ورقة بحثية مجلة مفتوحة الوصول

فعالية العوامل المضادة للفوعة والمضادة للأغشية الحيوية ضد الجراثيم: الآليات والتطبيقات

Antibacterial Effects of Antivirulence and Antibiofilm Agents: Mechanisms and Applications

د. نتالي موسى*، سلاف محمد زعرور**

*(كلية الصيدلة، جامعة المنارة، البريد الإلكتروني: Nathali.moussa@manara.edu.sy)

**(كلية الصيدلة، جامعة المنارة، البريد الإلكتروني: zaaroursulaf@gmail.com)

الملخص

إن ظهور البكتيريا متعددة المقاومة الدوائية يشكل تحدياً صحياً عالمياً بالغ الخطورة، ممّا يستدعي استراتيجيّات مبتكرة لمكافحة الميكروبات. تستعرض هذه المراجعة التأثيرات المضادة للبكتيريا لفئتين واعدتين: العوامل المضادة للفوعة والعوامل المضادة للأغشية الحيويّة. تستهدف استراتيجيات مكافحة الفوعة تعطيل إمراضيّة البكتيريا عن طريق تثبيط عوامل رئيسية مثل السموم، وجزيئات الالتصاق، وأنظمة استشعار النصاب، دون إحداث ضغط انتقائي يؤدي إلى المقاومة. بينما تستهدف مضادات للأغشية الحيوية تكوين الأغشية الحيوية واستمرارها.

تشير الأبحاث الحديثة إلى تطورات واعدة في كلتا الفئتين تشمل مثبطات جديدة ومشاركات علاجية تعزز الفعالية. ومع ذلك، تواجه هذه العوامل عدة تحديات، كالنوعية والفعالية وقابلية التطبيق السريري، ولكن النجاح قبل السريري لهذه الاستراتيجيات يؤكد إمكاناتها العلاجية كأدوات مكملة للصادات الحيوية التقليدية. تسلط هذه المراجعة الضوء على آليات وتطبيقات هذه العوامل، مع التعرض إلى آفاقها المستقبلية وأهم تحدياتها كأدوات مضادة للميكروبات من الجيل التالي لمكافحة العدوى المقاومة.

كلمات مفتاحية – عوامل الفوعة، الآليات المضادة للفوعة، الذيفانات، تَشكُّل الأغشية الحيوية، الآليات المضادة للأغشية الحيوية، استشعار النصاب، المقاومة الجرثومية، إمكانيات العوامل المضادة للفوعة.

ABSTRACT

The emergence of multidrug-resistant bacteria presents a critical global health challenge, necessitating innovative antimicrobial strategies. This review explores the antibacterial effects of two promising categories: anti-virulence and anti-biofilm agents. Anti-virulence strategies neutralize bacterial pathogenicity by inhibiting key factors such as toxins, adhesion molecules, and quorum sensing systems, without inducing selective pressure for resistance. Anti-biofilm agents target biofilm formation and persistence.

Recent Research indicate promising developments in both categories, including novel inhibitors and combination strategies, which enhance efficacy. However, these agents face challenges such as specificity, efficacy, and scalability in clinical applications. Despite these hurdles, the preclinical success of these approaches underscores their therapeutic potential as complementary tools to conventional antibiotics. This review highlights the mechanisms and applications of anti-virulence and anti-biofilm agents, emphasizing their future prospects and most important challenges as next-generation antimicrobial tools to combat resistant infections.

Keywords — virulence factors, antivirulence strategies, bacterial toxins, biofilm formation, antibiofilm strategies, quorum sensing, bacterial resistance, antivirulence potentials.

I. مقدمة

المقاومة الجرثوميّة هي قدرة الجراثيم على تطوير آليات تُمكّنها من النجاة من تأثيرات المضادّات الحيويّة وتُمثّل مشكلة صحيّة رئيسيّة وتهديد كبير على الصحة العامة عالميّاً، حيث أنَّ الاستخدام الواسع للصادّات وفَشل تطوير صادّات جديدة سيؤدي إلى زيادة نسب الوفيات الناتجة عن المقاومة الجرثومية [1]. فمثلاً تم تسجيل 4.59 مليون حالة وفاة ناتجة عن المقاومة الجرثومية في عام 2019 حسب Who ومنها 1.27 مليون حالة عُزيت مباشرةً لهذه المقاومة [2]. ويوجد توقعات بأنّ نسب الوفاة ستتجاوز في عام 2050 نسب الوفاة بالسرطان بمختلف أنواعه [3].

وانطلاقاً من هذه المشكلة يوجد ضرورة مُلِحّة لتطوير استراتيجيات جديدة لعلاج الإنتانات الجرثومية.

II. عوامل الفوعة

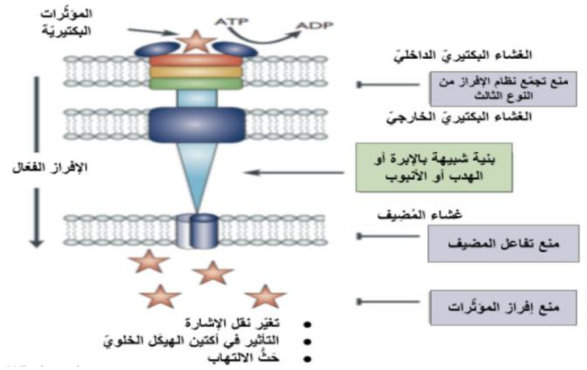
تُعرَّف الفَوعة بأنّها قُدرة الكائنات الدقيقة على إحداث المرض وتكون عواملها عبارة عن جزيئات تنتجها الجراثيم لتعزز قدرتها على التهرب من دفاعات المضيف والتسبب في المرض [4]. تستخدم الجراثيم مجموعة متنوّعة من عوامل الفوعة تشمُل الذيفانات Toxins، عوامل الالتصاق Adhesins، أنظمة الإفراز المتخصصة لتوصيل المؤثرات. ونظراً لأنّ التعبير الجيني عن خصائص الفوعة يتطلّب كلفة استقلابية عالية فإنّ تنظيم التعبير الجيني يتم بعناية فائقة بحيث يحدث فقط في الموقع المناسب للاستعمار في المضيف [5].

A. *الذيفانات Toxins*

أوّل عوامل الفوعة المُكتشفة وهي مواد كيميائية سامّة تُنتجها الجراثيم تؤدي إلى تغيير في خلايا المضيف حقيقة النواة وإحداث المرض [5].

الذيفانات الخارجية Exotoxins تُنتجها البكتيريا إيجابية وسلبية الغرام وُتفرزها خارج الخلية (شكل 1) مثل ذيفان متلازمة الصدمة السمية (TSS) الذي تفرزه المكورات العنقودية المذهبة *Staphylococcus aureus*، مسببة متلازمة الصدمة السمية.

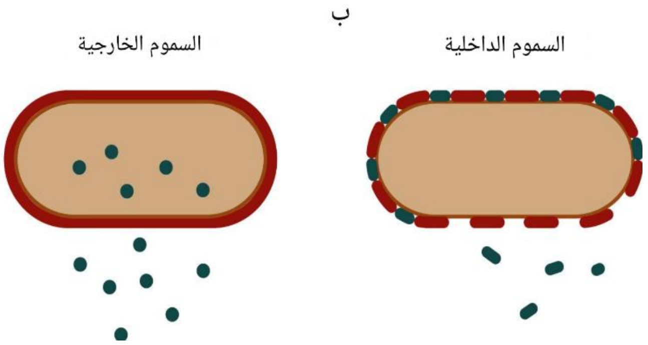
الذيفانات الداخلية Endotoxins تكون موجودة في الجدار الخلوي للبكتيريا سالبة الغرام (شكل 1)، تسبب تأثيرات واسعة على المضيف. مثل الذيفان الذي تفرزه الإشريكية القولونية *Escherichia coli* [6].



الشكل 1. (أ) إفراز الذيفانات الخارجية المنتجة داخل الخلية الجرثومية. (ب) ذيفانات داخلية تطلق من جدار الخلية الجرثومية

B. أنظمة الإفراز المتخصصة

تستخدم العديد من البكتيريا نظام متخصّص لحقن الذيفانات والعوامل المؤثّرة مباشرةً في خلايا المضيف أو إلى البيئة المحيطة، هذه العوامل المؤثرة تغيّر من إشارات ووظائف الخلية المضيفة لتعزيز البقاء الجرثومي وقد تُستخدم أيضاً هذه الأنظمة في نقل جينات المقاومة للمضادات الحيوية بين البكتيريا مما يُزيد مشكلة المقاومة. يوجد ستّة أنواع من أنظمة الإفراز فمثلاً نظام الإفراز من النوع الثالث TTSS يتكون من عدة بروتينات تُشكّل بنية تشبه الإبرة (شكل 2) تسمح للبكتيريا بحقن السموم مباشرة من سيتوبلازما الخلية الجرثومية إلى خلية المضيف [5].



الشكل 2. نظام الإفراز من النوع الثالث.

C. عوامل الالتصاق Adhesins وتكوين الأغشية الحيوية Biofilms

لكي تستعمر البكتيريا المضيف بفعالية وتُعزّز المرض يجب أنْ تلتصق اولاً بخلايا المضيف، فالالتصاق هو الخطوة الأولى في عملية العدوى [3]. وقد طوّرت الجراثيم آليّات التصاق مثل الشعيرات أو الزوائد الشعرية Fimbriae/Pili والأهداب وفي بعض الحالات السياط، لكي تتجنّب الاستجابات الفطرية مثل حركة التمعج في الأمعاء والأهداب في الجهاز التنفسي التي تُزيل البكتيريا التي لا تملك قدرات التصاق مناسبة. الإشريكية القولونية تُشفّر الشُعيرات من النمط الأول والشعيرات P وهي ضرورية لإحداث العدوى وتَجنُّب غَسل الجراثيم بالتدفّق الطبيعي للبول، توجد الجينات المشفرة لهذه الشعيرات في الذراري من الإشريكية القولونية شديدة الفوعة . عمليّة الالتصاق تُحكَم بواسطة عوامل الالتصاق الجرثومية والمستقبلات على خلية المضيف [5].

وتُشكّل الجراثيم الأغشية الحيوية Biofilm وهي عبارة عن جراثيم تعيش بشكل مجتمعات ملتصقة بالسطح –قد يكون سطح حيوي أو غير حيوي– مرتبطة ببعضها البعض ومُدمَجة في مَطرق مُنتَج ذاتياً من الخلايا الجرثومية مُكوَّن من مواد بوليمريّة خارج خلوية (Extracellular Polymeric Substance) EPS وهي مزيج من عديدات سكر، وبروتينات، وحمض نووي خارج خلوي eDNA، ومكونات ثانويّة أخرى (شكل 3) [7]. قد تكون الجراثيم الموجودة ضمن الغشاء الحيوي من نوع واحد أو من عدة أنواع [8].

يعمل الغشاء الحيوي كدرع يحمي الخلايا الجرثومية من العوامل الخارجية ويحافظ على البقاء الجرثومي والالتصاق بالسطح. وتُمثّل الأغشية الحيوية تحديّات كبيرة في مجال الصحة وخاصة في بيئات المشافي بسبب مقاومتها العالية للمضادات الحيوية والمطهرات التقليدية.

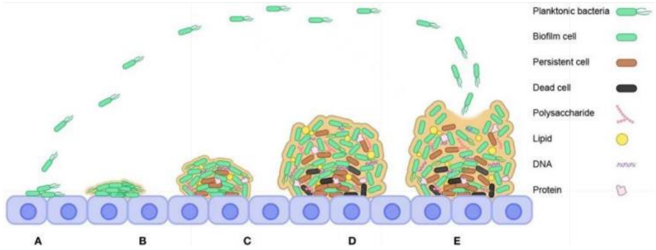
تأتي خواص الأغشية من الخواص الفيزيائية والكيميائية لمكوناتها التي تعطيها خواص ميكانيكية، فمثلاً تُجنّب الأغشية الخلايا الجرثومية من العدلات حيث أنّ العدلات تبتلع العوامل الممرضة التي تكون أصغر من 10 ميكرومتر في حين أنَّ أصغر الأغشية الحيوية تصل إلى 100 ميكرومتر، أي أنَّ العدلات تحتاج أن تُكسّر الغشاء الحيوي لكي تصل إلى الخلايا

القادرة على ابتلاعها. بالإضافة إلى أنّ الصلابة التي يتمتع بها الغشاء الحيوي قد تتجاوز بكثير الحد الأقصى من الإجهاد الميكانيكي الذي تستطيع العدلات القيام به [7].

إنّ حجم الأغشية الحيوية أكبر بكثير من جزيئات المضادات الحيوية ومُعظم الصادّات لا تتفاعل بقوة مع مكوّناته وقد يَتُم تعطيلها بفعل المواد البوليمرية خارج الخلوية.

كما يحدث ضمن الغشاء الحيوي زيادة لتبادل آليات المقاومة بين الجراثيم نتيجة لوجودها على مقربة من بعضها [8].

أيضاً يحوي الغشاء الحيوي على أنواع الخلايا المُتحمّلة Tolerant التي تتحمّل جرعات عالية من الصادات الحيوية والخلايا الدائمة Persistent وهي خلايا موقوفة النمو، ليست ذات صلة سريرياً حيث أن العلاج بالصادات يستهدف أكبر عدد من الخلايا النشطة على أنْ يُكمل جهاز المناعة، ولكن هذه الخلايا قد تكون خطيرة عند مُضعفي المناعة فمن المُحتمل أن تنمو خاصّةً في العداوى المزمنة [9].



الشكل 3. يوضح مراحل تشكل الغشاء الحيوي. (A) التصاق عكوس. (B) التصاق غير عكوس. (C) تخليق وإفراز المادة خارج الخلوية EPS. (D) مرحلة النضج. (E) مرحلة التشتت.

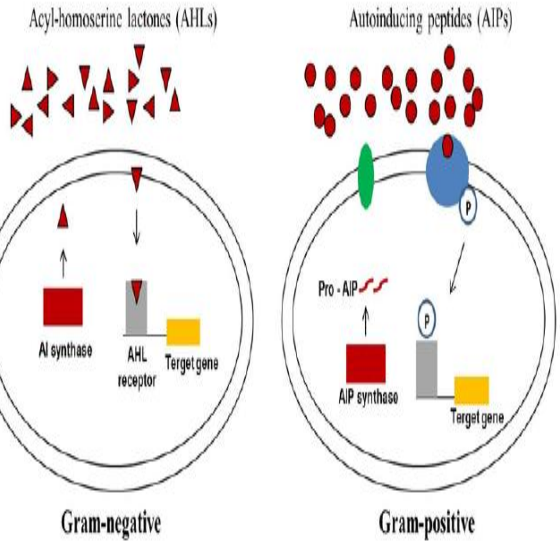
D. استشعار النصاب *Quorum Sensing*

نظام تعبير جيني عن جينات الفوعة اعتماداً على كثافة السّكان الخلويّة كنوع من التواصل الكيميائي بين البكتيريا حيث يَسمح للبكتيريا بمشاركة المعلومات حول كثافة الخلايا وضبط التعبير الجيني وفقاً لذلك، يعتمد نظام استشعار النصاب على استشعار جزيئات خارجية تعرف بالمحفزات الذاتية Autoinducers AIs، عند كثافة سكانية منخفضة LCD تكون تراكيز AIs منخفضة تحت حدّ الكشف، عند زيادة الكثافة السكانية الخلوية يؤدي الإنتاج التراكمي من AIs إلى تراكيز مرتفعة مما يتيح الكشف من قبل مستقبلات موجودة في سيتوبلازما الخلية الجرثومية أو في الغشاء الجرثومي وتكون الاستجابة بتنشيط التعبير عن الجينات اللازمة للسلوكيات التعاونية بين البكتيريا، إضافة إلى أنّ اكتشاف AIs يؤدي إلى زيادة في إنتاج AIs كحلقة تغذية تلقائية تؤدي إلى زيادة الكثافة السكانية. تسمح هذه العملية للجراثيم بالتعبير عن العمليات المكلفة من حيث الطاقة والتي تكون فعالة فقط عندما يتم إنتاجها بشكل جماعي ومتزامن لضمان تأثيرها على البيئة أو على المضيف.

يتحكم استشعار النصاب بالتعبير عن جينات الفوعة وإفرازها وبتشكيل الأغشية الحيوية والعديد من العمليات الأخرى.

تستخدم البكتيريا إيجابية الغرام الببتيدات المحفزة الذاتية AIPs كجزيئات إشارة ترتبط بمستقبلات كيناز مستشعرة مرتبطة بالغشاء التي تفسفر عوامل انتساخ داخل السيتوبلازما لتنظيم التعبير الجيني (شكل 4). أما البكتيريا سالبة الغرام فتستخدم نوع آخر من المحفزات الذاتية وهي اللاكتونات الهوموسيرينية الأسيلية AHLs ترتبط بمستقبلات داخل الخلية وتعمل كعامل انتساخ لتنظيم التعبير الجيني (شكل 4) [10].

ISSN: 2960-2548



شكل 4. يوضح نظام استشعار النصاب عند البكتيريا إيجابية وسلبية الغرام [11].

III. الأهداف والآليّات المضادة للفوعة

منهجيّة جديدة لتطوير علاجات للأمراض المُعدية هي عرقلة فوعة البكتيريا بشكل خاص دون قتلِها أو تثبيط نموّها.

A. *استهداف الذيفانات*

يعدُّ ذيفان الجمرة الخبيثة مُكوّناً حاسماً في عدوى عصيات الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis*، يتكوّن من ثلاثة عوامل: المستضدّ الوقائيّ PA، والعامل المُميت LF، وعامل الوذمة EF.

تمَّ تحديد مستقبلَين للوحدة الفرعيّة لمولّد الضدّ الوقائيّ على الخلايا البشريّة: مستقبل (ANTXR1/TEM8) و (ANTXR2/CMG2). أبسط استراتيجيّة لمنعِ التأثيرات الضارّة للذيفان هي حجبُ ارتباطِه بمستقبلِه الخاص من خلال إدخال نظائر قابلة للذوبان للمستقبل وقد ثبت أنَّ هذه الطريقة فعّالة في نموذج الفئران لكنها لم تجرَّب بعد على البشر. تتمثل آليّة بديلة في تطوير أضدّاد ترتبط مباشرةً بالوحدة الفرعيّة لمولّدِ الضدِّ الوقائيّ مِمّا يمنَع تفاعل الذيفان مع غشاء الخليّة المضيفة، تمَّ تحديد أربع شُدفٍ متغيّرةٍ أحاديّة السلسلة من الأجسام المضادّة التي تستهدف الوحدة PA وأثبَتَت أنّها فعالّةٌ في نموذج الفئران وفي الشمبانزي. يمكنُ حقنُ وحداتِ الأجسامِ المضادّة واستخدامها كإجراء وقائيّ قصير المدى ضدَّ ذيفان الجمرة الخبيثة في حالاتِ الطوارئ [5].

- ***الآليّات المضادّة للالتصاق***

البكتيريا الممُرضة إيجابيّة الغرام بما في ذلك المُكوَّرات العُنقُوديّة والمُكوَّرات المِعويّة والعُقَديّة قادرة على التعبير عن بروتينات التصاق سطحيّة مُتنوّعَة تُعرَف باسم MSCRAMM (مُكوّنات سطحيّة ميكروبيّة تتعَرّف على جزيئات المطرَق الالتصاقيّة) وبالإضافة إلى دورِها في التصاق البكتيريا تلعب جزيئات MSCRAMM دوراً مُهماً في التجنُّب المناعيّ وتكوين الأغشية الحيويّة.

مِن جهةٍ أُخرى يُعَدّ إنزيم السورتاز Srt A) A) وهو إنزيم ناقل للببتيدات موجود في الغشاء في البكتيريا إيجابيّة الغرام ضرورياً لتجميع وتثبيت بروتينات الالتصاق المذكورة على غلاف جدار الخليّة، وبسبب سهولة الوصول إليه وغياب إنزيمات مشابهة له في حقيقيّات النُّوى يُعتبَر هدفاً واعداً لتطوير علاجات مُضادّة للفوعة لمكافحة الالتهابات البكتيريّة إيجابيّة الغرام.
بالإضافة إلى ذلك فإذا أدّى الضَّغطُ الانتقائيّ الناجم عن مُثبّطات إنزيم السورتاز إلى حدوث طفرات في جين الإنزيم أو زيادة في إنتاجِه للتغلب على انخفاض نشاطِه، فإنَّ ذلك يُؤدّي في النهاية إلى تقليل فوعة البكتيريا من خلال انخفاض النشاط العديد من المنتجات الطبيعيّة والجزيئات الصغيرة الصنعيَّة كمركبات مُثبّطة لإنزيم السورتاز [3].

- ***استهداف أنظمة الإفراز***

يُعَدُّ نظامُ الإفراز مِن النوعِ الثالث TTSS مِن أهمّ عوامل الفَوعة التي تستخدمُها بَعضُ الجراثيم سلبيّة الغرام مثل جراثيم الزائفة الزنجاريّة *P. aeruginosa*.
تستخدمُ هذه الجراثيم TTSS لحقنِ العوامل المؤثّرة مثل(ExoU, ExoS, ExoT, ExoY) مباشرةً في خَلايا المُضيف. TTTSS يتكوّن من جينات مُنظّمة تشفّر مكوّنات جهاز الإفراز وبروتينات النقل، وهيَ ضروريّة لإضعاف الخلايا حقيقية النوى. نظراً لأنَّ TTSS مطلوبٌ مِن أجلِ التسبّب بالمَرض وليسَ مِن أجلِ البقاء فإنَّ تثبيطَه يُؤدي إلى إضعاف الفَوعة مع ضَغط انتقائيّ أقلّ للمُقاوَمة.
مِن المُركبات الواعدة: INP0341 (salicylidene acylhydrazide) أظهَر قدرة على تَثبيط TTSS في مجموعة من الجراثيم سلبيّة الغرام، ممّا يمنع توصيل السموم وبالتالي تقليل الفَوعة [3].

IV. الأهداف والآليّات للعوامل المضادّة للأغشية الحيوية

لقد عُرف لعدد جيد من العوامل نشاطٌ مضاد للأغشية الحيوية، بما في ذلك بعض المنتجات الطبيعية، والمركبات الصنعية، والإنزيمات والببتيدات، والعوامل الممخلبة، وعديدات الفينول، وبعض الصادات الحيوية. تمتلك هذه العوامل المضادة للغشاء الحيوي آليات فعلٍ مختلفة ضد أنواع متنوعة من البكتيريا، لحصر تطوّر الغشاء [12].

A. *اختراق الغشاء*

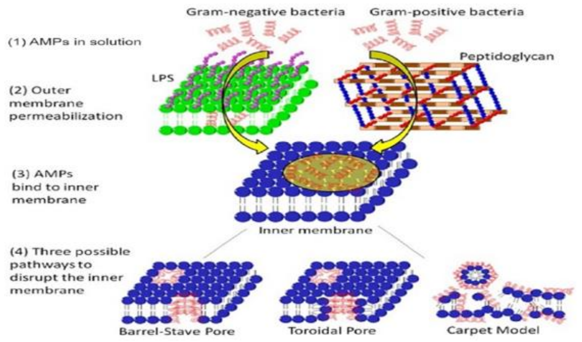
يُشكّل الغشاء البكتيري حاجزاً حيوياً مهماً يحمي الخلايا من التهديدات الخارجية مع الحفاظ على العمليات الفيزيولوجية الأساسية. تستغلّ العديد من العوامل المضادة للأغشية الحيوية (Antibiofilm Agents) هذه النقطة الضعيفة عن طريق تعطيل سلامة الأغشية البكتيرية، مما يؤدي إلى موت الخلايا. تُعد هذه الآليّة فعالة بشكل خاص لأنّها تتجاوز الحاجة إلى اختراق مصفوفة الأغشية الحيوية للوصول إلى الخلايا البكتيرية الفردية.
تستخدم العوامل المخترقة للغشاء استراتيجيات متعددة لإضعاف الأغشية البكتيرية. فعلى سبيل المثال، تستعمل الببتيدات المضادة للميكروبات (Antimicrobial Peptides – AMPs) ثلاث آليات رئيسية:

- آلية البرميل (Barrel-Stave Mechanism) : حيث تشكل الببتيدات مسامات عابرة للغشاء.
- نموذج الثقب التورودي (Toroidal Pore Model) : يتضمن انحناء طبقة الدهون الثنائية في الغشاء.
- نموذج السجادة (Carpet Model) : حيث تغطي الببتيدات سطح الغشاء، ما يؤدي إلى تفككه دون تشكيل مسامات (شكل 5).

تعد الببتيدات المضادة للميكروبات جزيئات قصيرة ذات شحنة موجبة تتفاعل مع الأغشية البكتيرية ذات الشحنة السالبة. يؤدي هذا التفاعل إلى اختلال سلامة الغشاء وتسرب محتويات الخلية الداخلية.

تعتبر Lantibiotics فئة فرعية مميزة من الببتيدات المضادة للميكروبات، وتشتهر بتركيبتها المعدلّة بعد الترجمة، والتي تشمل روابط الثيوإيثر (Thioether Linkages)، ومن بين هذه المركبات، يبرز النيسين (Nisin) والجاليديرمين (Gallidermin). يقوم النيسين بتثبيط تخليق جدار الخلية عبر الارتباط بـ Lipid II وهو طليعة تركيب الببتيدوجليكان(Peptidoglycan)، إضافةً إلى ذلك، يشكل النيسين مسامات مؤقتة في الغشاء البكتيري، مما يؤدي إلى تسرب الأيونات وموت الخلية.

أما الجاليديرمين، فيُظهر آليات مشابهة ولكنه يستهدف أيضاً جينات محددة ترتبط بتكوين الأغشية الحيوية، مثل تلك المسؤولة عن إنتاج الإنزيمات المحللة للذات (Autolysins) والبروتينات اللاصقة بين الخلايا (Intercellular Adhesins)، يضفي هذا التأثير المزدوج على اللانتيبيوتيكات قوة كبيرة كعوامل مضادة للأغشية الحيوية [12].



الشكل 5. آلية فعل AMPs على الغشاء للبكتيريا +G و-G.

i. *التثبيط الجرثومي بتفكيك الأغشية الحيوية*

يُمثّل تفكيك الأغشية الحيوية (Disassembly) أو تشتيتها (Dispersion) استراتيجية ديناميكية تهدف إلى تعطيل مطرق الأغشية الحيوية وتحرير الخلايا البكتيرية من بيئتها الواقية. يمكن أن تبدأ هذه العملية عن طريق تغيير في فيزيولوجيا البكتيريا أو تحلل المطرق الخارجي، مما يجعل الأغشية الحيوية أكثر عرضة للمضادات الحيوية والاستجابة المناعية.

يَشمُل تفكيك الأغشية الحيوية العوامل الذاتية والخارجية. العديد من الأنواع البكتيرية تُنتج إنزيمات مدرّكة للأغشية الحيوية (biofilm–degrading enzymes) وعوامل فعالة سطحياً (surfactants) كجزء من عمليات دورة الحياة الطبيعية. يمكن لهذه العوامل تفكيك مكوّنات المطرق خارج الخلوي، مما يسمح للخلايا الفردية بالتبعثر أو التَشتُّت (dispersion) وربما استعمار بيئات جديدة. من خلال الاستفادة من هذه الآليات الطبيعية، قام الباحثون بتطوير طرق مستهدفة لتحفيز تفكيك الأغشية الحيوية.

على سبيل المثال، D–tyrosine هو جزيء صغير يتداخل مع استقرار الأغشية الحيوية عن طريق منع التصاق البكتيريا. عند التركيزات المنخفضة، يمكن لـ D–tyrosine زعزعة استقرار الأغشية الحيوية التي تشكلها *Pseudomonas aeruginosa* و*Bacillus subtilis* ما يؤدي إلى تفكيك مهم. يُعتقد أنّ الآليّة تتضمّن تبدّلات في إنتاج البروتينات والبوليسكاريدات خارج الخلوية الضرورية لصون هيكل الأغشية الحيوية.

رغم كَون تفكيك الغشاء الحيوي آلية فعالة، فإنّها مصحوبة بعدّة تحديّات. إنّ الخلايا البكتيرية المشتّتة قد تحتفظ بفوعتها (virulence) وتساهم في نشر الإنتان. ولذا لا بد من مشاركة العوامل المفككة للغشاء (disassembly agents) مع علاجات مضادة للميكروبات لإزالة الخلايا المشتتة ومنع عودة المستعمرات (recolonization). بالمقابل، فإن تفكيك الفيلم الحيوي قد يزيد تعرض الخلايا البكتيرية للاستجابات المناعية الداخلية، ما يعزز قدرة الجسم على إشفاء العدوى [12].

ii. تثبيط الغشاء بعديدات السكاريد

تُعد عديدات السكاريد خارج الخلوية (Extracellular Polysaccharides – EPS) مكونات أساسية في مطرق الأغشية الحيوية، حيث توفر له الثبات البنيوي والحماية من التهديدات الخارجية. لقد تبين حديثًا أن بعض عديدات السكاريد تملك تأثيرات مُضرّة على تشكيل الغشاء الحيوي. لا تثبط هذه المواد بناء الغشاء الحيوي وتطوّره فحسب، ولكنها تستطيع أيضاً تعطيل المطارق الغشائية القائمة.

عديدات السكاريد المشتقة من سلالات *Pseudomonas aeruginosa*، مثل Pel و Psl، أظهرت قدرة على إنقاص تشكل الأغشية الحيوية العائدة لـ *S. epidermidis*. أظهر عديد سكاريد اسمه EPS-273، وهو عديد سكاريد مشتق من P. stutzeri 273 وهو بكتيريوم بحري (marine)، فعالية كبيرة في تثبيط تكوين الغشاء الحيوي في *Pseudomonas aeruginosa*. يستهدف EPS-273 عوامل الفوعة الرئيسة بشكل مباشر مثل البايوسيانين (Pyocyanin) والإكسوبروتياز (Exoprotease) والرامنوز (rhamnose). يقوم EPS-273 بإنقاص إنتاج البيوسيانين، ما يقود لإنتاج تراكيز منخفضة من H2O2. إضافة إلى ذلك، يستطيع أيضًا تثبيط تحرير eDNA، الذي تبين أنّهُ عاملٌ مهمٌ في تشكيل الغشاء المستقر. يعمل EPS-273 أيضًا كمضاد أكسدة وقد أظهر فعالية في خفض العداوى المرتبطة بالغشاء الحيوي. يمكن لهذا المركب أن يُستخدم للسيطرة على الإنتانات المشفوية (nosocomial) وفي الصناعة الغذائية لمنع تلف الأغذية (spoilage).

لا بد من الإشارة إلى أن عددًا من البوليسكاريدات، غير تلك العائدة إلى أصل بكتيري، بل المستخرجة من أنواع من الطحالب أو النباتات أو الحيوانات، قد أظهرت أيضاً فعالية مضادة للأغشية الحيوية.

لا تُعتبر آليات تفكيك الأغشية الحيوية والتداخل مع عديدات السكاريد حصرية لبعضها البعض. في الواقع، يمكن دمجها مع استراتيجيات أخرى، مثل مثبطات الإحساس النصابي (Quorum Sensing Inhibitors) وعوامل زيادة نفاذية الغشاء (Membrane-Permeabilizing Agents)، لتعزيز فعاليتها. على سبيل المثال، يمكن دمج D-tyrosine مع العوامل المستهدفة لعديدات السكاريد لتعطيل تكوين الأغشية الحيوية في مراحل متعددة، مما يمنع الالتصاق الأولي واستقرار المطرق. يجب أن تركز الأبحاث المستقبلية على تحسين هذه الآليات للتطبيقات السريرية والصناعية. يشمل ذلك تطوير أنظمة توصيل تعزز من اختراق العوامل المفككة للأغشية والعوامل المثبطة لعديدات السكاريد في الأغشية الحيوية. بالإضافة إلى ذلك، فإن فهم التكيفات الأيضية والجينية للأغشية الحيوية مع هذه العلاجات يمكن أن يساعد في تطوير استراتيجيات أكثر قوة [12].

iii. التشتيت الإنزيمي للمواد عديدة السكاريد خارج الخلوية EPS

إنّ المطرق البوليميري خارج الخلوي (EPS) هو سِمة الأغشية الحيوية، حيث يوفر الدعم الهيكلي، ويساعد في الالتصاق، ويحمي البكتيريا من التهديدات الخارجية. إن تحليل هذا المطرق باستخدام الإنزيمات ينقص من الالتصاق الخلوي والمقاومة الدوائية في الأغشية الحيوية الميكروبية.

تمَّ تحديد عدة إنزيمات لها فعاليّة ضد الأغشية الحيوية.

- Dispersin B: هو جليكوزيد هيدرولاز (glycoside hydrolase) يحلل عدديات السكاريد في مطرق EPS، خاصة في الأغشية الحيوية للعنقوديات البشروية (*Staphylococcus epidermidis*).
- DNase I: يكسر الحمض النووي خارج الخلوي، وهو مكون هيكلي رئيسي في العديد من الأفلام الحيوية.
- البروتياز: يحلل البروتينات المرتبطة بالمطرق، مما يضعف السلامة الهيكلية للأغشية الحيوية.

تعمل هذه الإنزيمات بشكل تآزري (synergistically) مع المضادات الحيوية، مما يحسن اختراق الأدوية وفعاليتها. على سبيل المثال، يعزز DNase I فعالية الأمينوغليكوزيدات ضد أغشية *Pseudomonas aeruginosa* الحيوية من خلال تحلل الـ eDNA الذي يحبس المضادات الحيوية داخل المطرق.

للتحلل الإنزيمي تطبيقات واسعة، بدءاً من إزالة الأغشية الحيوية من الأجهزة الطبية إلى منع تشكيل الأغشية الحيوية في الأنابيب الصناعية. على سبيل المثال، تخفض القثطرة المغلفة بـ DNase I مخاطر العدوى عن طريق منع تشكيل الأغشية الحيوية [12].

iv. *تثبيط تأشير نظام Cyclic di-GMP*

جزيء Cyclic di-GMP هو مرسال ثانوي أساسي في تطور الأغشية الحيوية في العديد من الأنواع البكتيرية. إنّ المستويات المرتفعة من cyclic di-GMP داخل الخلايا تعزز تشكيل الأغشية الحيوية من خلال تحسين الالتصاق (adhesion)، وإنتاج عديدات السكاريد خارج الخلوية(EPS) ، وتجمع الخلايا (aggregation)، في حين أنّ المستويات المنخفضة تعزز التحرك (motility) والنمو العائم (planktonic growth). لذلك، يمثل تعديل مستويات cyclic di-GMP نقطة تدخل استراتيجية.

تتم إشارة cyclic di-GMP بواسطة الإنزيمات مثل الـ diguanylate cyclases (DGCs) التي تقوم بتصنيع الجزيء، والـ phosphodiesterases التي تقوم بتحليله. تستجيب هذه الإنزيمات للمؤثرات البيئية، حيث تنظم بدقة السلوكيات المرتبطة بالأغشية الحيوية. تؤدي المستويات المرتفعة من الـ cyclic di-GMP إلى تنشيط البروتينات وعوامل النسخ التي تدفع نحو إنتاج الـ EPS والالتصاق السطحي، ونضوج الأغشية الحيوية.

المركبات مثل LP-1062 وLP-3134 وLP3145 وLP-4010 تثبط الـ DGCs، مما يقلل من مستويات cyclic di-GMP ويعطل تشكيل الأغشية الحيوية. أظهرت هذه الجزيئات فعاليتها ضد *Acinetobacter baumannii* و*Pseudomonas aeruginosa*. من المهم أن LP-1062 وLP-3134 يظهران سمية خلوية منخفضة عند التراكيز العلاجية، مما يبرز قابليتهما للاستخدام السريري [12].

v. *تثبيط استشعار النصاب*

تُنتَج اللاكتونات الهوموسيرينية الأسيلية AHLs عن طريق إنزيمات من نوع LuxI-type synthase وتعمل كإشارات لتنظيم أنشطة الخلايا. عند وصول تركيزها إلى مستوى معين، ترتبط بمُنشّطات النسخ من نوع LuxR-type transcriptional activators، مما يؤدي إلى تشغيل الجينات المرتبطة بتطور الأغشية الحيوية وإنتاج العوامل الفتاكة. هذا النظام المتكامل يجعل الإحساس النصابي هدفًا واعدًا للعوامل المضادة للأغشية الحيوية.

لقد أظهرت العديد من العوامل فعالية في تعطيل استشعار النصاب ومنع تكوين الأغشية الحيوية. وتشمل هذه العوامل مركبات طبيعية وأخرى صناعية مصممة للتداخل مع ارتباط الإشارات أو تعطيل إنتاجها. على سبيل المثال، تُعتبر الفورانونات المهلجنة(Halogenated Furanones) ، وهي مركبات مشتقة من الطحالب البحرية Delisea pulchra، عوامل فعالة تتداخل تنافسيًا مع إشارات AHLs، مما يمنع التنسيق بين البكتيريا ويؤدي إلى تفكيك الأغشية الحيوية.

إضافة إلى ذلك، أظهرت المركبات الطبيعية مثل الأليسين (Allicin) والأجوين (Ajoene) المستخرجة من الثوم، وكذلك البوليفينولات مثل حمض الإيلاجيك (Ellagic Acid) والإبيجالوكاتشين جالاتي (Epigallocatechin Gallate - EGCG)، قدرة على تثبيط الإحساس النصابي.

أظهرت الدراسات أن تعديل البنية الجزيئية لجزيئات AHLs يمكن أن يؤدي إلى إنتاج نظائر فعالة في تثبيط الإحساس النصابي. وتشمل هذه التعديلات استبدال حلقات اللاكتون أو السلاسل الجانبية الأسيلية. على سبيل المثال، أظهرت النظائر التي تحتوي على استبدالات مثل Cyclohexanone وCyclopentyl تأثيرًا مثبطًا قويًا للأغشية الحيوية التي تُنتجها *Pseudomonas aeruginosa* [12].

V. الاستنتاجات

الاستراتيجيّات القائمة على العلاجات المضادّة للفَوعة واعدة لمواجهة مسبّبات المرض. وإنّ أهم ميزة لاستهداف عوامل الفوعة هي أنّ هناك ضغط انتقائي أقلّ لتطوير المقاومة أي أن العامل المضاد للفوعة لا يمنع نمو الجراثيم وإنما يقلل فقط من آثار سِمات الفوعة، وبالتالي منع البكتيريا من استعمار المضيف مما يتسبب في مرورها عبر المضيف دون آثار ضارة [5]، ومن المثير للاهتمام أنَّ التآزر بين مركبات مضادة للفوعة تستهدف أهدافاً مختلفة يعتبر نهجاً جذّاباً لاستخدام العلاج المركب لتعزيز التأثير المضاد لمسببات المرض [3]. مع ذلك تُعد إحدى قيود العلاجات المضادة للفوعة هي عدم القدرة على القضاء الكامل على العدوى، وهو تحدٍ في التطبيقات السريرية خاصة للمرضى الذين يعانون من ضعف في المناعة، سيعتمد التقدم المستمر في تطوير هذه العلاجات على مزيد من البحث الأساسي لتعميق فهم آليات الفوعة البكتيرية وتفاعلات المضيف–الممرض.

أيضاً قد يساعد نهج المشاركات التي تشمل الاستخدام المتزامن للأدوية المضادة للأغشية الحيوية بآليات عمل مختلفة والعلاج المناعي المستهدف للأغشية الحيوية في تكسير المواد خارج الخلويّة وتحفيز تفكيك الأغشية الحيويّة وبالتالي زيادة فرص النجاح في القضاء السريري على الأغشية الحيويّة المتشكلة والتغلّب على المقاومة. ورغم العديد من التطوّرات الأخيرة، ومع ذلك لا تزال العدوى المرتبطة بالأغشية الحيوية أزمة صحيّة كبيرة. وبالتالي هناك حاجة إلى جهود منسّقة لتعميق فهم الجينات، والفيزيولوجيا، وديناميكيّات الأغشية الحيويّة بالإضافة إلى أنَّ العوامل المضادّة للأغشية المُستخدمة حاليّاً والمقترحة تتطلّب أبحاثاً مكثّفة لضَمان فعاليَّتها وسلامتها في التطبيقات السريريّة [13].

المراجع

[1] Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens (Basel, Switzerland), 10*(10), 1310. https://doi.org/10.3390/pathogens10101310

[2] World Health Organization. (2023). *Antimicrobial resistance.* https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance

[3] Dehbanipour, R., & Ghalavand, Z. (2022). Anti-virulence therapeutic strategies against bacterial infections: recent advances. *Germs, 12*(2), 262–275. https://doi.org/10.18683/germs.2022.1328

[4] Sharma, A. K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M., & Singh, Y. (2017). Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival. *Indian journal of microbiology*, *57*(1), 1–10. https://doi.org/10.1007/s12088-016-0625-1

[5] Rasko, D. A., & Sperandio, V. (2010). Anti-virulence strategies to combat bacteria-mediated disease. *Nature reviews Drug discovery*, *9*(2), 117-128. https://doi.org/10.1038/nrd3013

[6] Sheehan, J. R., Sadlier, C., & O'Brien, B. (2022). Bacterial endotoxins and exotoxins in intensive care medicine. *BJA education, 22*(6), 224–230. https://doi.org/10.1016/j.bjae.2022.01.003

[7] Yan, J., & Bassler, B. L. (2019). Surviving as a Community: Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms. *Cell host & microbe*, *26*(1), 15–21. https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.06.002

[8] Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., & Schild, S. (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutical strategies. *Microbial cell (Graz, Austria)*, *8*(2), 28–56. https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741

[9] Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in cellular and infection microbiology, 13,* 1137947. https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947

[10] Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *2*(11), a012427. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a012427

[11] Ivanova, K., Fernandes, M. M., & Tzanov, T. (2013). Current advances on bacterial pathogenesis inhibition and treatment strategies. In A. Méndez-Vilas (Ed.), *microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology, and education* (pp. 322-336). Formatex Research Center. http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3988.7840

[12] Asma, S. T., Imre, K., Morar, A., Herman, V., Acaroz, U., Mukhtar, H., Arslan-Acaroz, D., Shah, S. R. A., & Gerlach, R. (2022). An Overview of Biofilm Formation-Combating Strategies and Mechanisms of Action of Antibiofilm Agents. *Life (Basel, Switzerland), 12*(8), 1110. https://doi.org/10.3390/life12081110

[13] Abdelhamid, A. G., & Yousef, A. E. (2023). Combating Bacterial Biofilms: Current and Emerging Antibiofilm Strategies for Treating Persistent Infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland), 12*(6), 1005. https://doi.org/10.3390/antibiotics12061005