الفصل الثامن

التدمير الإنزيمي أو تعديل المضاد الحيوي بواسطة البكتيريا المقاومة
ENZYMATIC DESTRUCTION OR MODIFICATION OF THE ANTIBIOTIC BY RESISTANT BACTERIA

هذا الفصل هو الأول من ثلاثة (الفصلان الثامن والعاشر) التي تتعامل مع الآليات الثلاثة الرئيسة لمقاومة المضادّات الحيوية. الشكل في افتتاح الفصل يبرز قسم من الشكل (٢.٢) الذي يلخص المقاومة بواسطة تعديل (تغيير) المضادّات الحيوية.

يحدث تعطيل النشاط الإنزيمي للمضادّات الحيوية مع العديد من المنتجات الطبيعية من أصناف المضادّات الحيوية ولكن لم يلاحظ بعد كطريقة لتَطوُّر المقاومة لأصناف المضادّات البكتيرية الاصطناعية: كتوليفة سلفاميثوكسازول، الفلوروكوينولونات، أو أوكسازوليدينونات. وهذا قد يعكس زمن تعرض البكتيريا للمنتجات الطبيعية، افتراضاً مئات الملايين من السنين، مقابل ٧٠ عاماً أو أقل لصنع الإنسان المضادّات الحيوية. وهذا المعيار قد يوحي أن المضادّات الحيوية الجديدة المصنوعة من مكتبات الكيميائيات الاصطناعية التي لا توجد في الطبيعة يمكن أيضاً أن يعطل نشاطها ببطء بواسطة هذه الآلية. وبالطبع، فطرق تعطيل النشاط الأخريين، التي تم شرحها في الفصلان التاسع والعاشر، يمكن أن تكون فعّالة.

الطريقة الأكثر انتشاراً لتَطوُّر المقاومة السريرية لمضادّات بيتا-لكتام الحيوية هي استخراج إنزيمات البيتالاكتاماز *(β-lactamases)* التي تحلل (تذوب) المضاد الحيوي (بوش وموباشري Bush and Mubashery, 1998). وقد اقترح أن الخسائر الاقتصادية السنوية تقدر بحوالي ٣٠ بليون دولار في سكان الولايات المتحدة من الأمراض التي تسببها البكتيريا المقاومة المنتجة للكتاميز (بالومبي Palumbi, 2001).

تدمير مضادّات بيتا- لكتام الحيوية بواسطة بيتا- لكتامازات

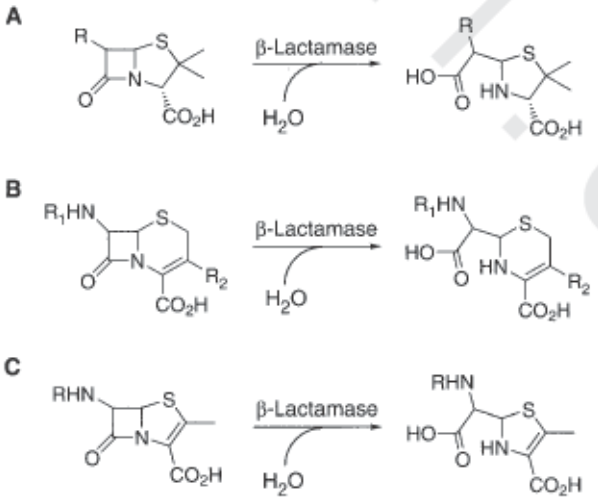
العائلات الفرعية من البيتا لكتامازات: الإنزيمات المُذوبة للموقع -النشط سيرين

(Subfamilies of *β*-lactamases: active -site serine hydrolases)

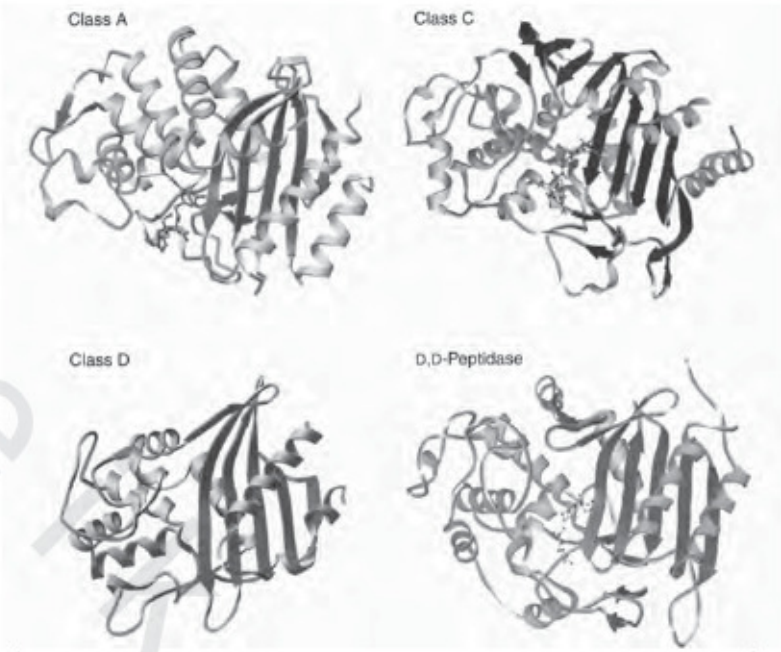
تحلل إنزيمات البيتالكتاماز حلقة البيتالاكتام ذات الأربعة - أطراف في كل من أصناف مضادّات البنسيلّين والكيفالوسبورين الحيوية فضلاً عن مجموعة الكاربابينيم (الشكل ٨.١). وهم بذلك يدمرون النشاط المضاد للبكتيريا

بواسطة تعطيل نشاط الرؤوس الحربية الكيميائية في الجزئ، البيتالاكتام المتوتر الذي يعدُّ المجموعة الكيميائية المؤسلة (acylating group) النشطة لتعديل موقع سيرين – النشط من السلاسل الجانبية في البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين (PBPs) (ترانسببتيدازات وكربوكسيبْتيدازات (transpeptidases and carboxypeptidases) في الربط التبادلي للببتيدوغليكانات، انظر الفصل الثالث). ولقد اكتشف نشاط البيتالاكتاماز قبل سنوات قليلة من الاستعمال السريري للبنسلين في الإنسان، مما يدل على وجود البكتيريا في التربة التي تكافح البنسيلّين المنتج الطبيعي والآن أكثر من ١٩٠ بيتالاكتاماز تم وصفها (بوش وموباشري ١٩٩٨، ثومسون ومولاند Thomson and Moland, 2000) وتصنيفها إلى الصنف A,B,C,D بيتاكتامازات (بوش وموباشري Bush and Mobashery, 1998). والأصناف A,C,D هي إنزيمات ذات الموقع – النشط سيرين، مع التشابه المعماري والآلي للبروتينات المرتبطة بالبنسيلّين (PBPs) (نوكس Knox, 1995، نوكس وآخرون Knox *et al.*, 1996)، (الشكل ٨,٢) مما يوحي على التَطوُّر من البروتينات المرتبطة بالبنيسيلين.

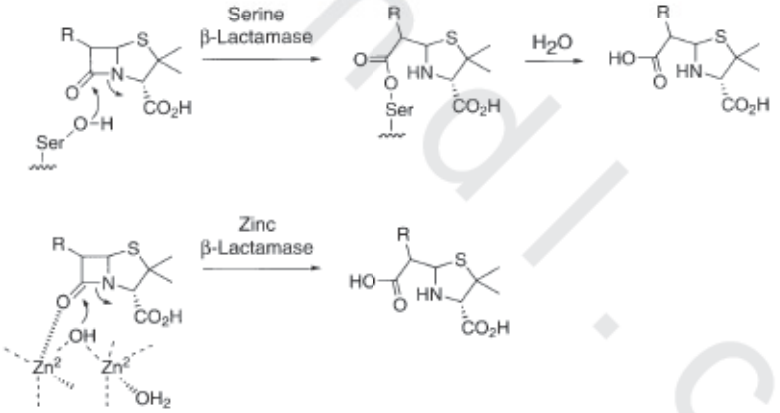
يتكون في أصناف A,C,D من البيتالاكتاماز نفس نوع إنزيم بنسيلويل – أو سير (pencilloyl-*O*-Ser) المتواسط التساهمي كما هو الحال في الدورة المحفزة للبروتينات المرتبطة بالبنسيلّين التي تهاجم وتفتح حلقة البيتالاكتام وتصبح مؤسلة – ذاتياً (الفصل الثالث). ولا يوجد إنزيم بنسيلويل متواسط تساهمي في الدورة الحفّازة لصنف B بيتالاكتامازات (الشكل ٨,٣) المعتمد على الزنك، والذي له عواقب لفشل صنف B بيتالاكتامازات من أن تُثبط بواسطة الأدوية المعينة، كما تم شرحه لاحقاً.



الشكل (٨,١). فتح الحلقة المُذوبة وتعطيل نشاط (A) البنسيلّينات، (B) الكيفالوسبورينات، و(C) الكاربابينيمات بواسطة بيتالاكتامازات.



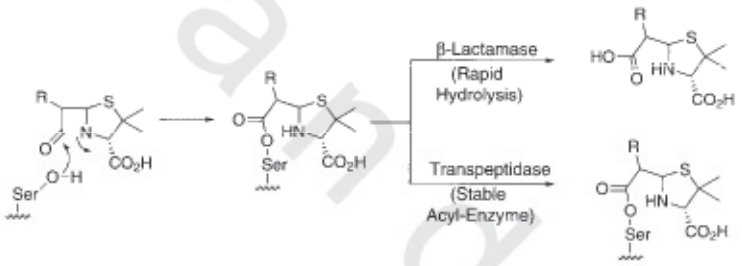
الشكل (٨,٢). تراكيب الأصناف A,B,C,D من البيتالاكتاماز والتناظر إلى طية D-D-peptidases (PBP). (الشكل المقدم بالإذن من جي. نوكس J.Knox).



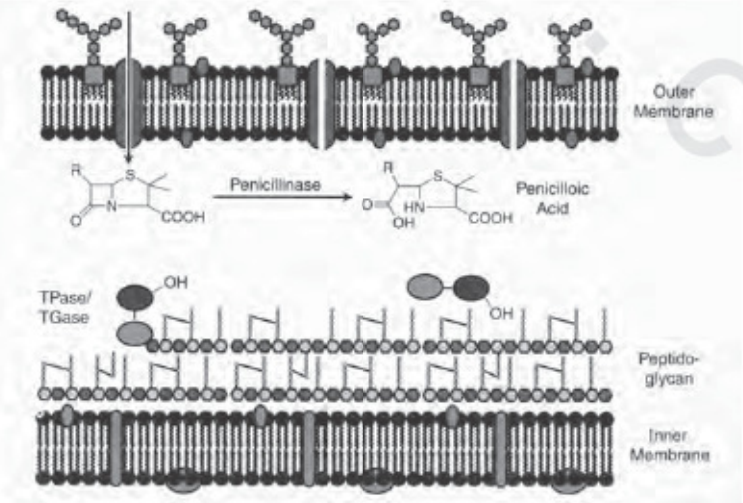
الشكل (٨,٣). تحلل حلقة البيتالاكتام للبنسيلّين بواسطة أصناف A,C,D بيتاكتاميز التي تشمل إنزيمات بنسيلويل التساهمية المتواسطة، بينما أصناف بيتالاكتاماز B المعتمدة على الزنك تنفذ عملية الهجوم بواسطة الماء.

وقد كان هناك جدل على أن البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين قد تكون نشأت إلى بيتالاكتامازات عدة مرات وبشكل مستقل، من أجل توليد مختلف الاتجاهات لرواسب الموقع- النشط في الصنف A,C,D من البيتالاكتامازات (انظر ماسوفا وموباشري Massova and Mobashery, 1998، والمراجع الواردة فيه). والفارق في النتيجة وانقلاب البيتالاكتامازات والانتحار من أجل ترانسبتيدازات للبروتين المرتبط بالبنسيلّين (PBP transpeptidases)، ينشأ من الأعمار المختلفة لإنزيمات أسيل - أو سير (acyle –*O*-Ser). وفي إنزيم بنسيلويل -PBP- أسيل من الترانسبتيدازات،

يستبعد الماء من الموقع النشط ويكون التحلل بطيء للغاية (يبلغ زمن – النصف لنزع الأسيل حوالي ٩٠ دقيقة، مقارنة بأربع دقائق لإنزيم N-acyle-D-Ala-D-Ala acyle من المادة الطبيعية) (فيشر وآخرون Fisher *et al.*, 1980,)، ونشكل مماثل فالعمر الزمني لإنزيم بنسيلويل يكون طويلاً، ويعطل نشاط الترانسبيتيداز، ويتوقف الربط التبادلي للببتيدوغليكان (للمراجعة، انظر نوكس وآخرون Knox *et al.*, 1996). وعلى النقيض، يشمل نشاط اللاكتاميز التحلل المائي، وليس أسر إنزيم أسيل– أو – سير بواسطة الأمين (amine)، وللماء حرية الوصول للموقع –النشط لإنزيم بنسيلويل– أو – سير، ومعدل نزع الأسيل يكون سريعا (الشكل ٨,٤) ، $2.600\ s^{-1}$ للبيتالاكتاماز TEM-1. ويبلغ صافي الفرق في معدل نزع الأسيل لنفس الإنزيم المتواسط بنسيلويل– أو – سير في اللاكتاميز مقابل PBP 2.7×10^7. تفرز البكتيريا السالبة – لغرام المنتجة للبيتاكتاميز هذا الإنزيم المشرف إلى داخل فضاء الجبلة (periplasmic space) بحيث أن مضادّات البيتالاكتام الحيوية تتحدى هذه الإنزيمات المحللة لتصل إلى أهدافها عند سطح الغشاء السيتوبلازمي (الشكل ٨,٥)، مما يجعل من الصعب على أي بيتالاكتام سليم الوصول إلى هدفه PBP.



الشكل (٨,٤). نصف – الأعمار المختلفة لأنزيم أسيل – أو– سير المتواسط التي تتحكم بالنتائج بواسطة بنسيلويل–PBPs مقابل بنسيلويل– بيتالاكتامازات.



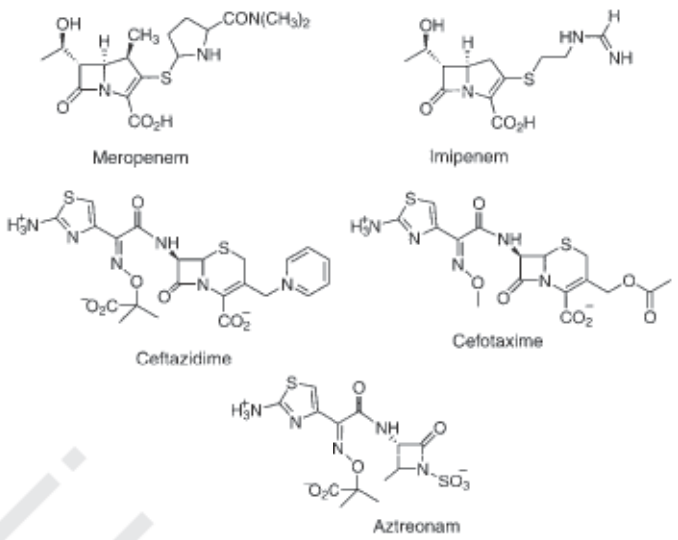
الشكل (٨,٥). بيتالاكتامازات في جبلة الخلية البكتيري يحلل البنسيلّينات والكيفالوسبورينات قبل أن يصل لهدفه PBPs عند الوجه الخارجي للغشاء السيتوبلازمي. Tpase/ Tgase، ترانسبيتيداز/ تراتنسغليكوزيلاز ثنائي الوظيفة.

يُرمَّز TEM-1 (داتا وكونتوميكالو Datta and Kontomichalou, 1965) وTEM-2 لكتامازات ذوي العلاقة المنتشرين في البكتيريا – السالبة – لغرام مثل الإشريكية القولونية والكلبسيلة الرئوية، على عناصر نقل وتتحرك بسرعة خلال جمهرة البكتيريا (أميز Amyes, 2001، ويديمان وآخرون Wiedemann *et al.*, 1989). وكان الكيفالوسبورينات – ممتد – المدى مثل سيفتازيديم وسيفوتاكسيم (التراكيب في الشكل ٨,٦، انظر كذلك الفصل الثالث) قد طُوِّر للتغلب على المقاومة المقدمة بواسطة TEM-1 والبتاكتامازات ذات العلاقة. وفي المقابل، فإن ما لحق من الاستخدام الواسع الانتشار للكيفالوسبورين، يعتقد أنه قد انتقي للطفرات المتعاقبة في TEM بيتالاكتامازات، منتجاً إنزيمات حالّة والتي حسنت الانجذاب لأطر اللاكتام هذه وما يعقب ذلك من المقاومة الممتدة – للبيتالكتام (انظر الفصل السابع عشر). والعديد من TEM لكتامازات المتغيرة قد تم عزلها وتسلسلها (مثال، جوسارد وكورفالين Goussard and Courvalin, 1999). وبخصوص التقدم الذي أحرز عن تحديد تراكيب أشعة – إكس للكتامات ووسائط إنزيم أسيل المشتق من اللاكتام في الموقع النشط للكتامازات، انظر بيدل وآخرون Beadle *et al.*,2002.

بيتالاكتاماز– المعدن (المفلز): الإنزيم الحال– للزنك

(Metallo-*β*-lactamases: zinc hydrolases)

صنف B بيتالاكتاماز هي إنزيمات الزنك، وتحتوي على مجموعة زنك ثنائية النواة في الموقع النشط (توني وآخرون Toney *et al.*, 1998، وانج وآخرون Wang *et al.*, 1999). وعلى عكس الأصناف A,C,D بيتالاكتاماز، التي تفتح حلقة اللاكتام عن طريق وسائط إنزيم أسيل التساهمي، التي نوه عنها أعلاه، يستعمل صنف B بيتالاكتاماز الزنك لتنشيط جزيء الماء ويحفز إضافته المباشرة إلى حلقة البيتالاكتام (الشكل ٨,٣). ويعتقد أن النوع B من البيتالاكتاماز – المعدن هو الصنف الفرعي الرئيس للإنزيمات الحالّة (hydrolases) التي تدمر مضادّات كاربابينيم الحيوية مثل إميبينيم (ثينامايسين thienamycin) وميروبينيم (الشكل ٨,٦). والاستعمال الواسع للكاربابينيم في اليابان (كروكاوا وآخرون Kurokawa *et al.*, 1999) ربما كان مساعداً في انتقاء نسخة IMP-1 من بيتالاكتاماز – الزنك التي شوهدت للمرة الأولى في سيريشيا (المنشارية) مارسيسنز *(Serratia marcescens)* والزائفة الزنجارية. ولقد تم وصف إنزيمات الكاربابينيمازات (carbapenemases) كمشكلة سريرية في الانتظار لعداوى الزئفة (ليفرمور وودفورد Livermore and Woodford, 2000) ولكن كانت مشكلات مقاومة الكاربابينيم الأكثر حدة في الزائفة الزنجارية هي في آليات التدفق، كما لوحظ في الفصل التاسع. والعديد من البكتيريا التي تنتج النوع D من الإنزيم الحال المفلز (type D metallohydrolases) تنتج كذلك الأنواع A,C أو D لكتاميز (راسموسين وبوش Rasmussen and Bush, 1997)، وعلى سبيل المثال يحمل العزل السريري من *S.marcescens* النوع A وانوع B من الجين *bla* على البلازميد (يانو وآخرون Yano *et al.*, 1999).



الشكل (٨,٦). التعديلات التركيبية في سلاسل أسيل الجانبية لمضادّات البيتالاكتام الحيوية من أجل البناء في المعالجة البطيئة بواسطة بيتالاكتاماز. يظهر تحليل أشعة – إكس لمضادّات البيتالاكتام الحيوية الممتدة المدى بواسطة بلورات بيتاكتاميز المشتركة أن السلسلة الجانبية الضخمة توفر عرقلة شديدة الفراغية لتحديد الموقع المناسب للماء في خطوة نزع الأسيل ومسئولة عن k_{cat} s التحلل الإنزيمي المائي.

الإستراتيجيات لمعادلة بيتالاكتاماز

هناك طريقتان قد تم الأخذ بهما في العقود منذ بدأ العزل السريري المقاوم – للكتام ينقص فعاليّة البنسيلّينات والكيفالوسبورينات كمضادّات حيوية. الأولى كانت لتطوير بيتالاكتام شبه اصطناعي والتي كانت مواد أبطأ للهجوم بواسطة اللاكتامازات الحالّة بالماء (hydrolytic lactamases). والطريقة الثانية كانت للكشف عن مثبطات ومعطلات نشاط لفعاليّة اللاكتاماز ومن ثم تجمع هذه الجزيئات مع البيتالاكتام. وكل من الطريقتين لها نجاحاتها (نوليس Knowles,1985).

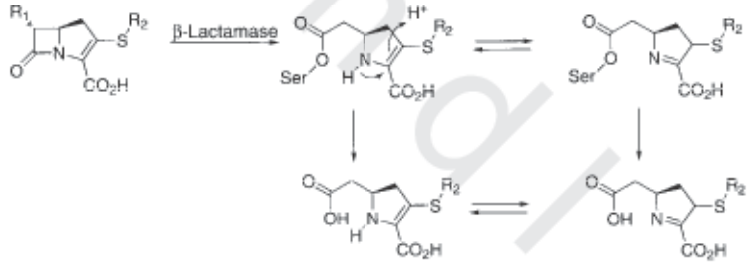
المواد (الركائز) البطيئة للبيتاكتامازات

البحث عن لاكتامز شبه اصطناعي الذي يحتفظ بقوة المضاد الحيوي ولكن له فعاليّة متزايدة ضد منتجي الاكتاميز أبرز عديداً من الجزيئات التي أدخلته في المعالجات السريرية. وأساساً هذه إستراتيجية لإيجاد بدائل على رؤوس حرب بيتاكتام الكيميائية التي تعرقل ربط بيتالاكتاماز و/ أو التحفيز ولكن لا تتدخل مع ربط PBP وعملية الأَسَلة (acylation). وتقع المونوبكتامات وحيدة الحلقة (monocyclic monobactams) ضمن هذه الفئة، وأزتريونام (aztreonam) هو أحد الأمثلة (الشكل ٨,٦). وكذلك في هذه الفئة الكاربابينيمات، ويستبدل الكبريت (sulfur) في الخمس حلقات بالكربون (الشكل ٨,٦)، وهذه هي الإستراتيجية في الميروبينيم (meropenem) والثيناميسين مركب الإميبينيم. بذل الكثير من الجهد لإيجاد الاكتامات التي لا تكون مواد للانحلال بواسطة الاكتامازات وركز هذا الجهد على كيفالوسبورين ٦/٤ ثنائي حلقة الإطار مع تغيير سلسلة أسيل الجانبية، منتجاً الأدوية مثل سيفتازيديم وسيفوتاكسيم

obeikandl.com

(الشكل ٨،٦) والتي تطيل مدى فعاليّة المضاد الحيوي لتعالج عديداً من المُمْرِضات المنتجة – للبيتالاكتامازات (انظر كذلك الفصل الثالث). والمنطق كان أن سلاسل أسيل الجانبية الضخمة على مجموعة ٧–أمينو لإطار اللاكتام تسمح بتكوين وسائط أسيل-PBP (acyl-PBP intermediates) ولكنها تعرقل المعالجة بواسطة اللاكتامازات.

يعدُّ الكاربابينيم ثيناميسين مادة بطيئة لتحلل البيتالاكتامازات لأسباب مختلفة. يستطيع إنزيم الأسيل الوسيط (الشكل ٨،٧) أن يخضع لعملية تزامرية تشابكية مزدوجة – الربط (double –bond isomerization) في الحلقة ذات الخمس – أعضاء من Δ^2 إلى Δ^1 أوليفين (olefin)، إنيامين إلى إمين (an eneamine to an imine)، والشكل الأخير من إنزيم أسيل خو الأبطأ ليتحلل بحوالي ٥٠٠٠٠ – طية (انظر ماسوفا وموباشري Massova and Mobashery, 1998). وتعدُّ الكيمياء الفراغية (stereochemistry) لسلسلة هيدروكسي إيثيل (hydroxyethyl) الجانبية، 1R بدلاً من 1S في البنيسيلينات محدد مهم كذلك لعرقلة هجوم الماء في عملية نزع الأسيل (deacylation) من إنزيم الأسيل. والتحلل البطيء يعني العمر الطويل لإنزيم الأسيل، وبهذا فالقوة المحفزة المدمرة للبيتالاكتاماز بضخامة الأوامر في حين أنها وضعت في هذا التقريب التساهمي. وبديل– الثيناميسين، ميروبينيم (انظر ميتشر وآخرون Mitscher *et al.*, 1999) (الشكل ٨،٦) له ميثيل مستبدل على الحلقة الخامسة لإتاحة الإعاقة الفراغية للربط إلى البتالكتامازات.



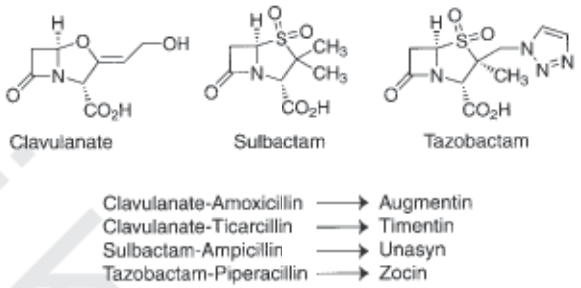
الشكل (٨،٧). التزامرية التشابكية في شكل إنزيم أسيل مفتوح – الحلقة من كاربابينيم ثيناميسين أثناء التدمير بواسطة بيتالاكتاماز يبطئ صافي التحلل المائي.

الآلية – المستندة على مثبطات الفعاليّة للبيتالاكتاماز

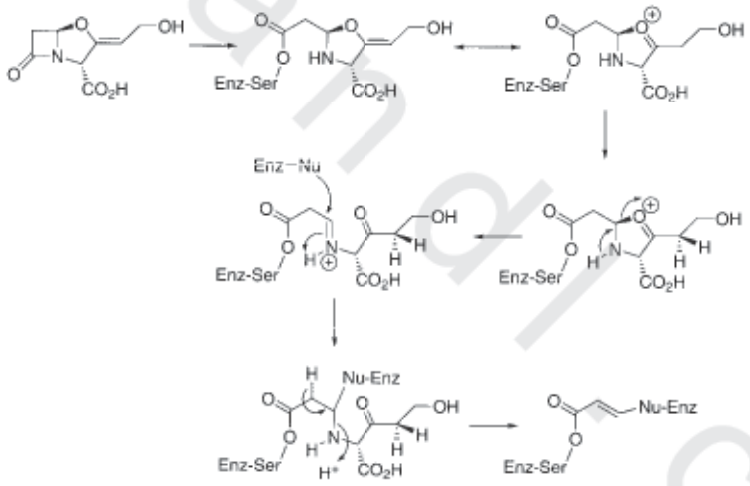
الطريقة الثانية، المسح للآلية – المستندة على مثبطات الفعاليّة للبيتالاكتامازات لتتبنى فلسفياً على النمط المشاهد مع الكاربابينيم – المشتق من إنزيم الأسيل. وهو يعتمد على إعادة ترتيب إنزيم أسيل -*O*- لكتاميز التساهمي (acyl-*O*-lactamase) الأولي إلى شكل الإنزيم التساهمي البديل الذي يعتبر أبطأ بكثير ليتحلل. ويوجد نوعان من الآلية المستندة على مثبطات الفعاليّة، أو مواد انتحارية، للبيتالاكتامازات لتصبح ناجحة سريرياً (ميتي وآخرون Maiti *et al.*, 1998). الأول هو المنتج كلافولينيت (clavulanate) الطبيعي، وهو بيتالاكتام إينول إيثر (*β*- enol ether lactam) من المتسلسلة كلافوليجريس *(Streptomyces calvuligerus)*، والصنف الثاني يمثل بواسطة سلفون البنسيلّين

(penicillin sulfone) والبديل تازوبكتام (tazobactam) المتجانس (الشكل ٨,٨). وفي كل من الكلافولينيت وسلفون البنسيلّين، التعديلات التركيبية تضعف رابطة C-O أو رابطة C-S, بالترتيب، بحيث أن الهجوم بواسطة اللاكتاميز الموقع – النشط – سيرين –OH) OH– lactamase active –site –serine) على كربونيل البيتالاكتام يؤدي أيضاً إلى تجزئة ٥/٤ وصلة الحلقة، كما هو مبين في الشكل (٨,٩). والترتيبات اللاحقة تتبع ذلك، مع المزيد من التجزئة وتراكم إنزيم أسيل المعاد ترتيبه (ماسوفا ومباشري Massova and Mobashery, 1998). والتأثير الصافي للمعالجة بواسطة الصنف A للبيتالاكتاماز هو إنزيم أسيل مقترن ومهاجم أقل – بكثير بواسطة الماء لنزع الأسيل والتعطيل المقارن لإنزيم أسيل مفتوح – الحلقة اللاحق والمشتق من سلفونات البنسيلين. وأشكال إنزيم أسيل من البيتالاكتاماز الأكثر ثباتاً تعني أن هذا المضاد الحيوي – محفز التدمير قد وُظف في عقد طالما استمر بقاء إنزيم أسيل. ولا يعتبر الكلافونيت ولا حتى السلفونات أقوياء بما يكفي كمضادّات بيتالاكتام حيوية لتستعمل بمفردها ولذلك فهي تستعمل في تجميعات (تواليف) (الشكل ٨,٨). وعلى سبيل المثال، فتوليفة الأموكسيسيلين والكلافولينيت، المعروفة بالأجمنتين (Augmentin)، لزيادة القوى التي يضفيها الكلافولينيت إلى الأموكسيسيلين، كانت من أوسع أشكال البنسيلّين استعمالاً في السنوات الأخيرة. وفي مخطط الشكل (٨,٥)، يعطل الكلافولينيت نشاط ما يكفي من جزيئات البنسيلّينيز (penicillinase) (بيتالكتاماز) ليسمح للأموكسيسيلين بالبقاء في جبلة خلية منتجي البيتالاكتاماز ليعبر ذلك الفراغ سليماً. وهكذا بإمكان الأموكسيسيلين التحدي وبلوغ أهدافه PBP في الغشاء السيتوبلازمي (مثال، مجال الترانسبيتيداز (TPase) لـ Tpase الثنائي الوظيفي/ PBP ترانسغليكوسيلاز ذا الوزن الجزئي – العالي). تعرف التوليفة المماثلة للسلبكتام (sulbactam) والأمبيسيلين بيوناسن (Unasyn)، وبياع تازوبكتام وبيبراسيلين كزوسن (Zosyn) (الشكل ٨,٨). بينما من الواضح أن هذه الآلية – المستندة على المثبطات سوف تستهدف فقط البيتالاكتاماز – المستند على السيرين وليس الصنف D اللكتامازات المعدنة (الشكل ٨,٣)، كما يلاحظ أن السلبكتامات والكلافولينيت هما الأكثر فعاليّة ضد الصنف A بيتالاكتاماز ونقص الفعاليّة المفيدة ضد الصنف C بيتالاكتاماز (برونسون وباريت Bronson and Barrett, 2001a)، وهكذا فهناك مجال للمزيد من تطوير الآلية – المستندة على مثبطات الكتاميز. لقد تم عزل البروتين المثبط للبيتالاكتامازبيتالاكتماز ((β-lactamase inhibitory protein (BLIP) من المتسلسلة كلافوليجرس، التي تنتج الكلافولينيت، حيث من الممكن أن تكون بمثابة بروتين مناعة لحماية الكائنات المنتجة – للمضادّات الحيوية. BLIP له قيم K_i تبلغ مليون من مليون جزيء غرامي إلى جزء من ألف مليون جزيء غرامي ليرتبط مع العديد من بيتالاكتاماز (مثال، 0.1 to 0.6nM لـ TEM-1) (رودجريس وآخرون Rudgers *et al.*, 2001)، ولقد تم حل تركيب أشعة – إكس للمعقد BLIP وTEM-1 بيتالاكتاماز، المؤدي إلى نظرات ثاقبة إلى المثبطات– المستندة على البروتين ويقترح أن تحويل الببتيدات المشابهة إلى بيتا (β-turn peptidomimetics) سيجعلها مثبطات مفيدة (رودجريس وآخرون Rudgers *et al.*, 2001). والبروتين الثاني، BLIP-II، من المتسلسلة إكسوفوليتس (*Streptomyces*

exfoliatus)، كذلك تم حل تركيبه في معقد مع TEM-1 بيتالاكتاماز، ليظهر طية متميزة من BLIP وطريقة أخرى لعرقلة الموقع النشط لـ TEM-1، كمثبط تنافسي لربط اللاكتام مع 27pM K_i القوي الاستثنائي (ليم وآخرون Lim *et al.*, 2001). ويبدو أن الوظيفة الفسيولوجية لـ BLIP هي في تبوُغ (sporulation) المتسلسلة، حيث إنها قد تثبط واحد أو أكثر من البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين في المتسلسلة لتعيد توجيه البناء الحيوي للببتيدوغليكان نحو تكوين الأبواغ.



الشكل (٨,٨). الكلافولينيت، سلبكتام وتازوبكتام: الآلية – المستندة على مثبطات الفعاليّة للبيتاكتامازات.



الشكل (٨,٩). تحويل مسار وسيط إنزيم أسيل بواسطة الكلافولينيت وسلفون البسيلين لتثبيط فعاليّة البيتالاكتاماز.

مثبطات بيتالاكتاماز المعدن

أصبح استعمال الكاربابينيمات في معالجة كل من العداوى السالبة – لغرام والموجبة – لغرام ضعيفاً بواسطة التحلل المائي الإنزيمي وتعطيل الفعاليّة. بينما الكاربابينيمات وكما ذكر أعلاه مقاومة إلى حد كبيرلصنف A بيتالاكتاماز المستندة – على سيرين الكروموسومي، فهي تتحلل مائياً وبسرعة بواسطة الصنف B بيتالاكتاماز –الزنك (راسموسين وبوش Rasmussen and Bush, 1997)، مثال ذلك، في سلالات العصوانية الهشة *(Bacteroides fragilis)* المعزولة من عداوى مرضى الجراحة. وقد تم وصف تركيب أشعة – إكس للبيتالاكتاماز – المعدن CcrA (CcrA metallo-β-lactamases)

(توني وآخرون Toney *et al.*, 1998) والتي تستخدم في التصميم – المستند على – تركيب مثبطات تترازول الفينيل الثنائي (biphenyl tetrazole) التي تنسق للموقع – النشط الزنك وبالتالي فهي محددة لهذا الصنف البتالكتاميز المعدن. ولقد لوحظ ٥٠ ٪ التركيز المثبط حوالي ٠.٤ ميكرومتر لمثبط تترازول الفينيل الثنائي الأكثر فعاليّة، وكان هذا قد تبلور بالمشاركة ليثبت الربط للموقع – النشط وتربيط الزنك بواسطة أحد نيتروجينات حلقة تترازول. وقد يكون ذلك واعداً لإضافة الجزيئات للكاربابينيمات، بنفس الطريقة التي أضيف بها كلافولينيت أو سلبكتام إلى بيتالاكتام للحصول على التوليفة التي تتغلب على المقاومة – المتواسطة بصنف B بيتالكتاماز. ولقد تم وصف سلسلة من المنتجات الطبيعية الحلقية الثلاثية ذات الفعاليات المتوسطة تجاه هذه المجموعة الفرعية من البتالكتام (بايني وآخرون Payne *et al.*, 2002).

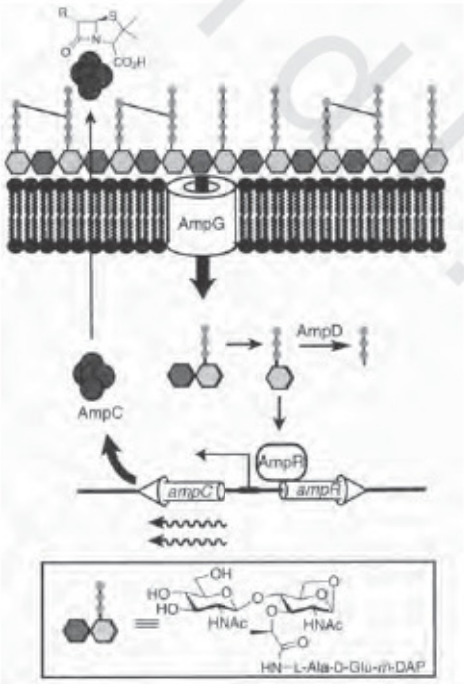
تنظيم إظهار جين بيتالاكتاماز و/ أو التحلل االذاتي في وجود البنسيلّين

بالإمكان طمر جينات بيتالاكتاماز في الريبوسومات البكتيرية، مثال جين *ampC* في البكتيريا المعوية أو جين *blaZ* في المكورة العنقودية الذهبية، أو بالإمكان حملها على نسخ متعدِّدة من البلازميدات أو الينقولات، كما هو الحال في جين TEM-1*bla* في مختلف البكتيريا السالبة – لغرام ذات المقاومة – العالية للبنسيلّين الموجودة في العزل السريري. وعادة فجينات *bla* لا يعبّر عنها بنيوياً (جوهرياً) ولكن تُشغل عندما تظهر مضادّات بيتالاكتام الحيوية في البيئة الدقيقة. وفي الآونة الأخيرة تمت تسوية نظم الإشارات (signaling systems) للكشف عن بيتالكتامز – الخارجية للإشريكية القولونية، المكورة العنقودية الذهبية والمكورة الرئوية وكشفت عن مسارات مختلفة لنقل الإشارة والتي يمكن أن تكون أهدافاً لعكس المقاومة المتواسطة – بالاكتاماز.

الإشريكية القولونية *E.coli*

في الإشريكية القولونية، تتحكم جينات *ampG,ampD,and ampR* في التعبير عن *ampC*– الذي يُرمِّز بيتالاكتاماز (جاكوبز وآخرون Jacobs *et al.*, 1997). ويُرمِّز جين *ampG* البروتين عبر – الغشاء الذي يعتقد أنه يعمل كإنزيم نفوذي (بيرمياز permease) الذي يورِد جزء من ببتيدوغليكان جدار الخلية الذي تم إطلاقه بواسطة تدمير الآلية الإنزيمية للربط المتبادل – عبر جدار الخلية عندما يبدأ البيتالاكتام أسَلة (acylate) البروتينات المرتبطة بالبنسيلّين ويمزق العملية المنظمة لإطالة الببتيدوغليكان وإعادة النمذجة (remodeling). والجزئي المنقول بواسطة AmpG هو ثنائي السكريل ثلاثي الببتيد GlcNAc-anhydroMurNAc-L-Ala-D-γ-Glu-*meso*-DAP (disaccharyl tripeptide) (الشكل ٨.١٠)، الذي تم إطلاقه بواسطة العمل المتتابع لثلاث إنزيمات. الأول هو عمل الإندوببتيداز (endopeptidase) ليفلق الروابط – التبادلية التي تمسك خيوط البِبْتيد سوياً. ومن ثم يأتي عمل الترانسغليكوزيلازات الحالة (lytic transglycosylases)، محفزة إضافة C_6-OH من مجموعة غليكوزيل في خيوط الجليكان إلى الموقع-١ (1-position)، ليفلق السكر بين الرابطة ويطلق ثنائي السكريد كإستيال نصفي داخلي (6,1-internal hemiacetal)

(MurNAc) اللامائي (anhydroMurNAc). وتنشأ سلسلة الببْتيد الثلاثي من تقصير الببْتيد الرباعي أو سلسلة الببْتيد الخماسي بواسطة فعل كربوكسيببتيداز- L,D (L-D-carboxypeptidase)، الإنزيم الثالث المطلوب لإنتاج جزء الإشارة. والآن الببتيد الثلاثي GlcNAc-anhydroMurNAc، الجزئي الصغير الذواب، يستطيع أن ينتشر للحقل الخارجي لـ AmpG، يرتبط، وينتقل إلى داخل السيتوبلازم (الشكل ٨,١٠)، حيث يستطيع أن يتفكك من AmpG. والآن بإمكان الببتيد الثلاثي ثنائي السكريد والذي تم إطلاقه إلى داخل السيتوبلازم أن يميز كربيطة (ligand) لـAmpR، عنصر الانتساخ ويحوله إلى الشكل النشط الذي يحرك انتساخ *ampC*، ثم يبدأ التعبير عن البيتالكتاميز. ويترجم AmpC بيتالاكتاماز مع تعاقب إشارة نهاية-N (N-terminal signal sequence) التي تستهدفها لنقلها إلى الغشاء السيتوبلازمي وتفرز إلى داخل الفراغ الجبلي، حيث تبدأ في تدمير مضاد البتالكتام بالتحلل المائي (مثال، كما في الشكل ٨,٥). ويوجد بروتين AmpD كذلك في السيتوبلازم، وهو إنزيم أميديز (amidas enzyme)، يفلق GlcNAc-anhydroMurNAc tripeptide. وهكذا فهو يسهم عند المستوى القاعدي إلى الدائرة المنظمة السالبة، ويجعل تركيز الببتيد الثلاثي ثنائي السكري منخفض وجين *ampC* بعيداً (جاكوبس وآخرون Jacobs *et al.*, 1997). وعندما يكون توريد إشارة الببتيد الثلاثي ثنائي السكريل عند مستويات عالية بسبب تفريق تجميع ببتيدالببتيدوغليكان المُحرِض – بالمضاد الحيوي، وافتراضياً فإن الكمية في السيتوبلازم تربك سعة AmpD وتفلت لترتبط مع AmpR.



الشكل (٨,١٠). مسارالإشارة للببتيد الثلاثي أنهيدروميورواميل (The anhydromuramyl tripeptide) لتحريض التعبير عن *ampC* في الإشريكية القولونية، الانتقال إلى السيتوبلازم بواسطة AmpG والتربيط مع AmpR لتخليص الكبت الانتساخي لـ *AmpC*، وإفراز AmpC إلى داخل الجبلة.

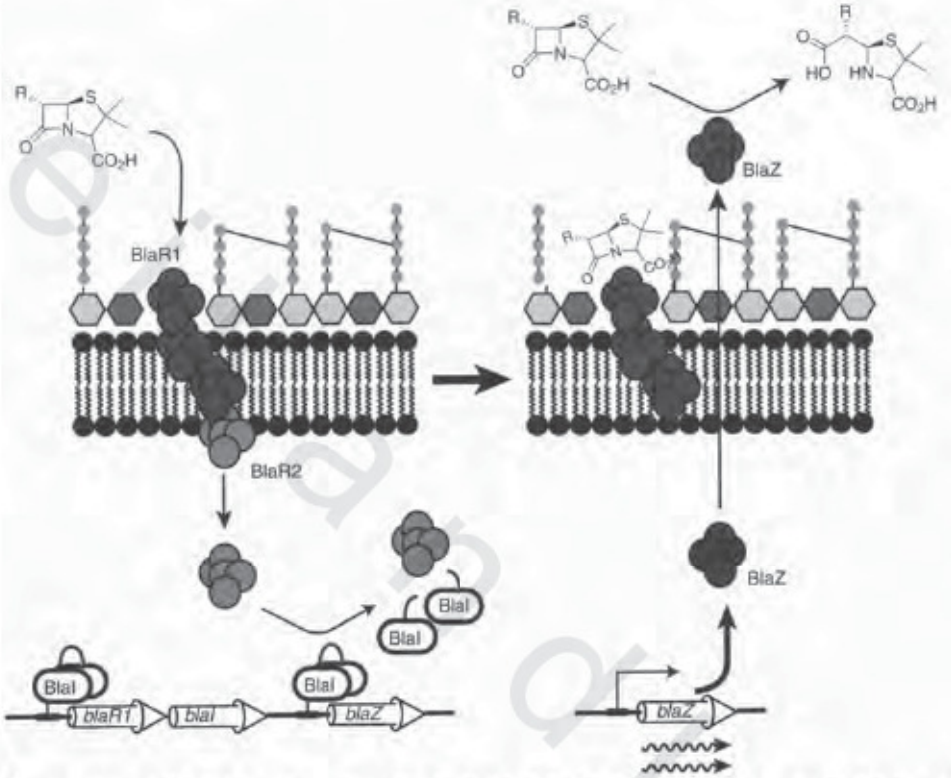
المكورة العنقودية الذهبية

لقد لوحظت في المكورة العنقودية الذهبية طريقتان للمقاومة السريرية ذات العلاقة. الأولى؛ بسبب إظهار بيتالاكتاماز BlaZ المرمَز بالكروموسوم، صنف A بيتالاكتاماز، الذي تم شرحه لاحقاً، والثاني هو الإظهار، في المكورة العنقودية المقاومة للمثسيلين (MRSA)، لـ PBP2A – غير حساس – للبنسيلّين جديد مرمَز بواسطة جين *mecA*، كما سيتم شرحه في الفصل العاشر. إن إظهار فعاليّة BlaZ بيتالاكتاماز محرض، والإظهار معطل في غياب البنسيلّينز والكيفالوسبورينات في البيئة الدقيقة وتَشغُل عند وصولهم إلى خارج الخلية. إن وظائف الاستشعار، التحول العبري (transduction) والتفعيل الانتساخي يتم توفيرها بواسطة اثنين من البروتينات المُرمَزة بواسطة جينات *blaR1* و*blaI* التي توجد فقط ضد تيار الجين *blaZ* (الشكل ٨,١١). وجميع الجينات الثلاث هي تنظم سلباً في حالة السكون بواسطة بروتين *BlaI*، وهو بروتين 14-kDa الذي يصبح ثنائي الجزء (dimerizes) ويرتبط مع مواقع محرضة (promoter regions) لكبح الانتساخ.

وعندما تصل مضادّات البيتالاكتام الحيوي إلى الوجه الخارجي للغشاء السيتوبلازمي حيث تطمر بضع نسخ من بروتين BlaR1 عبر البروتين، يكشف المضاد الحيوي وتحول الإشارة عبرياً. إن حقل إكسو (exo domain) لـ 66- kDa BlaR1 هو حقل PBP والإشارة الأولية تكون من خلال الأسلة التساهمية (covalent acylation) بواسطة البيتالاكتام، كما لأي حقل PBP (الشكل ٨,١١). إن تكوين وسيط إنزيم البنسيلويل التساهمي هذا في حقل إكسو (exo) هو مستشعر (ربما بواسطة تغيير التركيب في حقل PBP هذا) والإحتلال (الإشغال) المتحول خلال حقل عبر الغشاء وقرائته بواسطة حقل 30-kDa الداخلي لـ BlaR1 . يعدُّ الحقل الخارجي من نوع –PBP لـ BlaR هو الأكثر ذا العلاقة لصنف D بيتالاكتامازات (ماسوف ومباشري Massova and Mobashery, 1998)، ومتطابق مع نشوء (تَطوُّر) حقل الربط/ الاستشعار هذا من الصنف D بيتالاكتامازات (جويسين Ghuysen, 1991). وهذا من شأنه أن يكون عكس تَطوُّر PBPs إلى بيتالاكتامازات، واقترح في القسم السابق من هذا الفصل، مما يوحي بأن تَطوُّر البروتين قد ذهب في كلا الاتجاهين.

لدى حقل 30-kDa في داخل السيتوبلازم لـBlaR1 لديه علامات شكل طليعة إنزيم (proenzyme form) البروتييز – المعتمد على – الزنك (zin-dependent protease). وعندما يتشكل وسيط بنسيلويل — أو – سير (penicilloyl-*O*-Ser) على الحقل خارج السيتوبلازم، الحقل 30-kDa في الداخل يخضع إلى انفلاق ذاتي بين فضالة (بقايا) ٢٩٣ و٢٩٤ لتحرير الجزء السيتوبلازمي BlaR 30kDa. توجد سوابق الانفلاق الذاتي لأشكال طليعة إنزيمات بروتييز الزنك وربما تكون متواسطة بواسطة تأثير التكتلات (التجمعات) في حقل بنسيلويل BlaR1 إكسو (ماكيني وآخرون McKinney *et al.*, 2001، زانج وآخرون Zhang *et al.*,2001). وبشكل استثنائي، تُولد حادثة واحدة للتحول العبري للإشارة الحالة للبروتين (proteolytic signal transduction) الثانية مثلما يحرض BlaR1 التحلل البروتيني لـ 14-

kDa BlaI إلى الجزء 11-kDa الذي من الواضح أنه فقد القدرة ليكون ثنائي الجزء (dimerize) ويرتبط بمحرض دنا. والنتيجة التخلص من كبح إنتساخ BlaZ وBlaR1، وتؤدي نتيجة التنظيم العالي الانتساخي إلى إنتاج BlaZ بيتالاكتاماز، نقل BlaZ إلى خارج الخلية، التحلل المائي لمضاد بيتالاكتام الحيوي، ومقاومة اللاكتام.

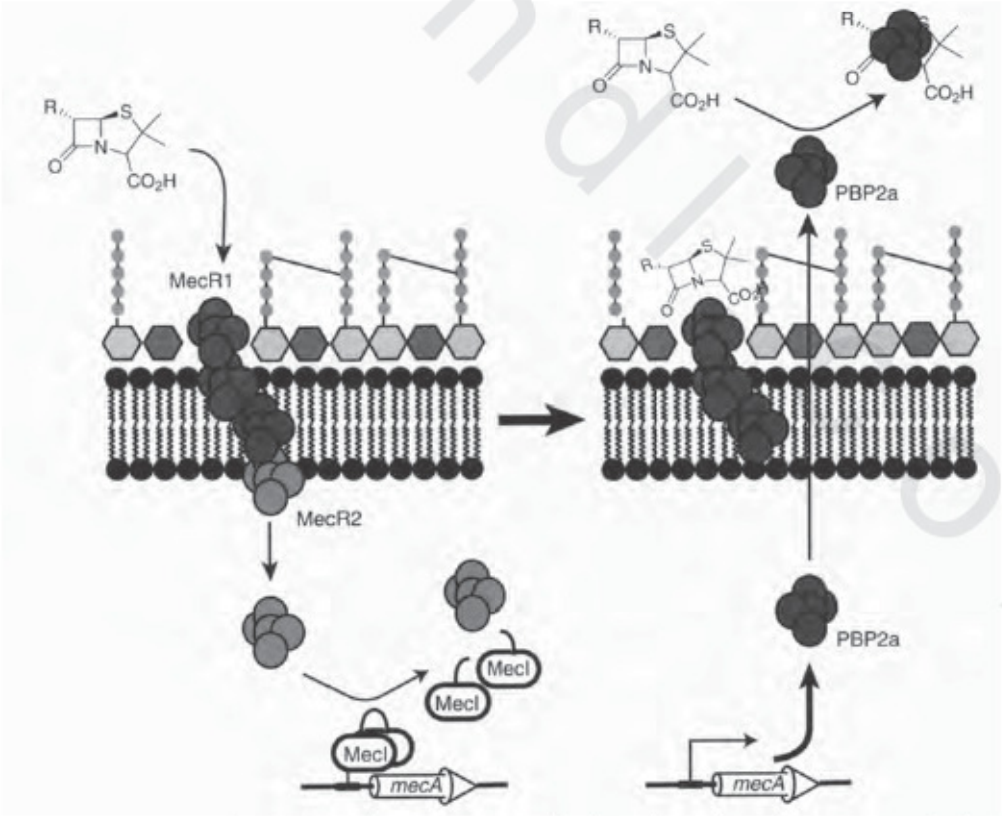


الشكل (٨,١١). المشغل الوراثي *blaR-blaI-blaZ* للمكورة العنقودية الذهبية ومسار إرتشاح الإشارة للتعبير عن BlaZ لكتاميز في المكورة العنقودية الذهبية: بترادف التحلل للبروتيني لـ BlaR1 وBlaI لتفعيل الجين.

تعدُّ BlaR1-BlaI من نظام ذا المكونات – الاثنين ومنطقياً مشابه لاثنين من مكونات – أنظمة الاستشعار / الاستجابة التنظيمية التي استخدمت أكثر من مرة عن طريق البكتيريا لتنظيم الجين في إنتاج المضادا الحيوي (CarR, CarI) ومقاومة المضاد الحيوي (VanS ,VanR) (انظر الفصل الخامس عشر)، ولكن يستعمل هؤلاء نقل مجموعة فسفوريل (phosphoryl group) (من ATP إلى مستشعر-His إلى منظم –Asp) كمعلومات كيميائية لتبديل الحالة من "إيقاف" (off) إلى "تشغيل" (on). وفي BlaR-BlaI نظام – المكونات الإثنين التبديل هو حال للبروتين (proteolytic). وبما أن التحلل البروتيني يعدُّ تبديل لا رجعة فيه بيولوجياً، بينما تعدُّ تحويلات الفوسفوريل تبديلات بيولوجية عكوسة (بفعل الفوسفتاز phosphatase action)، فيجب أن تتجدد بروتينات BlaR و BlaI بشكل مستمر، مما يفسر التنظيم ذاتي

التولد (autogenous regulation) لها. وهذا النظام لا يقتصر على المكورة العنقودية الذهبية ؛ لأنه قد تم الكشف عن مماثلات BlaR1 في سلالات العصوانية الهشة التي تنتج كذلك بيتالاكتاماز مُحرّض.

وعلاوة على ذلك ، فقد تبين أن تنظيم عرض جين *mecA* وإنتاج PBP2A المرمز الذي يجعل مقاومة المثسيلين في MRSA تكون منظمة بالكامل بالمنطق الموازي، بواسطة النظام ذا المكونات– الاثنين *mecR1* و *mecI*، مرة أخرى مع تجمع (تكتل) الجينات بواسطة *mecA* للتنظيم المنسق (الشكل ٨,١٢). وكذلك يعتبر حقل إكسو التابع لـ MecR1 عبارة عن PBP، وهكذا فالأسر التساهمي للكتام يكون ببدأ حقل إنزيم لاكتامويل- PBP - أسيل (lactamoyl-PBP acyl enzyme domain) الإشارة عبر الغشاء بنفس توالي التحلل البروتني في *cis* للحقل السيتوبلازمي لـ MecR1 ومن ثم التحلل ترانس *trans* ليفلق MecI السليم ويخفف كبح جين *mecA*. إن غرس منتج جين *mecA* , PBP2A في داخل الغشاء يسمح بالربط – التبادلي للببتيدوغليكان الذي يعدُّ غير حساس للمثسيلين وغيره من مضادّات بيتالاكتام الحيوية. وقد يكون منطق التحلل البروتيني ذا المكونات – الاثنين هذا أكثر عمومية. وعلى أي حال فهو يطرح الاحتمال بأن مسارات الإشارة هذه للطريقين لتحريض مقاومة اللاكتام في المكورة العنقودية الذهبية يجب أن تكون أهداف جديدة لمسح وتصميم المضادّات الحيوية.



الشكل (٨,١٢). منطق نقل آشارة للتعبير المنظم لـــ MecA PBP2A ليحدث مقاومة للمثيسيلين في MRSA.

المكورة الرئوية

يؤدي البنسيلّين الخارجي في المكورة الرئوية إلى الزيادة في نشاط التحلل الذاتي للتحلل المائي للببتيدببتيدوغليكان والتعرض اللاّحق للتحلل الأوزموزي (osmotic lysis) والموت . فقد أظهر التحليل الجيني (نوفاك وآخرون Novak *et al.*, 2000) منطق مسار نقل الإشارة مميز عن ذالك الذي يستعمل بواسطة الإشريكية القولونية والمكورة العنقودية الذهبية، تم شرحه سابقاً.

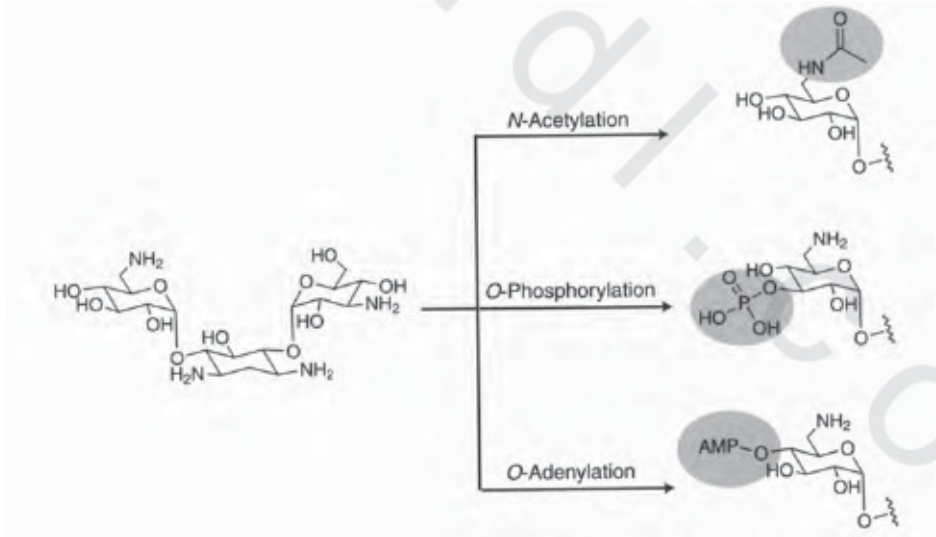
وكما سيتم شرحه في مكان آخر من هذا الكتاب (الفصل الخامس عشر)، تستعمل البكتيريا نوعان من أنظمة الإشارة لتوصل المعلومات من البيئة الخارجية عبر الغشاء إلى السيتوبلازم للتنظيم الجينى الانتقائي. أحدهما هو نظام – مكون البروتينات الاثنين، بواسطة إشارات عبر الغشاء لحقل بروتين هيستدين كيناز ومنظم الاستجابة الذي يعمل كعنصر انتساخ. ونظام الإشارة الثاني يعتمد على كثافة المزرعة البكتيرية ويستعمل جزيئات تفرز بواسطة خلية واحدة التي تنتشر نحو الجيران، ترتبط مع مستقبل/ وعنصر انتساخ، وتنشط الجينات مع التيار. وتعرف هذه بمستشعرات النصاب (quorum sensors) وفي البكتيريا الموجبة – لغرام تعمد؛ لأن تكون ببتيدات صغيرة. كما أن نظام المكونات – الاثنين (VncR-VncS) مطلوب لقتل البكتيريا بواسطة كل من الفانكوميسين والبنسيلّين (نوفاك وآخرون Novak, 2000)، ويفترض أن تحفز تنظيم الجين للإنزيم الذاتي الحال LytA، بواسطة تعطيل استشعار VncS في تركيب ببتيد الببتيدوغليكان ونزع فسفرة VncR (dephosphorylating) ليريح إعادة انتساخ الجين. وفقط عند منبع جينات *vncR* و *vncS* يوجد هيكل قراءة مفتوح يرمز ٢٧– فضالة ببتيد، Pep^{27}، وثلاثة – بروتين ATP –الكاسيت الرابط – نوع مضخة ATPase (three-protein ATP-binding cassette-type ATPase pump) لتضخ Pep^{27} خارجاً لتعمل كمستشعر للنصاب وببتيد محرض للموت على خلايا المكورة الرئوية المجاورة. والتفاعل بين Pep^{27} والمضادّات الحيوية (مثال، كروابط لـ? VncS عبر الغشاء) ليشغل التتالي الحال غير المفهوم ولكن قد يكون نقطة تقاطع مثمرة لأهداف مضادّات حيوية جديدة في المكورة الرئوية.

الإنزيمات المُعدلة– للأمينوغليكوسيد

لا يوجد لمضادّات الأمينوغليكوسيد (أمينوسيكليتول aminocyclitol) الحيوية رأس حرب كيميائي مقارنة بالبيتالاكتام الذي يعتبر قلب الوحدة المؤسلة المطمورة في جميع أنواع البنسيلّين، الكيفالوسبورينات، الكاربابينيمات والمونوبكتامات. وبالعكس فقد لاحظنا أن الأمينوغليكوسيدات تقرأ مواقع معينة من 16S rRNA في الوحدة الفرعية 30S بواسطة شبكة ربط الهيدروجين (انظر الفصل الرابع) خلال مختلف بدائل الهيدروكسيل والأمينو على حلقة سيكليتول لتتيح موقع إرساء عالي – الانجذاب لهذا الصنف من المضادّات الحيوية. وإستراتيجية التدمير الإنزيمية للبكتيريا المقاومة – للأمينوغليكوسيد هي لتعدل تساهمياً تلك المجموعات OH and NH_2 التي تتيح

– النوعية في الأمينوغليكوسيدات وبذلك تعترض مع التمييز بواسطة 16S rRNA. وفي بعض البكتيريا مثال السالبة – لغرام الزائفة الزنجارية الْمُمْرِضة، وبإمكان الغشاء الخارجي أن يكون كذلك حاجز أولي مهم لإدخال الأمينوغليكوسيدات، بواسطة كل من التقليل من عدد قنوات المسامات في الغشاء الخارجي وكذلك بواسطة التعديلات في النشرة الخارجية لعديد السكريد الشحمي (ليفرمور Livermore, 2000، بول Poole, 2001).

توجد ثلاثة أنواع من التعديلات الإنزيمية لمجموعات OH and NH_2 على الأمينوغليكوسيدات وهي محددات شائعة للمقاومة وتمثل متغايرات لإنزيمات النقل للمجموعة الأليفة للكهرباء الطبيعية التي تساهم في الإستقلاب الأولي (للمراجعة انظر كوترا وآخرون Kotra *et al.*, 2000، ورايت Wright, 1999). وATP هو أحد هذه المتفاعلات، ويستعمل في كل من نقل أو – فوسفوريل (*O*-phosphoryl)، بواسطة مهاجمة مجموعة γ-PO_3 بـOH أو NH_2 أليف النواة على α-P التابابع لـ ATP لنقل شطر AMP (الشكل ٨,١٣). والثاني هو مفعل ديناميكيا وحرارياً ولكنه مادة مشاركة وثابتة حركياً في المجموعة أليفة الكهرباء للنقل الإنزيمي وهي acetyl-CoA ومجموعة NH_2 للأمينوغليكوسيدز التي تهاجم شطر أسيتيل ثيوإستر لتنقل مجموعة الأسيتيل. وتعدُّ جميع التفاعلات الثلاث– الفسفرة (phosphorylation) –الأدنلة (adenylation) والتأستل (acetylation) – غير عكوسة، ومدفوعة بواسطة 7 kcal/ mol الذي تم إطلاقه ويتوافق مع K_{eq} of 10^5 (والش Walsh, 1979) لصالح تعديل الأمينوغليكوسيد.



الشكل (٨,١٣). ثلاث طرق إنزيمية لتعطيل نشاط الامينوغليكوسيد: التأستل بواسطة أسيتيل –CoA، الفسفرة بواسطة ATP، والدنلة بواسطة ATP.

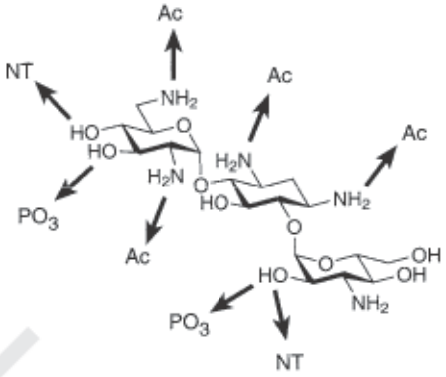
من المحتمل أن الإنزيمات –المعطلة لنشاط المضاد الحيوي سوف تنشأ من أدينيل ترانسفيرازات (نواقل الأدينيل) (adenyltransferases)، فوسفوترانسفيرازات (نواقل الفوسفور) (phosphotransferases)، *وإن* –أسيتيلترانسفيرازات

(نواقل الأسيتيل) (*N*-acetyltransferases) التي تم إطلاقها من عمليات البناء الحيوي الطبيعية في الخلايا البكتيريا. وعلى سبيل المثال، فتحديد تركيب أشعة – إكس لـ APH(3') IIIa phosphotransferase من المكورات المعوية قد أظهر تشابع عالي لسيرين سويات النواة/ ثريونين بروتين كينازات (euokaryotic serine / threonine protein kinases)، بما يتفق مع النشوء من تمييز ركيزة البروتين–OH للهجوم على γ-PO_3 من ATP لتمييز هيكل أمينوسيكليتول–OH (هون وآخرون Hon *et al.*, 1997) تحت الضغط الاتقائي للبقاء. ونظراً لتعدد مجموعات OH and NH_2 في الأجيال المتعاقبة للأمينوغليكوسيدات لرؤية الاستعمال السريري، فإنه ليس من المستغرب بأن تنشأ الإنزيمات المعدلة للنوعية الموضعية المتميزة للتأستل، الفسفرة والأدنلة. ويظهر الشكل (٨,١٤) النمط النوعي للتعديل التساهمي لهيكل أمينوغليكوسيد ثلاثي الحلقة. لقد تم وصف أكثر من ٣٠ من الأشكال المشابهة لهذه الأنواع الثلاثة من الإنزيمات في البكتيريا المقاومة – للأمينوغليكوسيد، وتشمل بروتين الاندماج (fusion protein) مع اثنين من الحقول المحفزة، حقل أدينيلترانسفيرازات وفوسفوتراسفيرازات (كوترا وآخرون Kotra *et al.*, 2000). يُصنف إن– أسيتيلترانسفيرازات حسب انتقائيته الموضعية لتأستل –N_1,N_2,N_3- or N_6' مع N_6' العائلة الفرعية الأكثر شيوعاً من امينوغليكوسيد أسيتيلترانسفيرازات، التي تظهر نوعية واسعة نحو سقالات الأمينوغليكوسيد. كما أن وجود جينات الإنزيمات المعدلة على البلازميدات القابلة للانتقال يساعد على انتشار محددات المقاومة وربما يسرُع نشوء النشاط المحفز نحو الأمينوغليكوسيدات التي أدخلت حديثاً.

وقد تم وصف بعض الإستراتيجيات التي تخرب التعديل الإنزيمي بواسطة مباشري وزملائه (Mobashery *et al*)، الذين يدرسون أحد أمينوغليكوسيد *O*- ترانسفيرازات. وعلى سبيل المثال يعاد ترتيب شبيه الأمينوغليكوسيد بمجرد أن يفسفر إنزيمياً إلى الأنواع الفعالة التي تعدل (تحول) تساهمياً *O*- phosphotransferase وتبعدها عن العمل (روستامدجي وآخرون Roestamadji *et al.*, 1995).

تشبه عائلة أسيتيل ترانسفيرازات المعطلة لفعاليّة فيرجينياميسين/ستربتوجرامين (virigniamycin / streptogramin-inactivating acetyltransferases) أسيتيلترانسفيرازات المعطل لفعاليّة أمينوغليكوسيد الملقبة Vats (لفيرجينياميسين أسيتيلترانسفيرازات). ولقد لاحظنا في الفصل الرابع أن سينرسيد (Synercid) هو توليفة من ستربتوجرامين A ومكونات ستربتوجرامين B وأن مثيلة (methylation) 23S rRNA المتواسطة بـ Erm تؤدي إلى مقاومة ميكروليد–لينكوسميد–ستربتوجرامين B، معطلة ربط مركب الستربتوجرامين B. وبالإمكان إزالة مركب ستريتوجرامين A بواسطة التدفق (بواسطة الآليات التي شرحت في الفصل التاسع) أو بواسطة التأستل–*O* على مجموعة هيدروكسيل حرة ومفردة (انظر الشكل ٤,٩ لتركيب دالفوبرستين dalfopristin). ولقد تم حل تركيب أشعة–إكس لـ VatD acetyltransferase

من المكورة المعوية البرازية (سوجانتينو ورروديريك Sugantino and Roderick, 2002)، مما قدم نظرة ثاقبة للتصميم الهندسي لهذا الدواء– المعطل لنشاط الإنزيم لمكونات الستربتوجرامين A.



الشكل (٨,١٤). أنماط التعديل الإنزيمي الإنتقائي الموضعي وتعطيل نشاط مضادّات الامينوغليكوسيد الحيوية. NT: نقل النيوكليوتيديل، PO_3: نقل الفوسفوريل، Ac: نقل الأسيتيل.

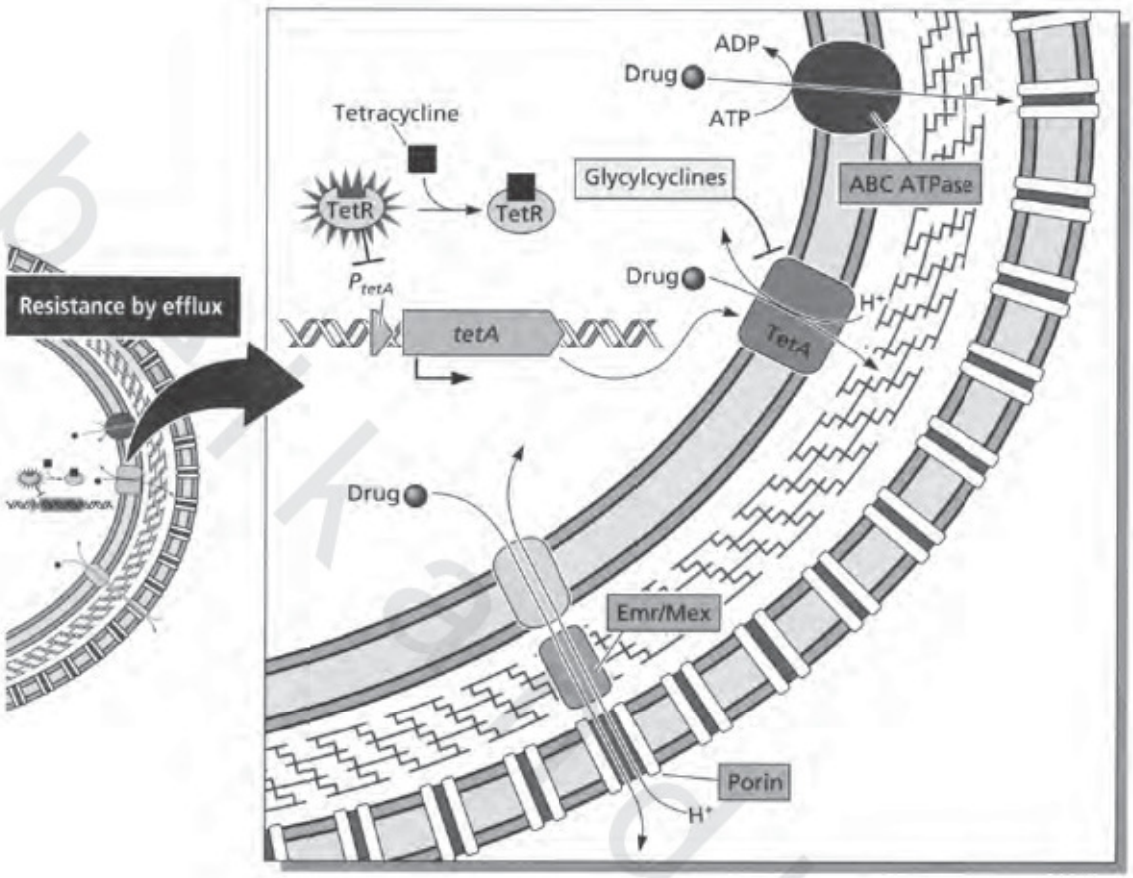
تعطيل النشاط الإنزيمي للفوسفوميسين (Fosfomycin)

يعدُّ الفوسفوميسين شبيه لمضادّات بيتالاكتام الحيوية بمعنى أن لها كذلك رأس حرب كيميائي فعال، إيبوكسيد (epoxide) ثلاثي – الحلقة، مطمور في تركيبه الكيميائي البسيط (الشكل ٨,١٥). وتهاجم الإيبوكسيد بواسطة سلسلة الحمض الأميني الجانبية الفعالة، وفي هذه الحالة هي –SH من Ser في PBPs، في هدفها الإنزيم MurA عند بداية تجميع الببتيدوغليكان (انظر الفصل الثالث). يترك الموقع النشط لـ MurA المشتق تساهمياً الإنزيم عاجزاً عن بدء تكوين إينول بيروفيل إيثر (enolpyruvyl ether) في تحويل UDP-GlcNAc إلى UDP-MurNAc. وكذلك يشبه تدمير حلقة البيتالاكتام بواسطة الأسر الإنزيمي للبيتالكتام النشط بواسطة أليف النواة البديل، الماء في حالة البيتالاكتامازات، يُحفز تدمير الفوسفوميسين بواسطة الإنزيمات التي تأسر الإيبوكسيد مع المادة المشاركة أليفة النواة القابلة للذوبان، وفي هذه حالة أنيون ثيوليت النشط (thiolate anion) للغلوتاثيون ثلاثي الببتيد (γ-Glu-Cys-Gly). والفوسفوميسين غلوتاثيون إس– ترانسفيراز (fosfomycin glutathione S-transferase) (FosA) هو مانجنيز إنزيم ممعدن (manganese metalloenzyme) (بيرنات وآخرون Bernat *et al.*, 1997) (الشكل ٨,١٥) الذي يولد فتح– الحلقة 2-OH ثيوإيثر المقربة حيث يعطل نشاط رأس حرب الإيبوكسيد بمجرد أن يضاف جلوتاثيون ثيول (glutathione thiol) إلى C_1. والغلوتاثيون هو الثيول الخلوي قليل– الوزن الجزيئ الأكثر وفرة في معظم الخلايا البكتيرية وسويات النواة، ويصل إلى مستويات ١ – ١٠ mM. ويستعمل في لحماية ونزع سمية المجموعات الكيميائية النشطة، كما في هذا المثال، بواسطة التنشطية العالية لثيوليتها الأليف النواتي. ولإنزيم FosA تشابه مع كل غليوكساليز (glyoxalase)

كاتيكول (catechol) المعتمد– على المعدن – ليفلق دي أوكسيجيناز (dioxygenase) (بيرنات وآخرون Bernat *et al.*, 1997)، تطابقاً مع النشوء من الإنزيمات المحلية للأيض الأولي والثانوي.

الشكل (٨,١٥). التعطيل الإنزيمي لنشاط فوسفوميسين بواسطة فتح حلقة إيبوكسيد مع غلوتاثيون.

obeikandl.com



المقاومة بواسطة فعل H^+ و ATP المقترن بمضخات التدفق في الأغشية البكتيرية.