باکتریایی و اپی‌ژنوم، فرصت برای کاربردهای درمانی به خصوص ایجاد ترکیبات دارویی موثرتر و برگرداندن فرآیندهای اپی‌ژنتیک، به‌وجود می‌آید. هم‌چنین حذف سریع تغییرات پاتو- اپی‌ژنتیک ناشی از میکروب‌ها ممکن است از عفونت‌های مزمن و یا پنهان، برخی سرطان‌ها یا بیماری‌های خود ایمنی، پیشگیری کند.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله نویسندگان، مراتب تشکر و قدردانی خود را از خانم دکتر شهره فهیمی‌راد به علت طرح ایده و همکاری در بحث اعلام می‌دارند.

حامی مالی: ندارد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Waddington CH. ***The epigenotype.*** Int J Epidemiol 2012; 41(1):10-3.

2-Van Speybroeckm L. ***From Epigenesis to Epigenetics: The Case of C.H. Waddington***. Ann N Y Acad Sci 2002; 98: 61-81.

3-Casadesus J, Low D. ***Epigenetic Gene Regulation in the Bacterial World***. Microbiol Mol Biol Rev 2006; 70 (3): 830-85.

4- Serio Tr, Cashikar Ag, Kowal As, Sawicki Gj, Lindquist Sl. ***Self-Perpetuating Changes in Sup35 Protein Conformation as a Mechanism of Heredity in Yeast.*** Biochem Soc Symp 2001; 68: 35-43.

5- Ferguson-Smith Ac, Surani Ma. ***Imprinting and the Epigenetic Asymmetry between Parental Genomes.*** Science 2001; 293(5532): 1086-89.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

6-Wang Y, Fischle W, Cheung W, Jacobs S, Khorasanizadeh S, Allis CD. ***Beyond the Double Helix: Writing and Reading the Histone Code.*** Novartis Found Symp 2004; 259: 3-17.

7-Van Der Woude M, Hale Wb, Low Da. ***Formation of Dna Methylation Patterns: Nonmethylated Gatc Sequences in Gut and Pap Operons.*** J Bacteriol 1998; 180(22): 5913-20.

8-Levenson JM, Sweatt JD. ***Epigenetic Mechanisms in Memory Formation***. Nat Rev Neurosci 2005; 6(2): 108-18.

9-True Hl, Berlin I, Lindquist Sl**.** ***Epigenetic Regulation of Translation Reveals Hidden Genetic Variation to Produce Complex Traits***. Nature 2004; 431(7005): 184-7.

10-Satpute-Krishnan P, Serio Tr**.** ***Prion Protein Remodelling Confers an Immediate Phenotypic Switch***. Nature 2005; 437 (7056): 262-5.

11-Van Der Woude Mw, Baumler Aj. ***Phase and Antigenic Variation in Bacteria***. Clin Microbial Rev 2004; 17(3): 581-611.

12-Hernday A, Braaten B, Low D. ***The Intricate Workings of a Bacterial Epigenetic Switch***. Adv Exp Med Biol 2004; 547: 83-9.

13-Feinberg Ap. ***Epigenetics at the Epicenter of Modern Medicine***. JAMA 2008; 299(11): 1345-50.

14-Furrow RE, Christiansen B, Feldman MW. ***Environment sensitive Epigenetics and the Heritability of Complex Diseases***. Genetics 2011; 189(4): 1377-87.

15-Hamon MA, Cossart P. ***Histone Modifications and Chromatin Remodeling During Bacterial Infections.*** Cell Host Microbe 2008; 4(2): 100-9.

16-Bhavsar A, Guttman J, Finlay B. ***Manipulation of Host-Cell Pathways by Bacterial Pathogens***. Nature 2007; 449(7164): 827-61.

17-Dumas Me, Barton Rh, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. ***Metabolic Profiling Reveals a Contribution of Gut Micro biota to Fatty Liver Phenotype in Insulin-Resistant Mice***. Proc Natl Acad Sci Usa 2006; 103(33): 12511-16.

18-Oka T, Sato H, Ouchida M, Utsunomiya A, Yoshino T. ***Cumulative Epigenetic Abnormalities in Host Genes with Viral and Microbial Infection during Initiation and Progression of Malignant Lymphoma/Leukemia***. Cancer 2011; 3: 568-81.

19-Murata M, Azuma Y, Miura K, Rahman Ma, Matsutani M, Aoyama M, et al. ***Chlamydial Set Domain Protein Functions as a Histone Methyltransferase***. Microbiology 2007; 153(Pt 2): 585-92.

20-Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. ***Redefining chronic viral infection***. Cell 2009; 138(1): 30-50.

21-Al Akeel R. ***Role of Epigenetic Reprogramming of Host Genes in Bacterial Pathogenesis***. Saudi J Biol Sci 2013; 20(4): 305-9.

22-Hatami M, Fahimirad Sh, Parhamfar M. ***Epigenetic and its Applications.*** Arak: Arak University Publishers 2018: 20-26.

23-Grabiec Am, Potempa J. ***Epigenetic Regulation in Bacterial Infections: Targeting Histone Deacetylases.*** Crit Rev Microbiol 2018; 44(3): 336-50.

24-Baek Sh. ***When Signaling Kinases Meet Histones and Histone Modifiers in the Nucleus***. Mol Cell 2011; 42(3): 274-84.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

25- Opitz B, Puschel A, Beermann W, Hocke Ac, Forster S, Schmeck B, et al. ***Listeria Monocytogenes Activated P38 Mapk and Induced Il-8 Secretion in a Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 1-Dependent Manner in Endothelial Cells***. J Immunol 2006; 176: 484-90.

26- Schmeck B, Lorenz J, N'guessan Pd, Opitz B, Van Laak V, Zahlten J, et al. ***Histone Acetylation and Flagellin are Essential for Legionella Pneumophila-Induced Cytokine Expression.*** J Immunol 2008; 181(2): 940-47.

27- Saccani S, Pantano S, Natoli G. ***P38- Dependent Marking of Inflammatory Genes for Increased Nf-Kb Recruitment***. Nat Immunol 2002; 3: 69-75.

28- Slevogt H, Schmeck B, Jonatat C, Zahlten J, Beermann W, Van Laak V, et al. ***Moraxella Catarrhalis Induces Inflammatory Response of Bronchial Epithelial Cells Via Mapk and Nf-Kb Activation and Histone Deacetylase Activity Reduction***. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2006; 290(5): 818-26.

29- Haller D, Holt L, Kim Sc, Schwabe Rf, Sartor Rb, Jobin C. ***Transforming Growth Factor-B1 Inhibits Non-Pathogenic Gram Negative Bacteria-Induced Nf-Kb Recruitment to the Interleukin-6 Gene Promoter in Intestinal Epithelial Cells Through Modulation of Histone Acetylation***. J Biol Chem 2003; 278(26): 23851-860.

30- Bardwell AJ, Abdollahi M, Bardwell L. ***Anthrax Lethal Factor-Cleavage Products of Mapk (Mitogen-Activated Protein Kinase) Kinases Exhibit Reduced Binding to Their Cognate Mapks***. Biochem J 2004; 378(Pt 2): 569-77.

31- Hamon Ma, Cossart P. ***K+ Efflux is required for Histone H3 Dephosphorylation by Listeria Monocytogenes Listeriolysin O and Other Pore-Forming Toxins***. Infect Immun 2011; 79(7): 2839-46.

32- Pathak SK, Basu S, Bhattacharyya A, Pathak S, Banerjee A, Basu J, Kundu M. ***Tlr4-Dependent Nf-Kb Activation and Mitogen- And Stress-Activated Protein Kinase 1-Triggered Phosphorylation Events are Central to Helicobacter Pylori Peptidyl Prolyl Cis-, Trans-Isomerase (Hp0175)-Mediated Induction of Il-6 Release from Macrophages***. J Immunol 2006; 177(11): 7950-58.

33- Xia G, Schneider-Stock R, Diestel A, Habold C, Krueger S, Roessner A, et al. ***Helicobacter Pylori Regulates P21 (Waf1) by Histone H4 Acetylation***. Biochem Biophys Res Commun 2008; 369(2): 526-31.

34- Imai K, Ochiai K, Okamoto T. ***Reactivation of Latent Hiv-1 Infection by the Periodontopathic Bacterium Porphyromonas Gingivalis Involves Histone Modification***. J Immunol 2009; 182(6): 3688-95.

35- Chen C, Wang L, Chen S, Wu X, Gu M, Chen X, et al. ***Convergence of Dna Methylation and Phosphorothioation Epigenetics in Bacterial Genomes***. Proc Natl Acad Sci USA 2017; 114(17): 4501-6.

36- Maier J, Mohrle R, Jeltsch A. ***Design of Synthetic Epigenetic Circuits Featuring Memory Effects and Reversible Switching Based on Dna Methylation***. Nat Commun 2017; 8: 15336.

37- Khaleghi M, Parhamfar M. ***Lactobacillus as Probiotic.*** Kerman: Shahid Bahonar University of Kerman; 2017: 43-50.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

38-Ushijima T, Hattori N. ***Molecular Pathways: Involvement of Helicobacter Pylori-Triggered Inflammation in the Formation of an Epigenetic Field Defect, And Its Usefulness as Cancer Risk and Exposure Markers.*** Clin Cancer Res 2012; 18(4): 923-29.

39-Chan Aoo, Lam Sk, Wong Bc, Wong Wm, Yuen Mf, Yeung Yh, et al. ***Promoter Methylation of E-Cadherin Gene in Gastric Mucosa Associated with Helicobacter Pylori Infection and in Gastric Cancer***. Gut 2003; 52(4): 502-6.

40-Yan J, Zhang M, Zhang J, Chen X, Zhang X. ***Helicobacter Pylori Infection Promotes Methylation of Wwox Gene In Human Gastric Cancer.*** Biochem Biophys Res Commun 2011; 408(1): 99-102.

41-Yao Y, Tao H, Park Di, Sepulveda Jl, Sepulveda Ar. ***Demonstration and Characterization of Mutations Induced by Helicobacter Pylori Organisms in Gastric Epithelial Cells***. Helicobacter 2006; 11(4): 272-86.

42-Ando T, Yoshida T, Enomoto S, Asada K, Tatematsu M, Ichinose M, et al. ***Dna Methylation of Microrna Genes in Gastric Mucosae of Gastric Cancer Patients: Its Possible Involvement in the Formation of Epigenetic Field Defect***. Int J Cancer 2009; 124(10): 2367-74.

43-Niwa T, Tsukamoto T, Toyoda T, Mori A, Tanaka H, Maekita T, et al. ***Inflammatory Processes Triggered by Helicobacter Pylori Infection Cause Aberrant Dna Methylation in Gastric Epithelial Cells***. Cancer Res 2010; 70(4): 1430-40.

44-Hattori N, Ushijima T. ***Epigenetic Impact of Infection on Carcinogenesis: Mechanisms and Applications.*** Genome Med 2016; 8:10.

45-Tolg C, Sabha N, Cortese R, Panchal T, Ahsan A, Soliman A, et al. ***Coli Infection Provokes Epigenetic Downregulation of Cdkn2a (P16ink4a) in Uroepithelial Cells.*** Lab Invest 2011; 91(6): 825-36.

46-Berger Sl, Kouzarides T, Shiekhattar R, Shilatifard A. ***An Operational Definition of Epigenetics.*** Genes Dev 2009; 23(7): 781-83.

47-Chiariotti L, Coretti L, Pero R, Lembo F. ***Epigenetic Alterations Induced by Bacterial Lipopolysaccharides***. Adv Exp Med Biol 2016; 879: 91-105.

48-Chen X, Yoza Bk, El Gazzar M, Hu Jy, Cousart Sl, Mccall Ce. ***Relb Sustains Iκbα Expression During Endotoxin Tolerance.*** Clin Vaccine Immunol 2009; 16: 104-10.

49-Nakajima T, Enomoto S, Yamashita S, Ando T, Nakanishi Y, Nakazawa K, et al. ***Persistence of a Component of Dna Methylation in Gastric Mucosae after Helicobacter Pylori Eradication***. J Gastroenterol 2010; 45: 37-44.

50-Katoh M. ***Dysregulation of Stem Cell Signaling Network Due to Germline Mutation, Snp, Helicobacter Pylori Infection, Epigenetic Change and Genetic Alteration in Gastric Cancer***. Cancer Biol Ther 2007; 6(6): 832-9.

51-Sun J. ***Enteric Bacteria and Cancer Stem Cells***. Cancers (Basel) 2010; 3: 285-97.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences **Received: 4 July 2020**
Vol 29| NO 5 | Aug 2021 **Accepted: 18 Nov 2020**

Epigenetic Modifications of Host Genes Induced by Bacterial Infection

Maryam Parhamfar[1], Marzieh Rezaei[*2]

Review Article

Introduction: Epigenetic mechanisms regulate expression of the genome to generate various cell types during development or coordinate cellular responses to external stimulus. While epigenetics is of fundamental importance in eukaryotes, it plays a different role in bacteria. This article uncovers the most important recent data on how bacteria can alter epigenetic marks and can also contribute to and/or result to various diseases.

In this review article, Sciencedirect, PubMed, Scopus, Google Scholar databases were used for finding the relevant studies.

Research has shown that bacteria can affect the chromatin structure and transcriptional program of host cells by influencing diverse epigenetic factors (i.e., histone modifications, DNA methylation, chromatin-associated complexes, and RNA splicing factors). Therefore, bacterial-induced epigenetic deregulations may affect host cell function either to host defense or to allow pathogen persistence. Hence, pathogenic bacteria can be considered as potential epimutagens able to reshape the epigenome that their effects might leading to cellular dysfunctions, which influenced immunity and might be at the origin of unexplained diseases and this caused presentation or contributed to the development of pathological changes.

Conclusion: Epigenetic modifications during development and in response to environmental factors contribute to phenotypic variability and susceptibility to a number of diseases, including infectious diseases, cancers, metabolic and autoimmune disorders.

Keywords: Bacterial infections, DNA methylation, Epigenetic, Histone modifications.

Citation: Parhamfar M, Rezaei M. **Epigenetic Modifications of Host Genes Induced by Bacterial Infection.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2021; 29(5): 3698-3709.

[1]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran.

[2]Department of Cell& Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Science and Biotechnology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

***Corresponding author: Tel:** 03137932469, **Email:** m.rezaeibio@gmail.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-04-25]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i5.6770]