

## تكافل الإنسان - الميكروب

### THE HUMAN-MICROBE SYMBIOSIS

أثناء تواجده في الرحم، يقطن جنين الإنسان بيئة خالية تماماً من الميكروبات (عقيمة)، ومن النظرة الميكروبيولوجية فإن العامل الأكثر أهمية المقترن بولادة الإنسان هو تحول بيئته من بيئة خالية تماماً من الميكروبات إلى بيئة تسودها الميكروبات. وبالولادة فإن الوليد يتعرض - للمرة الأولى - لنطاق واسع من الميكروبات من مصادر متنوعة. والمصادر الرئيسية للميكروبات التي تستعمر الوليد هي:

- المهبل، القناة الهضمية، الجلد، تجويف الفم، والقناة التنفسية للأم.
- الجلد، القناة التنفسية، وتجويف الفم للأشخاص الآخرين المتواجدين أثناء الولادة.
- الأدوات والأجهزة المستخدمة أثناء الولادة.
- البيئة المحيطة.

خلال وقت قصير من الولادة يمكن رصد ميكروبات على أسطح الطفل المعرضة للبيئة الخارجية، أي العيون، الجلد، القناة التنفسية، الجهاز البولي التناسلي، القناة الهضمية والتجويف الفمي. مع ذلك فمن المدهش أنه رغم تعرض الوليد لمثل هذه الميكروبات المتنوعة فإن عدداً محدوداً فقط من الأنواع يكون له القدرة على استعمار مختلف مواقع الجسم بشكل دائم، ويأوي كل موقع مجتمع ميكروبي مكون من أنواع معينة محددة، أي أن الميكروب يبدي "انحياز نسيجي". والكائنات الحية المتواجدة في موقع معين تشكل ما يعرف بالميكروبيوتا المستوطنة (أو "الطبيعية") لهذا الموقع، والتي تسمى كذلك بـ "أنواع أصلية" (بمعنى أنها أصلية للمكان الذي وجدت فيه). يشمل المصطلح "الميكروبيوتا المستوطنة" جميع البكتيريا، أركي، الفيروسات، الفطريات والأوليات المتواجدة على أسطح الجسم. مع ذلك، فإن معظم الدراسات قد قامت بدراسة المكون البكتيري فقط في الميكروبيوتا، ولا يعرف سوى القليل عن هوية الأنواع الأخرى من الميكروبات الموجودة في أي من مواقع الجسم. لذلك فإن هذا الكتاب سوف يركز على الأعضاء البكتيرية في الميكروبيوتا الطبيعية، رغم ذلك فسوف يشمل كذلك تلك الفطريات (مثل *Candida albicans* و *Malassezia spp*) التي تكون مستوطنة كذلك للبشر.

إن استعمار الميكروبات للطفل الوليد لحظة الولادة يمثل بداية علاقة تكافل الإنسان-الميكروب والتي تمتد مدى الحياة. والتكافل يعني "العيش معاً"، وهذا المصطلح يمكن تطبيقه لأي مصاحبة أو اقتران بين اثنين أو أكثر من الكائنات الحية. وعندما تختلف الأنواع المشاركة في التكافل من حيث الحجم فإن العضو الأكبر يسمى العائل بينما يسمى العضو الأصغر "المتكافل". وهناك ثلاثة أنواع على الأقل من العلاقات التكافلية يتم تمييزها: (١) تبادل المنافع - عندما ينتفع كل من العضوين من هذه العلاقة، (٢) مطاعمة - عندما ينتفع عضو ولا يتأثر العضو الآخر، و(٣) التطفل - عندما يعاني عضو من الآخر. وأثناء سير حياته أو حياتها فإن الإنسان سوف يتعرض للأنواع الثلاثة من العلاقات التكافلية مع مختلف أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة في جسمه.

إحدى الخصائص العديدة الواضحة لميكروبيوتا - موقع معين في الجسم - هي أن تركيبها في البشر في جميع أنحاء العالم يكون - بصورة عامة - متشابه بالرغم من الاختلافات الهائلة في المناخ الذي يتعرضون له، والغذاء الذي يستهلكونه، والملابس التي يرتدونها، تدابير النظافة التي يمارسونها، وطريقة الحياة التي يتبنونها. هذا يعني أن الجنس البشري قد تطور مقترناً ببعض أشكال الحياة الميكروبية المتواجدة على الكرة الأرضية ليكون علاقة تكافل والتي تكون عادة ذات منفعة متبادلة للأطراف المشاركة فيها.

### (١, ١) نظرة عامة عن طبيعة وتوزيع المجتمعات الميكروبية المستوطنة للبشر

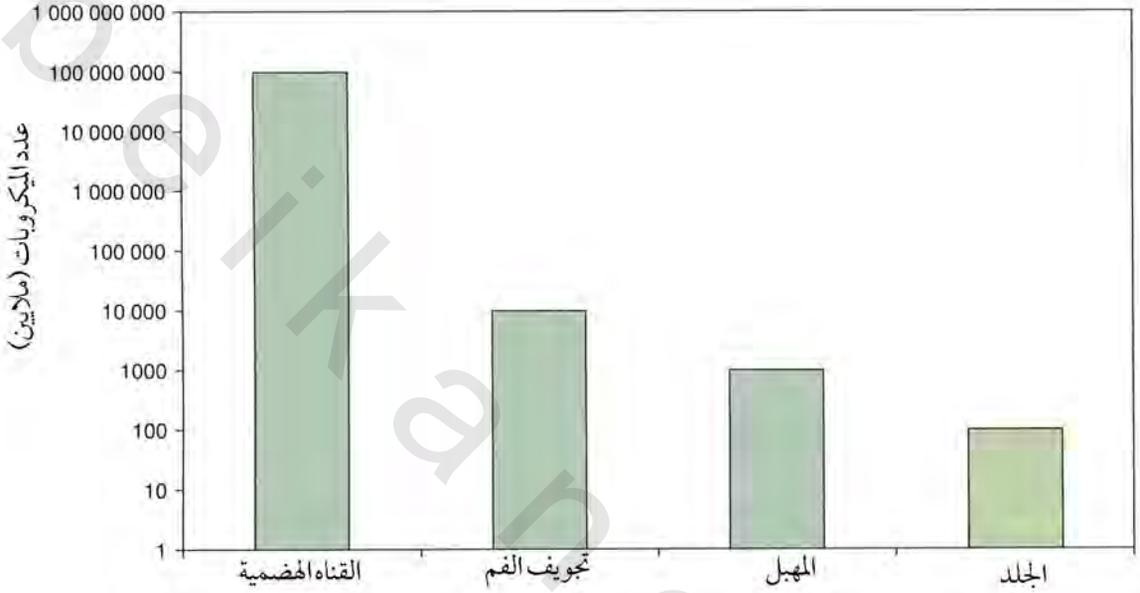
#### Overview of the Nature and Distribution of Microbial Communities Inhabiting Humans

تتكون الميكروبيوتا المستوطنة للبشر من عدد كبير من المجتمعات الميكروبية، كل منها ذو تركيب مميز لموقع معين في الجسم، ففي الإنسان البالغ، عدد الميكروبات يزيد عن عدد الخلايا الحيوانية بعشرة أضعاف حيث إن متوسط عدد خلايا الفرد هو  $10^{13}$  خلية حيوانية، بينما متوسط عدد الخلايا الميكروبية هو  $10^{14}$ . ومع بعض الاستثناءات (العين، المعدة، الإثني عشر، وبعض مناطق الجلد)، فإن المجتمعات تتكون من عدد كبير من الميكروبات وتشكيلة كبيرة من الأنواع. ومعظم الميكروبات التي تستوطن الإنسان تتواجد في القناة الهضمية حيث إن الأعداد النسبية في القناة المعوية، والتجويف الفموي، والمهبل، وعلى الجلد تكون حوالي  $10^6 : 10^9 : 10^{10}$  على الترتيب (الشكل رقم ١, ١).

على الرغم من أن معظم أسطح الجسم المعرضة للبيئة الخارجية تكون مستعمرة بالميكروبات، فإن بعضها يكون غير مستعمر (مثل الرئتين)، كذلك فإن كثافة الميكروبات في المواقع المستعمرة تختلف بشكل واضح من موقع لآخر (الشكل رقم ١, ٢). ومن ثم فإن القولون، تجويف الفم، والمهبل تكون مأهولة بالميكروبات بكثافة، في حين يتواجد عدد أقل بكثير من الميكروبات على العيون، في المعدة، في الإثني عشر، والإحليل. وحتى داخل نفس العضو، فإن كثافة الاستعمار - فضلاً عن تركيب المجتمع - يمكن أن تختلف بشكل هائل من موقع لآخر. على سبيل المثال، ففي القناة التنفسية فإن المناطق العليا تكون مستعمرة بكثافة أكبر من المناطق السفلى - في الحقيقة فإن القصبات والسرخ تكون عادةً خالية من الميكروبات تماماً.

إن مدى تعقيد المجتمع الميكروبي يعتمد على الموقع الدقيق في الجسم - حيث إن الكائنات الحية التي لها القدرة

على النمو في الظروف السائدة في الموقع هي فقط التي يمكنها البقاء على قيد الحياة والنمو هناك. وعدد الأنواع الموجودة في المجتمع الميكروبي قد يتراوح بين واحد أو اثنين في المواقع التي تكون البيئة فيها غير مهيأة للنمو الميكروبي أو بقاءه حياً (مثل ملتحمة العين)، إلى أكثر من ٨٠٠ نوع في مواقع مثل القولون. والذي يوفر بيئة استشفائية للميكروب حيث يحتوي على مجموعة واسعة التنوع من المغذيات.



الشكل رقم (١, ١). الأنماط المختلفة للاستعمار الميكروبي التي قد تتواجد في أنسجة العائل. قد يؤدي التصاق الخلايا الفردية بنسيج العائل إلى إنتاج مستعمرات دقيقة أو أغشية حيوية. وقد تقيم البكتيريا كذلك في الخلايا الطلائية.

### (١, ١) الصعوبات المواجهة في تحديد تركيب المجتمع الميكروبي

#### Difficulties Encountered in Determining the Composition of a Microbial Community

إن مشكلة رئيسة في محاولة تحديد الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في جسم الإنسان هي التنوع الكبير للأنواع الموجودة في هذه المجتمعات. وحتى وقت قريب نسبياً، كان استزراع الكائنات الحية المتواجدة هو المنهج الرئيسي المستخدم، وبشكل عام - ما زال ذلك مستمراً. ومع ذلك فإن هذا المنهج القائم على الاستزراع محفوف بالمشكلات (انظر الفقرة ٢, ٤, ١)، أهمهما هو فشلها في رصد تلك الكائنات الحية التي ليس لها القدرة على النمو في ظروف الاستزراع المستخدمة. وهذه الأنواع غير القابلة للاستزراع حتى الآن تمثل نسبة كبيرة من المجتمعات التي تستوطن بعض مواقع الجسم، مثل ما يصل إلى ٨٠٪ من ميكروبيوتا القولون. ولحسن الحظ، فإن عدداً متزايداً من الدراسات تستخدم الآن طرقاً غير معتمدة على الاستزراع للتعريف، وقد أضافت هذه الدراسات الكثير لمعرفتنا (ولكن ليس بالضرورة لفهمنا) عن تركيب المجتمعات الميكروبية التي تستوطن البشر (الفقرة ٣, ٤, ١). إلا أن معظم هذه الدراسات قد أجريت فقط على عينات من القناة الهضمية - بشكل رئيس من تجويف الفم والقولون.



الشكل رقم (٢، ١). التوزيع العام للميكروبات في مختلف المواقع على الجسم البشري وداخله.

- وبالإضافة للصعوبات الفنية لتحليل المجتمعات المعقدة، فهناك عدد من المشاكل الأخرى الملازمة لمحاولة تحديد الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في الجسم:
- مشكلات فنية ترجع إلى تعقيد المجتمع الميكروبي.
  - طبيعة العمل الشاقة لمثل هذه الدراسات، وبشكل عام فإن عدداً محدوداً من العينات يمكن معالجتها - يجد ذلك من الدقة الإحصائية للنتائج التي يتم الحصول عليها.
  - صعوبات في الحصول على عينات مناسبة غير ملوثة من العديد من مواقع الجسم.
  - الاختلافات بين الأفراد والمتعلقة بعوامل مثل الطراز الوراثي، والسن، والجنس، والتغذية، وتدابير النظافة، والحالة الصحية، ونوع الملابس، والمكان، والمناخ السائد.
  - صعوبات في مقارنة النتائج التي يتم الحصول عليها باستخدام منهجيات مختلفة.
  - التغيرات في التسمية الميكروبية - يجعل من الصعب المقارنة بالدراسات السابقة.
- وفي المقام الأول، وبغض النظر عن استخدام المنهجيات المعتمدة أو غير المعتمدة على الاستزراع، فإن العمل

على تجهيز عينة واحدة هو عمل كبير، وهذا يجد من عدد العينات التي يمكن معالجتها وبالتالي تقل الدقة الإحصائية للنتائج المحصلة. ثانياً، المقارنة بين الدراسات تكون دائماً صعبة نتيجة اختلاف المنهجيات والطرق المستخدمة. ومن ثم، فإن الدراسات القائمة على الاستزراع التي تجرى في معامل مختلفة نادراً ما تستخدم نفس البيئة، ولذلك سوف تختلف في قدرتها على رصد و/ أو تحديد كائنات حية معينة كميّاً. وفي حالة الدراسات و غير القائمة على الاستزراع فإن تخصيصية و/ أو حساسية البادئات أو المجسات المستخدمة عادةً ما تختلف بين المعامل. ومشكلة أخرى هي أن التغيرات في التسمية والتصنيف الميكروبي غالباً ما تجعل من الصعب مقارنة الدراسات الحالية بتلك التي تم الحصول عليها في السابق - حتى تلك التي يفصلها سنوات قليلة فقط. هناك أيضاً عدد من المشاكل في الحصول على العينات. ومن ثم فإنه بينما يكون من السهل نسبياً الحصول على عينات من مواقع مثل الجلد وتجويف الفم بحيث تكون غير ملوثة بكائنات حية من مواقع مجاورة فإنه لا يكون الحال كذلك في حالة الحصول على عينات من مواقع مثل المعدة والاثني عشر. وسلوك الأفراد أثناء أخذ العينات قد يكون أيضاً إشكالية. وبالتالي فإن عدداً قليلاً من الأفراد سوف يرفض أخذ مسحة لهم من الساعد، ولكن لن يتطوع الكثيرون برضا لأخذ مسحة لهم من الإحليل أو لإدخال أنبوبة أنف- معدية لأخذ عينة من العصارة المعدية.

هناك أيضاً صعوبات مقترنة بانتقاء الأفراد لأخذ عينات منهم، فقد بينت الدراسات أن عدد وأنواع الميكروبات المتواجدة في موقع ما قد تتأثر بالعديد من سمات الأفراد، بما في ذلك: السن، والجنس، والنضج، والتغذية، وممارسة تدابير النظافة الشخصية، ونوع الملابس المستخدمة، ومكان المعيشة، وظروف السكن، والمناخ.... إلخ. ولذلك فإن الدراسة المصممة بشكل جيد يجب عليها أن تقلص من مثل هذه الاختلافات بين المشاركين في الدراسة، ولكن هذا يؤدي إلى صعوبات في إيجاد المتطوعين وكذلك يجد دائماً من عدد الأفراد المطابقين للمعايير المدرجة للدراسة. أخيراً، فإن الباحثين يواجهون بمشكلة البت في اعتبار الكائن الحي الذي يتم رصده في فرد ما، ما إذا كان يجب اعتباره من الميكروبيوتا المستوطنة للموقع موضوع الدراسة أم لا. وقد يكون ذلك صعباً جداً في غياب قواعد صارمة - أحياناً يكون موضوعاً مثيراً للخلاف والجدل. حيث في حالة رصد كائن حي ما في موقع في الجسم بأعداد كبيرة في كل فرد ضمن مجموعة كبيرة (متماثلة في السن، والجنس.... إلخ)، وتم الحصول على نتائج متشابهة في ظروف مختلفة لأخذ العينات، حيث يتدّ فإنه من المعقول اعتبار هذا الكائن الحي عضو من الميكروبيوتا المستوطنة لهذا الموقع من الجسم. مع ذلك، ماذا لو تم عزل كائن حي من ١٠٪ فقط من هؤلاء الأفراد - هل يعد هذا عضو في الميكروبيوتا المستوطنة؟ أو ما هو وضع كائن حي تم عزله من كل الأفراد في مناسبة واحدة، ولكن تم عزله من أفراد قليلة فقط في المناسبات التالية لأخذ العينات التالية؟

ولقد أجريت محاولات للتمييز بين الميكروبات التي تكون "مقيمة" في موقع ما وتلك التي تكون "عابرة". والميكروبات المقيمة في موقع ما يجب أن تكون لها القدرة على النمو والتكاثر تحت الظروف القائمة في هذا الموقع، في حين أن الكائنات الحية التي لا تستطيع ذلك تعتبر عابرة. مع ذلك، فإن تعقيد المجتمعات الميكروبية في مواقع عديدة، ندرة الدراسات على المدى الطويل لمعظم المواقع، والصعوبات المصاحبة لمحاولة تحديد ما إذا كان الكائن حي ينمو بنشاط أو يتكاثر في موقع ما، دائماً ما يجعل مثل هذا التمييز صعب التحقيق.

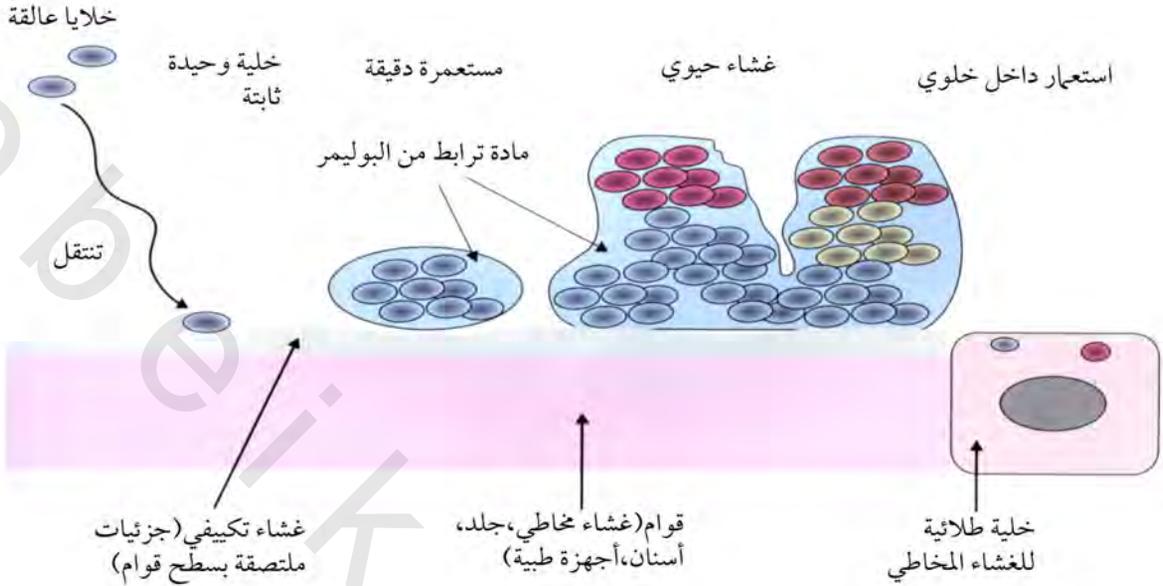
وبمجرد أن يتم تحديد كائن حي كعضو من الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في الجسم، فإنه من الضروري أن نحاول أن نفهم لماذا يتواجد هذا الكائن الحي في ذلك الموقع. وفي معظم الأحوال (باستثناء تجويف المناطق السفلى للقناة الهضمية)، فإن الكائن الحي يلتصق ببعض القوام ضمن الموقع - قد يكون ذلك خلية العائل، المواد خارج الخلية، بعض الجزيئات التي يفرزها العائل، بعض التراكيب التي ينتجها العائل (مثل الأسنان والشعر)، أو ميكروب آخر. ويطلق على ولع أو نزوع كائن حي ما لموقع معين في العائل "انحياز نسيجي". إن وجود مستقبل على نسيج العائل والذي له القدرة على تمييز اللاصق المتمم الموجود على البكتيريوم يعد الآلية المستخدمة الكامنة وراء الانحياز النسيجي. ومع ذلك فهذا وحده لا يمكن أن يفسر وجود كائن حي في موقع، لأنه - فضلاً عن توفير قوام للالتصاق - يجب على الموقع أن يكون قادراً على توفير كل متطلبات النمو للكائن الحي. علاوة على ذلك، يجب على الكائن الحي كذلك أن يكون قادراً على تحمل دفاعات العائل المضادة للميكروبات في ذلك الموقع. إن فهم مثل هذا التفاعل بين العائل والميكروب، يمكن تحصيله فقط بالأخذ في الاعتبار الصفة التشريحية والفيولوجية للموقع - وهما المسؤولان بشكل كبير عن وجود البيئة الفريدة في ذلك الموقع. وكما لاحظ العالم باستير من أكثر من ١٢٠ عاماً "أن الميكروب لا شيء إنها البيئة التي يتواجد فيها، هذا كل شيء". لذلك، فإن المؤلف قد حاول تقديم معلومات عن العوامل البيئية التي تعمل في مواقع الجسم التي تستعمر بالميكروبات. وفي العديد من الحالات - لسوء الحظ - فإن هذه المعلومات غير متاحة - ويرجع ذلك إلى صعوبات في الوصول للموقع أو صعوبات في تحليل الكميات الصغيرة من السائل و/ أو النسيج الذي يمكن الحصول عليه من الموقع.

على الرغم من أن البيئة التي يوفرها العائل هي إحدى أهم العوامل التي تُعْمَلُ أو تُحدَدُ ما إذا كان يمكن لكائن حي أن يستعمر موقعاً معيناً أم لا، فبمجرد أن يحدث الاستعمار فإن البيئة تتبدل نتيجة النشاط الميكروبي. ويؤدي ذلك إلى ظاهرة التعاقب الميكروبي، وعليه فإن الكائنات الحية التي كانت غير قادرة في السابق أن تستعمر الموقع الأصلي، يتوفر لها الآن بيئة مناسبة لنموها وتكاثرها. وهذه العملية جوهرية لفهم تطور المجتمعات الميكروبية في مختلف مواقع الجسم وسيتم الإشارة إليها بشكل متكرر في سياق هذا الكتاب.

## (١, ١, ٢) جوانب تركيبية للمجتمعات الميكروبية Structural Aspects of Microbial Communities

### (١, ١, ٢, ١) المستعمرات الدقيقة Microcolonies

إن التصاق كائن حي بقوام ما يتبعه نمو وتكاثر الكائن الحي - بشرط أن تكون البيئة مناسبة وأن يستطيع الكائن الحي أن يقاوم أنظمة العائل الدفاعية التي تعمل في الموقع. ويؤدي ذلك عادةً إلى تكوين تجمعات ميكروبية ملتصقة تعرف بـ «مستعمرة دقيقة»، والتي تكون عادةً مغلفة داخل بوليمر ميكروبي (الشكل رقم ١, ٣). ولقد تم رصد مستعمرات دقيقة على سطح الجلد وعلى أسطح أغشية مخاطية مثل القناة التنفسية، القناة البولية التناسلية والقناة المعوية (الشكل رقم ١, ٤).

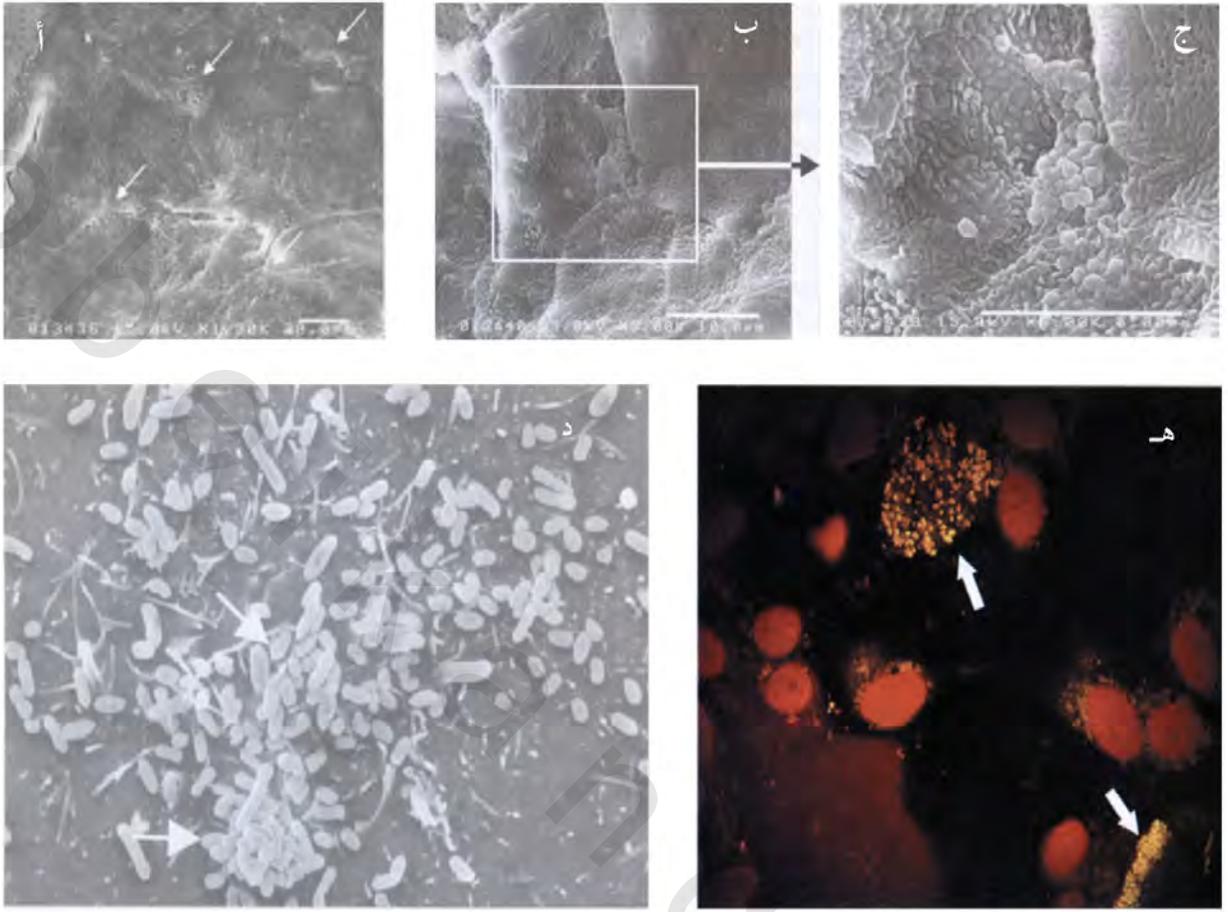


الشكل رقم (١, ٣). الأنماط المختلفة للاستعمار الميكروبي الذي قد يتواجد على أنسجة العائل. قد يؤدي التصاق خلية وحيدة على نسيج العائل إلى إنتاج مستعمرة دقيقة أو أغشية حيوية. وقد تتواجد البكتيريا كذلك داخل الخلايا الطلائية.

مع ذلك، فإن ذلك لا يحدث في كل الحالات حيث إن تكوين التجمعات قد يعاقب عن طريق قوى ميكانيكية، و/ أو هيدروديناميكية تعمل في الموقع، والتي سوف تحل أو تزيح هذه التراكيب. علاوة على ذلك، فإذا كان الكائن الحي متحركاً فإن خلية أو أكثر من الخلايا الوليدة قد تنفصل وتنتقل إلى موقع آخر ضمن الموطن. لذلك، فإن العديد من الخلايا الطلائية قد تحتوي فقط على عدد قليل من الخلايا الميكروبية الفردية على أسطحها (الشكل رقم ١, ٥). وعامل آخر يحد من نمو التجمعات الميكروبية هو أن معظم الأسطح المعرضة للبيئة الخارجية (بصرف النظر عن الأسنان) تتكون من خلايا طلائية والتي تتساقط بشكل مستمر، آخذةً معها التجمعات الميكروبية الملتصقة بها.

### (١, ١, ٢, ٢) الاستعمار الداخلي خلوي Intracellular Colonization

هناك أدلة متزايدة على أن أعضاء من الميكروبيوتا المستوطنة لتجويف الفم والقناة التنفسية يمكن لها أن تغزو الخلايا الطلائية فضلاً عن الالتصاق بها. ويوضح الشكل رقم (١, ٦) خلايا طلائية تحتوي على عدد كبير من السبقيات وأعضاء أخرى من الميكروبيوتا المستوطنة الفموية. يمكن أن تحتوي الخلية الواحدة على ما يصل إلى ١٠٠ خلية بكتيرية. ويوفر مثل هذا الموطن ظروفاً مختلفة جداً عن تلك الموجودة على سطح الخلايا الطلائية وتوفر كذلك حماية ضد أنظمة العائل الدفاعية المضادة للميكروبات. مع ذلك، فإن تساقط الخلايا من الغشاء المخاطي سوف يزيل - بالطبع - أي كائنات حية منضوية أو ملتصقة.



الشكل رقم (٤، ١). (أ-ج) صور لمستعمرات بكتيرية على سطح الذراع باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني الماسح. مستنسخة

بتصريح من الجمعية اليابانية للأمراض الجلدية التحقيقية (٢٠٠٥م) من: Katsuyama, M., Kobayashi, Y., Ichikawa, H., Mizuno, A., Miyachi, Y., Matsunaga, K., and Kawashima M. (2005) A novel method to control the balance of

skin microflora, Part 2. A study to assess the effect a cream containing farnesol and xylitol on atopic dry skin. *J Dermatol Sci* 38, 207-13

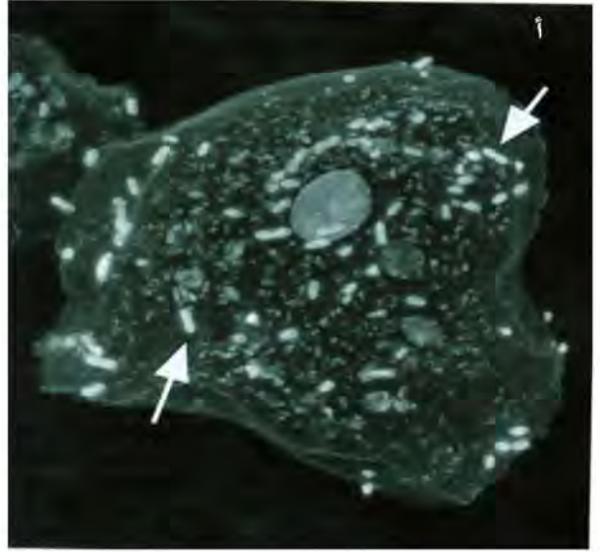
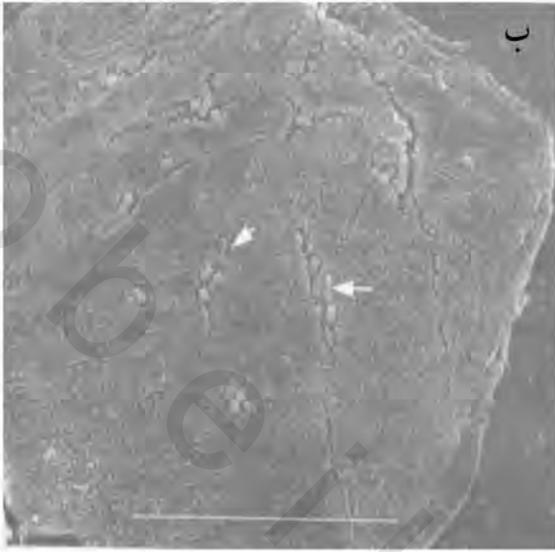
(د) صور باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني الماسح لخلايا فردية من *Haemophilus influenzae* ومستعمرات دقيقة (سهم) نامية على أسطح خلايا أولية من القصبات البشرية. تكبير  $\times 6000$ . صورة

مقدمة - لطفاً - من معمل ميخائيل أبيسيلا في جامعة لواء، مدينة لواء، الولايات المتحدة الأمريكية. (هـ) صور مجهرية

توضح مستعمرات دقيقة (سهم) على الغشاء المخاطي الشرجي. تم صباغة البكتيريا بواسطة صبغة الحي/ الميت - الخلايا الحية ملونة باللون الأصفر، بينما الخلايا الميتة باللون الأحمر. مستنسخة بتصريح من مطابع كامبريدج، كامبريدج،

المملكة المتحدة، من: Hafarlane, S. and macfarlane, G.T. (2003) Bacterial growth on mucosal surfaces and biofilms

.in the large bowel. In: Wilson, M. and Devine, D. (eds) *Medical Implications of Biofilms*



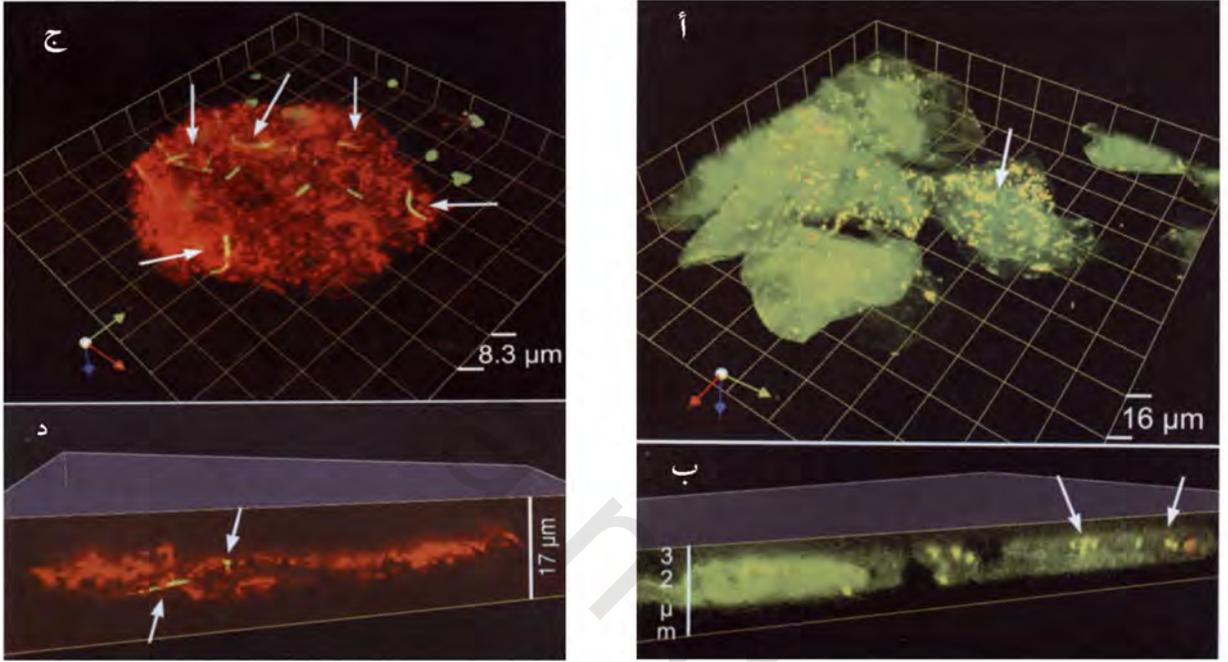
الشكل رقم (٥, ١). خلايا طلائية من الغشاء المخاطي القموي. شوهدت بواسطة (أ) الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر و (ب) الميكروسكوب الإلكتروني الماسح (شريط المقاس ٢٠ ميكرومتر). ويمكن ملاحظة أزواج من البكتيريا (سهم) وخلايا فردية ملتصقة بالخلايا الطلائية. الصور مقدمة-لطفاً- من (أ) الدكتور/ كريس هوب و (ب) السيدة نيكولا موردان، معهد إستان للأسنان UCL Eastman dental institute، جامعة لندن، المملكة المتحدة.

### ١, ٢, ٣) الأغشية الحيوية Biofilms

في ظروف معينة، فإن المستعمرة الدقيقة قد تنمو أكثر (أو أن يندمج العديد منها) وتتطور إلى تركيب أكبر يعرف بـ «غشاء حيوي» - يحدث ذلك على الأسنان وهي أسطح غير متساقطة، وعلى أسطح أغشية مخاطية ذات خواص تشريحية مناسبة، مثل جيوب (كربينات) اللسان واللوزتين. وتتوجد كذلك على الجسسيات في القولون وعلى الأجهزة الطبية والاصطناعية مثل الأسطوانات، المفاصل الصناعية، الأطراف، وصمامات القلب. ويعرف الغشاء الحيوي على أنه مجتمع ميكروبي مغلف داخل قوام وملتصق بسطح ما. ونتيجة لأن معظم الأسطح الموجودة في الطبيعة تكون مغلفة بطبقة من الجزيئات الكبيرة المدمصة، فإن الغشاء الحيوي يكون عادة ملتصقاً بهذه الطبقة (تسمى غشاء تكييفي) بدلاً من أن يلتصق مباشرة بالسطح نفسه. ويتكون القوام من بلمرات تنتجها الميكروبات المكونة للمجتمع الميكروبي فضلاً عن جزيئات مستمدة من العائل. إن الكائن الحي الذي ينمو ضمن غشاء حيوي يكون له طراز مظهري مختلف عن الطراز الذي يبيده في حالة نموه في معلق مائي. وتختلف الخواص الكلية للغشاء الحيوي بشكل كبير عنها في حالة المعلق المائي البسيط لنفس الكائن أو الكائنات الحية. والخواص العامة للأغشية الحيوية هي على النحو التالي:

- تحتوي الأغشية الحيوية على نطاق واسع من مواطن دقيقة نتيجة التدرج المتكون فيما يتعلق بمحتوى الأوكسجين، الرقم الهيدروجيني، جهد الأوكسدة Eh، تركيز المواد الغذائية، وتركيز النواتج النهائية لعمليات الأيض الغذائي .... إلخ.

- تبدي الأغشية الحيوية حساسية مخفضة لأنظمة العائل الدفاعية.
- تبدي الكائنات الحية المكونة للأغشية الحيوية طرزاً مظهرية جديدة.
- تسهل الأغشية الحيوية من التفاعلات الغذائية المتبادلة فيما بين الكائنات الحية المكونة لها.
- تسهل الأغشية الحيوية من عمل نظام الاستشعار.



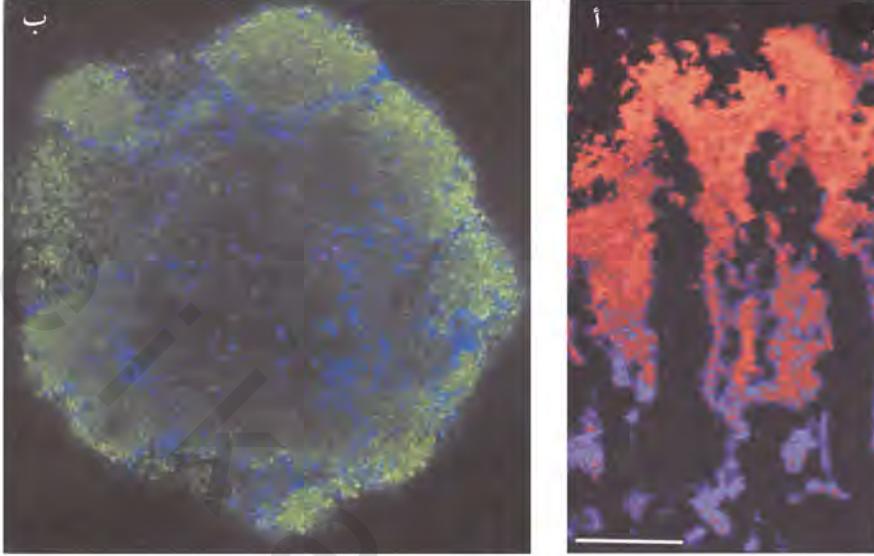
الشكل رقم (٦، ١). صور باستخدام الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر لخلايا طلائية تحتوي على عدد كبير من الكرويات الداخل والخارج خلوية. (أ) تجمع من الخلايا الخدية محتوية على بكتيريا داخل خلوية. بعض الكرويات موسومة بواسطة كل من مجس أخضر اللون متخصص لـ *Streptococcus* ومجس عام أحمر اللون ولذلك فإنها تبدو باللون لأصفر. وتظهر البكتيريا الأخرى غير السبقيات باللون الأحمر. الخلايا المشار إليها بالسهم تم غزوها بكثافة بالسبقيات. (ب) قطاع طولي في الخلايا الطلائية. والسبقيات الداخل خلوية مشار إليها بالسهم. (ج) خلايا غدية يهيمن عليها كرويات داخل خلوية (غالباً بقيات) وموسومة بالمجس العام الأحمر. تم معاملة العينة كذلك بمجس متخصص لـ *Fusobacterium nucleatum* ذات اللون الأصفر (سهم). (د) قطاع طولي للخلايا الموضحة في (ج). مستنسخة بتصريح من الجمعية الدولية لأبحاث الأسنان، أليكساندريا، فيرجينيا، الولايات المتحدة

من: Rudney, J.D., Chen, R. and Zang, G. (2005) Streptococci dominate the diverse flora within buccal cells . *J.*

*Dental Res* 84, 1165-71

علاوة على ذلك، فإن استهلاك الأوكسجين والمغذيات الموجودة في البيئة بواسطة الخلايا الموجودة في الطبقات الخارجية للغشاء الحيوي، جنباً إلى جنب مع إعاقة نفاذ الجزيئات بواسطة قوام الغشاء الحيوي، يؤدي إلى تدرج كيميائي وكيموفيزيائي ضمن الغشاء الحيوي (الشكل رقم ٧، ١ و ٢٠، ٨). وسوف تتولد تدرجات أخرى فيما

يتعلق بمخرجات الأيض التي تنتجها بكتيريا داخل الغشاء الحيوي. ولذلك، يتواجد ضمن الغشاء الحيوي أنواع كثيرة من المواطن الدقيقة، وبالتالي تتوفر ظروف مناسبة للاستعمار بواسطة أنواع فسيولوجية مختلفة من الميكروبات.



الشكل رقم (٧, ١). (أ) صور باستخدام الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر لغشاء حيوي لـ *Staph. epidermidis* مصبوغ

بـ ٤-٦ داي أميدينو-٢- فنيل إندول (والذي يرتبط بالدنا ويصبغ جميع الخلايا باللون الأزرق) ومصبوغة بـ ٥-٣ سيانو ٢-٣ ديتوليل تيرازوليم كلوريد (والذي يتحول إلى اللون الأحمر بواسطة الخلايا المنتفسة). القوام الذي يلتصق عليه الغشاء الحيوي هو في أسفل الصورة، في حين أن السطح البيني للغشاء الحيوي/ المغذيات عند القمة. يتناقص النشاط التنفسي من قمة الغشاء الحيوي إلى قاعدة نتيجة وجود العديد من التدرجات ضمن الغشاء الحيوي فيما يتعلق بالظروف البيئية (مثل تركيز المغذيات، الرقم الهيدروجيني، إلخ) والتي تؤثر على نشاط وحيوية الخلايا المكونة للغشاء الحيوي. مستنسخة بتصريح من مطابع جامعة كامبريدج، كامبريدج، المملكة المتحدة، من: Zheng,

Z. and Stewart, P.S. (2004) Growth limitation of *Streptococcus epidermidis* in biofilm contribution to rifampin

tolerance. *Biofilms* 1, 31-5

فموي متعدد الأنواع البكتيرية. توضح الصورة قطاعاً عرضياً في حزمة الغشاء الحيوي (منظر من أعلى) تم صباغته

ليظهر البكتيريا الحية (اللون الأخضر) والميتة (اللون الأزرق). هناك تدرج داخل حزمة الغشاء الحيوي فيما يتعلق

بحيوية الخلية- حيث تتناقص نسبة الخلايا الحية من الطبقات الخارجية نحو الطبقات الداخلية. مستنسخة بتصريح

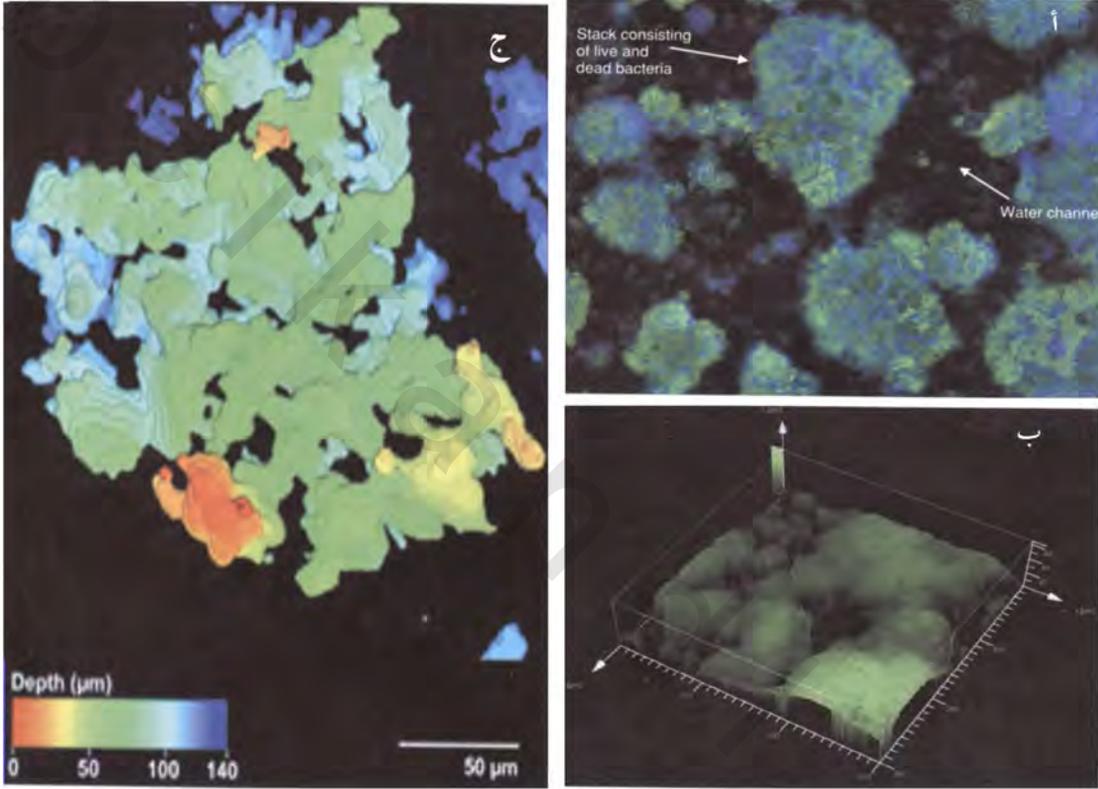
إليسير Elsevier، أمستردام، هولندا (٢٠٠٦م). من: Hope, C.K. and Wilson, M. (2006) Biofilm structure and cell

viability in laboratory model of subgingival plaque. *J Microbiol Methods* 66, 390-8

والأغشية الحيوية هي تراكيب عالية التشبع بالماء، وقد تشغل البكتيريا فيه أقل من ١٠٪ من الحجم الكلي. وهذا

يعني أن تقنيات الصباغة ونزع الماء المستخدمة لإعداد الأغشية الحيوية للفحص بواسطة الميكروسكوب الضوئي و/ أو

الميكروسكوب الإلكتروني تشوه تركيبها على نحو فادح. إن الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر (CLSM) يمكن من فحص الأغشية الحيوية في صورتها الفطرية المشبعة بالماء، وقد مكن ذلك من تحديد تركيبها وأبعادها بدقة أكبر. إن CLSM (وطرق الميكروسكوبي الحديثة الأخرى مثل ميكروسكوبي التداخل الفارق التبايني و ميكروسكوبي إثارة ثنائي الفوتون) قد أظهر أن الأغشية الحيوية ذات تركيب أكثر تعقيداً من ذلك الذي كشفت الميكروسكوب الإلكتروني (الشكل رقم ٨, ١).

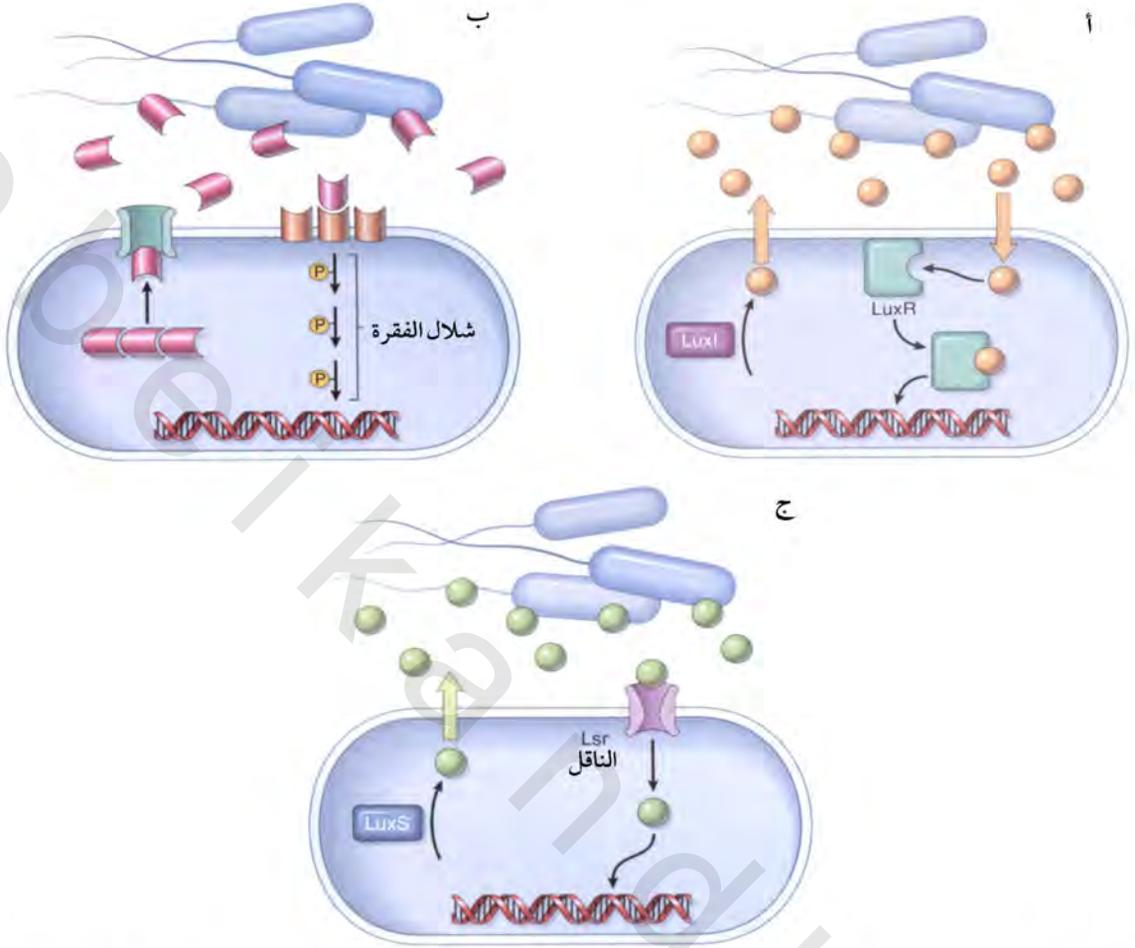


الشكل رقم (٨, ١). صور باستخدام الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر (تكبير منخفض) لأغشية حيوية متعددة الأنواع البكتيرية تم إنشاؤها في المعمل في ظروف مماثلة لتلك الموجودة في جسم العائل. (أ) تم صبغة الغشاء الحيوي للتمييز بين الخلايا الحية (اللون الأخضر) والميتة (اللون الأزرق) وهي معروضة من أعلى. الحزم البكتيرية تفصلها قنوات مائية مرئية بوضوح. (ب) استخدمت صبغة فلورونسية لصبغة مكونات الكائنات الحية ولكنها لا تصبغ مادة الترابط الخارج خلوية للغشاء الحيوي. يمكن رؤية الحزم البكتيرية (ارتفاعها يصل إلى ٦٠ ميكرومتر) تفصلها قنوات. (ج) صور خريطية باستخدام الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر لغشاء حيوي فموي متعدد الأنواع البكتيرية، مع شكل يوضح المسافة بين مختلف مناطق الغشاء الحيوي والعدسة الشبكية للميكروسكوب. مرة أخرى يمكن ملاحظة أن الغشاء الحيوي يتكون من العديد من «الحزم» البكتيرية ذات ارتفاعات مختلفة، ويفصلها مناطق ممتلئة بالسوائل. الصور مقدمة - بلطف - من الدكتور/ كريس هوب، مدرسة علوم الأسنان، جامعة ليفربول، ليفربول، المملكة المتحدة.

وحيث إن هناك عدداً من العوامل التي يمكن أن تؤثر في تركيب الغشاء الحيوي، فإنه لا يوجد تركيب واحد موحد يمكن القول إنه يميز جميع الأغشية الحيوية. والمتغيرات الأساسية المتضمنة تشمل: طبيعة الكائن الحي (أو المجتمع)، تركيز المغذيات الموجودة، الخواص الهيدروديناميكية للبيئة، وطبيعة أي قوى ميكانيكية تعمل في الموقع. ومن ثم فإن تركيب الغشاء الحيوي يمكن أن يتراوح من عديم الخواص، النوع المنبسط، إلى غشاء يتكون من تركيب أكثر تعقيداً يتضمن "كومات" تشبه البرج (تتكون من ميكروبات مغلقة داخل قوام خارج خلوي) مفصولة بواسطة قنوات مائية (الشكل رقم ٨، ١). وبناء على التركيب الميكروبي لغشاء حيوي معين فقد تتكون الكومات من نوع واحد أو من مستعمرة دقيقة تتكون من عدد من الأنواع المختلفة. وتتكون المستعمرة الدقيقة في موضع معين في "كومة" بحيث تحتوي على تجمع مناسب من العوامل البيئية المناسبة لبقاء الكائن الحي على قيد الحياة ونموه. وقد تعمل القنوات المائية كجهاز دوري بدائي، بحيث تحضر إمدادات خارجية من المغذيات والأكسجين، في حين تتخلص من فضلات الأيض الغذائي. ويمكن الاضطلاع على تفاصيل إضافية عن تركيب ومكونات الأغشية الحيوية في الفصول اللاحقة.

### (١, ١, ٣) التواصل في المجتمعات الميكروبية Communication in Microbial Communities

على الرغم من أنه قد عرف منذ زمن طويل أن البكتيريا تستطيع أن تستشعر وتستجيب لبيئتها الخارجية، فقد اكتشف حديثاً فقط إن أنواعاً عديدة يكون لها القدرة كذلك على أن تستشعر وجود خلايا بكتيرية أخرى. وتعرف هذه الظاهرة بـ 'نظام الاتصال'، والذي يتضمن إنتاج محفز ذاتي ذي وزن جزيئي منخفض، وبوصوله إلى تركيز معين (نتيجة وجود كثافة ميكروبية معينة حرجة) في البيئة الخارجية، يستطيع أن ينشط عملية نسخ جينات معينة. والنتيجة هي تغير على مستوى النصاب الميكروبي في تعبير الجين، وهكذا فإن المجتمع - في الواقع - يتصرف ككائن حي متعدد الخلايا. وتعتمد طبيعة المحفز الذاتي على هوية النوع، وهناك بشكل رئيس ثلاثة أنواع من أنظمة الاتصال (الشكل رقم ٩، ١). ومعظم البكتيريا سالبة الجرام تستخدم نظام LuxR / I وفيه يقوم بروتين LuxR / I (أو مشابه له) بإنتاج المحفز الذاتي (أسيل هوموسيرين لاكتون AHL)، والذي ينفذ بحرية إلى خارج - وإلى داخل - الخلية. ويرتبط الـ AHL ببروتين LuxR / II الداخلي خلوي (أو مشابه له)، والذي يقوم بتنظيم نسخ الجين. وفي النظام الثاني، والذي تستخدمه الكائنات الحية ذات صبغة الجرام الموجبة، فإن المحفز الذاتي هو عديد البيبتيدات ذات ٦ إلى ١٧ حمض أميني، والذي عادةً يكون معدلاً (محوراً) بعد النسخ. وينقل المحفز الذاتي خارج الخلية بنشاط، حيث يقوم بتنشيط نظام ناقل الإشارة ثنائي المكونات (Two Component Single Transduction System). ويتم تمييز المحفز الذاتي عن طريق كشف إنزيم الكينيز الخاص بنظام الـ TCSTS، والذي يبدأ نقل مجموعة الفوسفات إلى منظم الاستجابة الذي يتحكم في ترجمة الجين. ويوجد النظام الثالث، LuxS / AI-2 في تشكيلة واسعة من الأنواع موجبة وسالبة صبغة والذي يمكن من التواصل بين الأنواع المختلفة. وينتج LuxS المحفز الذاتي ٤، ٥ - دي هيدروكسي-٢-٣-بتناديون (Dihydroxy pentadione)، والذي يتحور تلقائياً ليشكل تشكيلة متنوعة من الجزيئات. وتقوم الأنواع المختلفة من البكتيريا بتمييز DPD محور معين، ويمكن ذلك البكتيريا من الاستجابة لـ AI-2 المشتق من الـ DPD الخاص بها فضلاً عن ذلك الذي تنتجه الأنواع الأخرى.



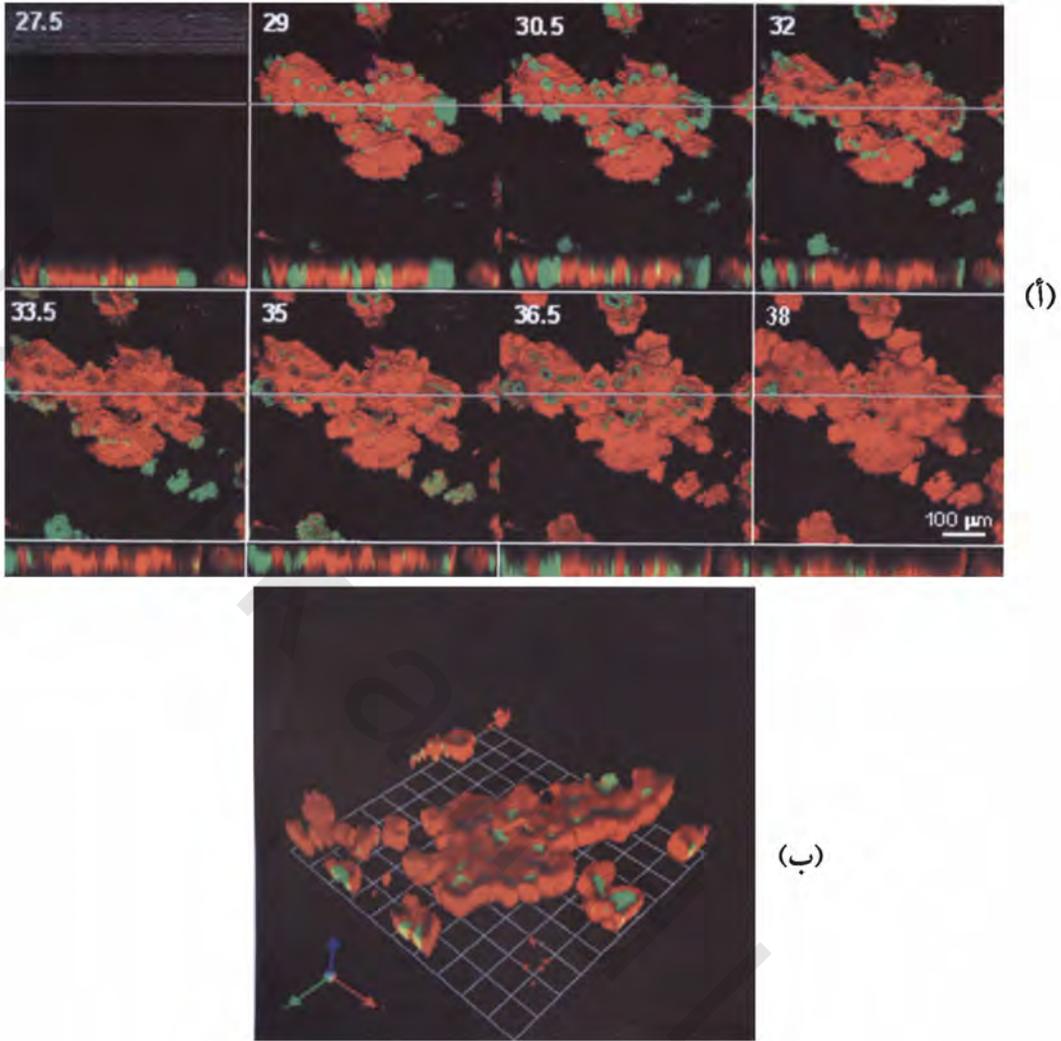
الشكل رقم (٩، ١). رسم يوضح أنظمة الاتصال الرئيسية الثلاثة (أ) نظام LuxI/LuxR في كائن حي سالب الجرام. يتم تصنيع المحفز الذاتي (مثل هوموسيرين لاكتون، يرمز إليه بـ «كرات») عن طريق ممرات تتضمن LuxI حيث ينفذ إلى خارج الخلية، ومع دخوله للخلية مرة أخرى فإنه يرتبط بـ LuxR وبالتالي يغير من النسخ الجيني. (ب) في البكتيريا موجبة الجرام يتم إصدار قليل ببتيدات (يرمز إليه بـ أشكال مرتبطة) إلى خارج الخلية، والذي يرتبط بعد ذلك بـ «كشاف» كينيز لـ TCST. وهذا يضيف مجموعة فسفوريل إلى منظم الاستجابة حيث ينظم نسخ الجين. (ج) يتواجد نظام LuxS/AI-2 في بكتيريا سالبة وموجبة الجرام. يتم تصنيع DPD بواسطة ممر يتضمن LuxS، ويقوم بعد ذلك بإعادة ترتيب كيميائي لـ AI-2 (يرمز إليه بـ «كرات»). يعتمد التركيب الدقيق له على نوعية النوع البكتيري الذي يحمره من الخلية. يدخل AI-2 إلى الخلية عن طريق ناقل متخصص (Lsr في حالة *Salmonella typhimurium*) حيث ينظم بعد ذلك نسخ جينات معينة. مستنسخة بتصريح من الجمعية الأمريكية للفارما كولوجي، والعلاج التجريبي، بيسيسدا، ميريلاند، الولايات المتحدة الأمريكية. من: Raffa, R. B., Iannzzo, J.R., Levine, D.R., et al. (2005) Bacterial communication: ("quorum sensing") via ligands and receptors: A novel pharmacologic target for the design of .antibiotic drug. *J*

وباستخدام واحد أو آخر من هذه الأنظمة، فإن البكتيريا تستطيع أن تنظم التعبير الجيني لجينات معينة بنمط يعتمد على النصاب البكتيري - وهي ظاهرة بلا شك ذات صلة بالأغشية الحيوية والمستعمرات الدقيقة بكثافتها البكتيرية العالية (الشكل رقم ١٠، ١).

والجينات التي يتم تنظيمها بواسطة نظام الاتصال تشمل أولئك المشاركين في تكوين الغشاء الحيوي، الاختصاص (الأهلية) والاقتران فضلاً عن الجينات التي تشفر للعديد من عوامل الضراوة. وتشمل الأنشطة والعمليات للميكروبات المستوطنة للبشر والتي قد ثبت تنظيمها عن طريق نظام الاتصال:

- تكوين غشاء حيوي من أنواع مختلطة من *Streptococcus gordonii* و *Porphyromonas gingivalis*.
- تكوين غشاء حيوي والتمثيل الغذائي للسكر في *Strept. gordonii*.
- إنتاج البكتيريوسين في *Streptococcus pyogenes*، *Streptococcus salivarius* و *Lactobacillus plantarum*.
- اكتساب الحديد وإنتاج سم خلايا الدم البيضاء (ليوكوتوكسين) في *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
- إنتاج السم في *Clostridium perfringes*.
- في *Escherichia coli*، يتأثر نسخ ٢٤٢ جيناً (حوالي ٦٪ من الجينوم الكلي لها) بتركيز الـ AI-2.
- انقسام الخلية والشكل المظهري في *E. coli*.
- الاختصاص أو الأهلية في *Streptococcus pneumoniae*.
- إنتاج إنزيم البروتيز والسيتروليزين في *Enterococcus faecalis*.
- انتقال البلازميدات الاقترانية في *Enterococcus spp*.
- تكوين الغشاء حيوي والاختصاصية في *Streptococcus mutans*.
- تكوين الغشاء حيوي وإنتاج البكتيريوسين في *Staphylococcus epidermidis*.
- تكوين الغشاء حيوي والسموم الخارجية في *Staphylococcus aureus*.
- تكوين الغشاء حيوي في *Strept. pyogenes*.

إن القدرة على الحد من التعبير الجيني حتى يتم الوصول إلى نصاب كبير هو مفيد للكائن الحي بعدد من الطرق. وتستمد البكتيريا غالباً مغذياتها من بوليمرات معقدة، وتحلل مثل هذه البوليمرات يتطلب إفرازاً متناغماً من الإنزيمات من عدد كبير من الخلايا. إن خلية واحدة أو نصاباً تفرز بعض أعضائه فقط الإنزيمات المناسبة، لن تشكل الوسيلة الفعالة لاستغلال المغذيات المتاحة. إن ميزة كون تنظيم الاختصاصية والاقتران عن طريق عملية معتمدة على النصاب هي واضحة تماماً - حيث لا يمكن انتقال الدنا في غياب الخلايا الأخرى. والقدرة على الحد من إفراز عوامل الضراوة حتى يتم وجود عدد كبير من الخلايا البكتيرية يمكن أن تكون من تدابير الحماية ضد أنظمة العائل الدفاعية. ومن ثم، لو أن عدداً قليلاً من البكتيريا كان يفرز عامل ضراوة معين (من غير المرجح أن يسبب تركيز قليل منه أضراراً خطيرة)، فهذا قد ينه العائل، والذي ربما يكون قادراً بعد ذلك على التخلص من هذا التهديد بفعالية - شيء ما يكون حدوثه أقل احتمالاً لو كان هناك نصاب ميكروبي كبير.



الشكل رقم (١٠، ١). صور باستخدام الميكروسكوب الماسح ذو الليزر متحد البؤر يوضح منظم جيني (agr) لنظام الإتصال في الغشاء الحيوي لـ *Staph. aureus*. تم مراقبة التعبير الجيني لـ agr باستخدام بلازميد مراسل يحتوي على جين بروتين مراسل فلورينستي أخضر اللون (gfp) مرتبط بمنظم جيني P3 لـ agr. (أ) الفاصل الزمني للتعبير عن agr-P3gfp المراسل في الغشاء الحيوي لـ *Staph. aureus*. التقطت الصور كل ٩٠ دقيقة، وموضح عدد الساعات بعد التلقيح. الخلايا التي تنتج المراسل موسومة باللون الأخضر، في حين باقي الخلايا مصبوغة باللون الأحمر باستخدام أيوديد البرويديوم. الصور الأكبر تمثل سلسلة Z مضغوطة، في حين تم تجميع مسطحات س-ص (جانبي) المتعددة من قمة إلى قاعدة الغشاء الحيوي. تمثل الصور الأصغر منظور س-ص للغشاء الحيوي في المواضع الموضحة بالخط. ويحدث التعبير الجيني في مناطق مختلفة من الغشاء الحيوي ويتفاوت مع الوقت. (ب). إعادة تكوين ثلاثي الأبعاد لسلسلة z التقطت بعد ٥، ٣٦ ساعة بعد التلقيح. كل جانب من المربع الشبكي يمثل ٦٠ ميكرومتر. مستنسخة بتصريح من: Yarwood, J.M., Bartels, D.J., Volper, E.M. and Greenberg, E.P. (2004) Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J Bacteriol* 186, 1838-5

## (٢، ١) المحددات البيئية التي تؤثر على توزيع وتركيب المجتمعات الميكروبية

**Environmental Determinants that Affect Distribution and Composition of Microbial Mommunities**

لكي يصبح كائن حي عضواً في الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في الجسم، فيجب على بيئة ذلك الموقع أن توفى بمتطلبات الكائن الحي الغذائية والكيموفيزيائية. علاوة على ذلك، يجب على الكائن الحي أن يكون قادراً على مقاومة أنظمة العائل الدفاعية التي تعمل في ذلك الموقع فضلاً عن أنظمة التخلص من الميكروبات الميكانيكية، والهيدروديناميكية التي قد تتواجد في الموقع، مثل التبول، والكحة والمصعد المخاطي، ذات الأهداب.

ولقد دونت القيود الغذائية والكيموفيزيائية على نمو الميكروب داخل نظام بيئي في قانونين اثنين - "قانون ليبيج للحد الأدنى" و "قانون شيلفورد للتحمل". ويذكر قانون ليبيج للحد الأدنى أن الناتج الكلي لكائن حي يتم تحديده عن طريق المغذي الموجود بأقل تركيز بالنسبة لمتطلبات الكائن الحي، ففي أي نظام بيئي سوف تتواجد بعض المغذيات بتركيز قد يجد من نمو أنواع معينة. وفي حالة ازدياد تركيز هذا المغذي، فسوف يزداد نصاب ذلك النوع حتى يصبح مغذياً آخر محدوداً وهكذا. وتشتق المغذيات المتاحة للكائن الحي في موقع ما في الجسم - في معظم الأحوال - من مصدرين - العائل والميكروبات الأخرى التي تقطن هذا الموقع، فالكائنات الحية التي تقطن القناة الهضمية لديها مصدر إضافي من المغذيات وهو الطعام الذي يلتهمه العائل.

يتعلق "قانون شيلفورد للتحمل" بالعوامل غير الغذائية التي تتحكم في نمو الكائن الحي (مثل الرقم الهيدروجيني pH، والحرارة وجهد الأوكسدة Eh)، ويذكر أن كل نوع يحتاج إلى مجموعة معقدة من الظروف للبقاء على قيد الحياة والنمو، وأن هناك حدوداً لهذه العوامل والتي خارجها لا يستطيع الكائن الحي البقاء على قيد الحياة أو النمو. ولذلك فإن النوع سوف يبقى على قيد الحياة داخل نظام بيئي فقط في حالة بقاء كل من الظروف الكيموفيزيائية التي تعمل هناك داخل نطاق تحمله. وبينما يقوم العائل "بتهيئة المسرح" من ناحية العديد من العوامل الكيموفيزيائية التي تعمل في موقع في الجسم، فإن الميكروبات المتواجدة في ذلك الموقع عادةً ما تبدل من هذه العوامل بشكل كبير. وفضلاً عن كون قدرة الكائن الحي على أن يصبح راسخاً في موقع معين تتحكم فيه عوامل غذائية وكيموفيزيائية، فإنها تتأثر أيضاً بعوامل بيولوجية مثل إنتاج مركبات مضادة للميكروبات بواسطة العائل والميكروبات الأخرى الموجودة في الموقع. ويجب على الكائن الحي كذلك أن يكون قادراً على تحمل أي قوى ميكانيكية مزيلة للميكروبات التي تعمل في ذلك الموقع مثل تدفق اللعاب، البول والسوائل الأخرى التي ينتجها العائل.

جميع العوامل التي تتحكم في قدرة كائن حي على الحفاظ على وجوده في موقع ما من الجسم والتي تحدد تركيب الميكروبيوتا المستوطنة التي تستعمر ذلك الموقع - تسمى مجملًا "المحددات البيئية" أو "العوامل البيئية الانتقائية". ويرد وصفها في الفقرات اللاحقة.

وبالرغم من أن الظروف البيئية السائدة في موقع معين تحدد إلى حد كبير أنواع الميكروبات التي قد تستعمر ذلك الموقع، فإن التغيرات اللاحقة للبيئة نتيجة الأنشطة الميكروبية، فضلاً عن التفاعلات المفيدة والتضادية بين الأنواع الموجودة، سوف تؤثر بعد ذلك على تركيب المجتمع الميكروبي، والذي يتطور حتى يصل إلى حالة النضوج المستقرة (انظر الشكل رقم ١٤، ١). ومع ذلك، فهذه ليست كل القصة حيث إن تركيب المجتمع الميكروبي يتأثر بعدد من العوامل الأخرى. ويلعب التاريخ الاستعماري - على سبيل المثال - أيضاً دوراً في تشكيل تركيب المجتمع الميكروبي،

بمعنى أي من المستعمرين الأوليين العديدين المحتملين لموقع ما قد وصل - بالصدفة - أولاً لشخص معين. ويمكن للتطور اللاحق للمجتمع أن يتأثر أيضاً بوصول أي من عدد من المستعمرين الثانويين المحتملين الذين يستطيعون التأقلم مع البيئة المعدلة - وهكذا. إن وصول أي من الكائنات الحية أولاً ومتى هو أمر يحدث بمحض الصدفة لحد كبير. وقد يكون من الجيد أن يكون الأمر كذلك، ففي حين تحدد العوامل البيئية أياً من الفئات التصنيفية العليا (فئة) تكون موجودة في موقع ما من الجسم، فإن وجود نوع أو سلالة معينة في شخص ما قد تكون نتيجة التاريخ الاستعماري والمصادفات الأخرى. وسوف يساعد هذا في تفسير التباين في الميكروبيوتا لموقع ما في الجسم من شخص لآخر.

### (١, ٢, ١) المحددات الغذائية Nutritional Determinants

العناصر الرئيسية المطلوبة لنمو جميع الميكروبات تشمل الكربون، الأوكسجين، النيتروجين، الهيدروجين، الفوسفور، الكبريت، البوتاسيوم، الصوديوم، الكالسيوم، المغنسيوم، الكلور، والحديد. بالإضافة إلى كميات صغيرة من عدد من العناصر النزرة (مثل الكوبلت، النحاس، المنجنيز، الخارصين والمولبيدوم) والتي تحتاج إليها الكائنات الحية كعوامل مساعدة لمختلف الإنزيمات وكمكونات للبروتينات والمكونات الأخرى للخلية. وتحتاج العديد من الكائنات الحية كذلك لكميات صغيرة من عوامل النمو العضوية مثل أحماض أمينية، أو فيتامينات، أو أحماض دهنية أو دهون. وهناك تنوع هائل فيما يتعلق بطبيعة المركبات (أي المغذيات) التي يستطيع أن يستغلها الكائن الحي كمصدر لكل عنصر بالتحديد.

وتختلف الميكروبات أيضاً فيما يتعلق بأنواع المركبات التي يمكن أن تكون بمثابة مصدر للطاقة. وسوف يكون الميكروب قادراً على أن يستعمر تلك المواقع فقط التي يمكن أن توفر له مصدر مناسب للطاقة والتي تمده بكل العناصر المطلوبة لنموه في صورة يمكن أن يستغلها. ويوفر العائل مجموعة واسعة من المغذيات المحتملة في شكل نواتج إفرازية وإخراجية للخلايا الحية، الراشح من السائل الذي ينفذ من الأنسجة (السائل الخلالي)، ومكونات الخلايا الميتة (الشكل رقم ١١, ١). وبالإضافة إلى ذلك، يمكن للمواد الغذائية التي يلتهمها العائل أن تكون بمثابة مصدر للمغذيات للميكروبات التي تقطن القناة الهضمية. وبالرغم من أن المستعمرين الأساسيين أو الأوليين لأي موقع في الجسم يعتمد اعتماداً كلياً على المغذيات المستمدة من العائل، فبمجرد أن يستعمر الموقع فإن الجزئيات التي تنتجها الكائنات الحية الموجودة يمكن أن تكون بمثابة مصادر إضافية للمغذيات. وسوف تختلف مثل هذه المغذيات عن تلك التي يوفرها العائل، ويمكن ذلك الأنواع ذات المتطلبات المختلفة من المغذيات أن ترسخ نفسها في الموقع، بعبارة أخرى يحدث التعاقب الميكروبي.

وتختلف المغذيات التي يوفرها العائل باختلاف الموقع في الجسم (الجدول رقم ١, ١)، وسيرد ذلك بالتفصيل في الفصول اللاحقة. وتلك ذات تأثير عميق على أنواع الكائنات الحية التي قد تستعمر موقعاً معيناً وتصبح أعضاء من الميكروبيوتا للموقع.



إن المصادر الكربونية المستمدة من العائل هي غالباً عبارة عن جزيئات كبيرة معقدة مثل عديد السكريات، بروتينات، جليكوبروتينات، دهون، جليكولييد وليبوبروتينات، إلخ. ولكي يستغل الميكروب هذه المركبات، يجب عليه أولاً أن يحلل الجزيء إلى وحدات أصغر بحيث يمكن أن تنقل إلى داخل الخلية. وفي بعض الحالات يتطلب تعقيد المصدر الكربوني إلى تعاون العديد من الأنواع حتى يتحقق تحليله. ومصادر النيتروجين المتاحة في العديد من المواقع تشمل بروتينات، جليكوبروتين، ليبوبروتين، أحماض أمينية، بولينا، أيونات الأمونيا، أيونات النترات. ويمكن الحصول على الأوكسجين من الهواء و/ أو أنسجة العائل في بعض مواقع الجسم ويوجد في الماء ومعظم المركبات العضوية. و الفوسفور متاح في الأحماض النووية، فوسفوبروتين، فوسفولييد، الفوسفات، إلخ. والعديد من العناصر الرئيسية الأخرى المطلوبة للنمو الميكروبي تتواجد في صورة أملاح غير عضوية أو مركبات عضوية ذات وزن جزيئي منخفض.

إن اعتماد الميكروبات في نموها على كميات صغيرة من مجموعة متنوعة من أيونات معدنية يمنح العائل فرصة للتحكم في النمو الميكروبي عن طريق حرمانها من هذه المغذيات الدقيقة. ويتم تحقيق ذلك عن طريق تحويل هذه العناصر إلى صور أخرى بحيث تكون العديد من الميكروبات غير قادرة على استخدامها. ومثال مهم لذلك هو الحرمان من الحديد. هذا العنصر (الحديد) هو مكون أساسي للستوكرومات وإنزيمات أخرى، ولكي تنمو وتتكاثر معظم الميكروبات فإنها تحتاج إلى أن يتوفر الحديد في بيئتها بتركيز  $10^{-10}$  مول تقريباً. ومعظم الحديد في جسم الإنسان يكون مرتبطاً بالهيموجلوبين، ميوجلوبين، والستوكرومات، وأي حديد زائد يكون معقداً بروتينات رابطة للحديد (ترانسفيرين، لاكتوفيرين، زلال البيض، وفيريتين)، تاركاً كميات قليلة جداً فقط من الحديد الحر ( $10^{-15}$  مول تقريباً) متاحاً للميكروبات. ولكي تحصل الميكروبات على الكميات المحدودة المتاحة من الحديد فإنها تنتج مركبات لها قابلية عالية للارتباط بالحديد تعرف بـ «صائدات الحديد». وتنتج بعض الأنواع الميكروبية إنزيمات لها القدرة على تحليل مركبات العائل الرابطة للحديد وبالتالي يتحرر الحديد، وتنتج أنواع أخرى مستقبلات لهذه المركبات ثم تستخلص الحديد من المعقد المرتبط. علاوة على ذلك، فإن العديد من الكائنات الحية تنتج هيموليزين والذي يحلل كرات الدم الحمراء، وبالتالي تتحرر المركبات المحتوية على الحديد مثل الهيموجلوبين والذي يمكن الحصول على الحديد منه.

إن العائل هو مصدر المغذيات الوحيد فقط للكائنات الحية الأولى لموقع ما في الجسم. ولكن بمجرد أن يتم استعمار هذا الموقع فإن المواد التي تخرجها وتفرضها الميكروبات وكذلك الميكروبات الميتة نفسها تعد بمثابة مصادر إضافية للمغذيات، وهكذا يتسع نطاق المغذيات المتاحة، وبالتالي يخلق فرصاً للاستعمار بواسطة الكائنات الحية الأخرى. ومن ثم، فإن الأنواع الميكروبية التي لولا حدوث ذلك لم تكن قادرة على أن تستوطن الموقع تصبح راسخة في الموقع (مثل هذه الكائنات الحية تسمى مستعمرين ثانويين)، ويؤدي ذلك إلى "التعاقب الذاتي"، بمعنى تغير في تركيب المجتمع الميكروبي ناشئ من الأنشطة الميكروبية. والتغير في تركيب المجتمع الميكروبي الذي يرجع إلى عوامل خارجية غير ميكروبية يسمى "تعاقب متباين". وكلما زاد مدى تعقيد المجتمع، فإن التفاعلات المتنوعة بين أعضائه تزداد، وربما يكون لهذا نتائج سلبية وكذلك إيجابية (الجدول رقم ٢، ١). وتساهم مثل هذه التفاعلات بين المغذيات (جنباً إلى جنب مع العوامل الكيموفيزيائية الأخرى والتي سيرد شرحها لاحقاً) في تطور المجتمع الميكروبي في ذلك

الموقع وتضمن استقراره، على الرغم من ذلك فإن التغيرات الجسمية التي يتعرض لها الموقع بواسطة قوى خارجية قد تؤدي إلى إخلاله وتمزيقه.

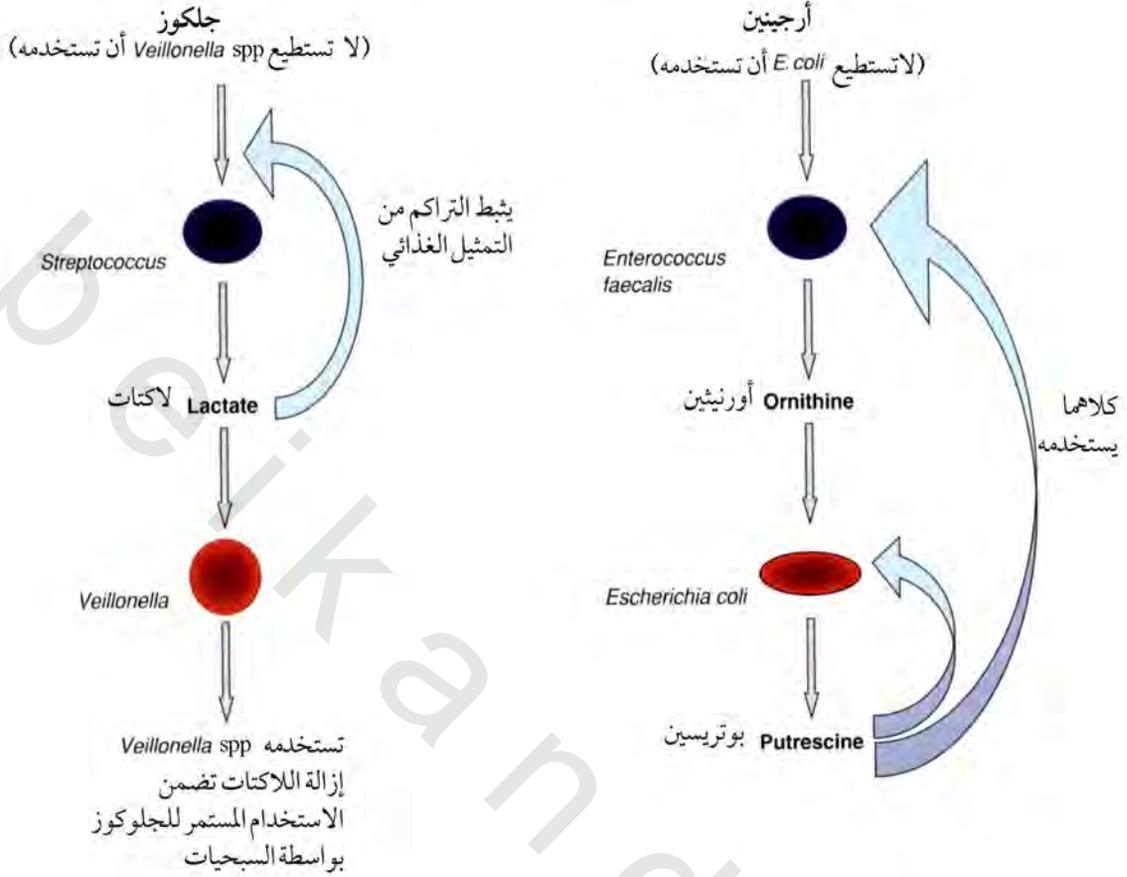
الجدول رقم (٢ ، ١). نطاق التفاعلات الممكنة بين اثنين من الأنصبة الميكروبية. قد تكون هذه التفاعلات غذائية، كيموفيزيائية، أو بيولوجية.

نوع التفاعل	أمثلة
إيجابي لأحد أو كلا الكائنين الحيين	معايشة، تآزر (أو تعاون بدائي)، تبادل منفعة
سلبي لأحد أو كلا الكائنين الحيين	تنافس، إضرار (أو تضاد)، افتراس، تطفل
عدم وجود تفاعل بين الكائنين الحيين	علاقة محايدة

المطاعمة أو المعايشة هي علاقة بين اثنين من الكائنات الحية والتي فيها يستفيد أحدهما من هذه العلاقة بينما لا يتأثر الآخر. وأمثلة ذلك: (١) إنتاج أحماض أمينية أو فيتامينات بواسطة كائن حي، والذي يستخدمها بعد ذلك كائن حي آخر، (٢) تحليل البوليمرات لتحرير وحدة البناء (مونمر)، والذي يمكن أن يستغله كائن حي آخر، (٣) إنتاج مركبات - بواسطة كائن حي - لإذابة بعض المركبات، والتي يمكن لهذه المركبات أن يستخدمها كائن حي آخر، (٤) استهلاك أو معادلة جزيئات بواسطة كائن حي والتي قد تكون سامة لنوع آخر.

التآزر هي علاقة يتفجع منها كلا العضوين - وعندما تنطوي على تفاعل فيما بين المغذيات فإن مصطلح "تآزر غذائي" غالباً ما يستخدم. مثال مهم للتآزر الغذائي هو التغذية المتبادلة. وتحدث التغذية المتبادلة عندما يستهلك كائن حي (أ) مركباً لا يستطيع الكائن الحي الآخر (ب) استهلاكه، ولكن بفعله ذلك ينتج مركباً جديداً والذي يمكن للكائن الحي (ب) أن يستغله. والتخلص من المركب الجديد بواسطة الكائن الحي (ب) عادةً ما يكون نافعاً لـ (أ)، وذلك لأنه يتخلص من التحكم الاسترجاعي السلبي لذلك المركب. وهناك أمثلة من التآزر الغذائي موضحة في الشكل رقم (١٢ ، ١).

ومصادر مهمة من المغذيات للميكروبات في معظم مواقع الجسم هي الميوسينات. وهي عبارة عن من جليكوبروتينات معقدة حيث يحتاج تحليلها التام إلى مجموعة متنوعة من الإنزيمات - سلفاتيزيس، وسيليديزيس، وجليكوسيديزيس، وبروتيزيس، وبيبتيديزيس. وينتج عدد قليل جداً من الكائنات الحية كل هذه التشكيلة من الإنزيمات، لذلك فإن التعاون بين عدد من الأنواع يكون عادةً ضرورياً جداً لتحقيق تحلل كامل لهذا المصدر القيم من المغذيات (انظر الفقرة ٣، ٥، ١). إن تحرر الكبريتات من الميوسينات في القناة الهضمية (بواسطة *Bacteroides* spp) يمكن من نمو *Desulfovibrio* spp حيث تستخدم الكبريتات كمصدر للطاقة. وهذه أمثلة بسيطة عما يسمى بـ "سلاسل غذائية". ومع ذلك، غالباً ما تنطوي هذه على أكثر من اثنين من الكائنات الحية ويمكن أن تؤدي إلى "شبكة غذائية" معقدة. (انظر الشكل رقم ٤١، ٢ و ١٧، ٨).



الشكل رقم (١٢، ١١). أمثلة من التغذية المتبادلة. (أ) يمكن للسبقيات أن تستخدم السكريات كمصدر للكربون والطاقة ولكن لا تستطيع عمل ذلك الـ *Veillonella* spp. وإحدى المخرجات النهائية للتمثيل الغذائي للسكر بواسطة السبقيات هو اللاكتات، والذي يثبت تراكمه من دورة الانحلال الجليكولي. مع ذلك فيمكن للـ *Veillonella* spp أن تستخدم اللاكتات كمصدر للكربون والطاقة وهذا الاستهلاك للاكتات يزيل من تأثيره التثبيطي على دورة الانحلال الجليكولي في السبقيات. (ب) يمكن لـ *Ent. faecalis* أن تحول الأرجينين إلى أورنيثين (وهو ما لا يمكن لـ *E. coli* أن تقوم به)، حيث يتحول بعد ذلك إلى بوتريسين بواسطة *E. coli*، وهو مركب يمكن لكلا الكائنين أن يستخدمه.

التكافلية هي شكل من التآزر حيث تكون العلاقة فيها بين اثنين من الكائنات الحية علاقة إجبارية. مع ذلك فإن مصطلحات التكافلية والتآزر غالباً ما تستخدم بشكل تبادلي. ويظهر مزيد من الارتباك نتيجة استخدام مصطلح "تكافل" والذي يشير - بالمعنى الدقيق للكلمة - إلى علاقة طويلة المدى بين اثنين من الكائنات الحية، وهو غالباً ما يستخدم كذلك للدلالة على علاقة تكافلية نفعية، أي التكافلية أو التآزر.

إن التنافس هو تفاعل ما، يتأثر فيه كلا الميكروبين بشكل سلبي ويحدث ذلك عندما يستخدم كلا الكائنين نفس المغذيات. وفي النهاية فإن أحد هذين الكائنين سيطرده من هذا الموطن، وهذا التأثير هو مثال لـ "الإقصاء التنافسي".

وعلى سبيل المثال، فإن الهيدروجين يتم إنتاجه في القولون كنتائج ثانوي لعمليات الأيض الميكروبية والمستخدمان الرئيسان لهذا الغاز هما البكتيريا المنتجة لغاز الميثان والبكتيريا المختزلة للكبريتات. وتنافس هاتين المجموعتين من الكائنات الحية للحصول على الهيدروجين، يؤدي إلى وجود علاقة عكسية لنسبتهم في القولون. وفي نموذج لمزرعة مستمرة للقولون، فقد تبين أن التنافس على الكربوهيدرات يؤدي إلى تثبيط نمو كل من *E. coli* و *Clostridium difficile*.

الإضرار أو التضاد ليس تفاعلاً غذائياً، ولكن سوف يتم شرحه هنا باختصار كمثال على التفاعل السلبي - وهو موضوع سيتم تناوله بشيء من التفصيل في الفصول اللاحقة. ويحدث ذلك عندما ينتج كائن حي ما مواد لها سمية ضد كائن حي آخر، أو أن يوجد بيئة تكون غير مناسبة للكائنات الحية الأخرى. والأمثلة لذلك تشمل إنتاج: (١) بروتينات مضادة للميكروبات (بكتيريوسينات) بواسطة العديد من الكائنات الحية في جميع المواقع، (٢) فوق أكسيد الهيدروجين في المهبل بواسطة اللاكتوباسيلي، و (٣) النواتج النهائية الحمضية لعمليات التمثيل الغذائي - قد تحدث تأثيراً سلباً بشكل مباشر/ أو أن تخفض من الرقم الهيدروجيني للبيئة، مما يجعلها غير مناسبة لنمو العديد من الأنواع الميكروبية. ويرجع الرقم الهيدروجيني المنخفض لسطح الجلد - بشكل جزئي - لإنتاج الحمض بواسطة أعضاء الميكروبيوتا للجلد، في حين يرجع - بشكل جزئي - الرقم الهيدروجيني المنخفض للمهبل إلى اللاكتوباسيلي المقيمة هناك.

والتطفل يتضمن كائناً حياً (الطفيل) والذي يستمد متطلباته الغذائية من كائن حي آخر (العائل)، والذي في نهاية المطاف يضار بطريقة أو بأخرى، مثل البكتيريا فاجات (فاجات) حيث تتطفل على البكتيريا. ورغم أنه قد تم رصد الفاجات التي لها القدرة على مهاجمة معظم الميكروبيوتا البشرية، فلا تتوفر سوى معلومات قليلة فيما يتعلق بقدرتها على التأثير على تركيب المجتمعات الميكروبية في موقع ما في الجسم.

والافتراس يتضمن ابتلاع كائن حي (الفريسة) بواسطة كائن حي آخر (المفترس)، مثال لذلك، البكتيريا هي المصدر الغذائي الرئيسي للأوليات أي الميكروبات حقيقية النواة عديمة الجدار الخلوي. وتتواجد الأوليات في تجويف الفم (مثل *Entamoeba gingivalis*) والقناة المعوية (مثل *Dientamoeba fragilis*)، ولكن لا يعرف سوى القليل عن تأثيرها على المجتمعات البكتيرية في هذه المواقع.

وتميل التفاعلات الإيجابية إلى تهيئة "مواطن بيئية" جديدة (يعني المصطلح "مواطن بيئية" الدور الوظيفي لكائن حي في المجتمع الميكروبي، أي مجموع العمليات التي يقوم بها، ولا يشير إلى موقعه في النظام البيئي)، والتي يتم شغلها بواسطة المستعمرين المحتملين الآخرين للموقع، وبالتالي يمكن من استغلال كل الموارد الغذائية المتاحة في الموقع. إن التفاعلات السلبية تعمل كآلية استرجاعية والتي تحد - في نهاية المطاف - من نصاب كائن حي ما في المجتمع. إن مجموع هذه التفاعلات الغذائية السلبية والإيجابية جنباً إلى جنب مع التفاعلات التي تؤثر على الخواص الكيموفيزيائية للموقع (الشكل رقم ١١، ١)، تؤدي في نهاية المطاف إلى "مجتمع الذروة" أو "مجتمع في ذروة النضوج"، حيث تكون فيه الكائنات الحية المكونة له في حالة اتزان ديناميكي. ويتميز مثل هذا المجتمع بآليات اتزان، حيث تمكنه من مقاومة التغيير وتجعله في حالة استقرار من ناحية التركيب - إلا إذا تعرض لتأثير كارثي من الخارج. وجانب هام من جوانب هذا الاستقرار هو "مقاومة الاستعمار"، والذي يمنع من ترسيخ ميكروب ليس عضواً في الميكروبيوتا لهذا

الموقع من الجسم، بمعنى أنه نوع غير أصيل أو نوع خارجي. وكل كائن حي ضمن مجتمع الذروة يشغل موطن بيئي (أي له دور وظيفي) والذي يساهم نحو استقرار المجتمع.

### (٢, ٢, ١) المحددات الكيموفيزيائية Physiochemical Determinants

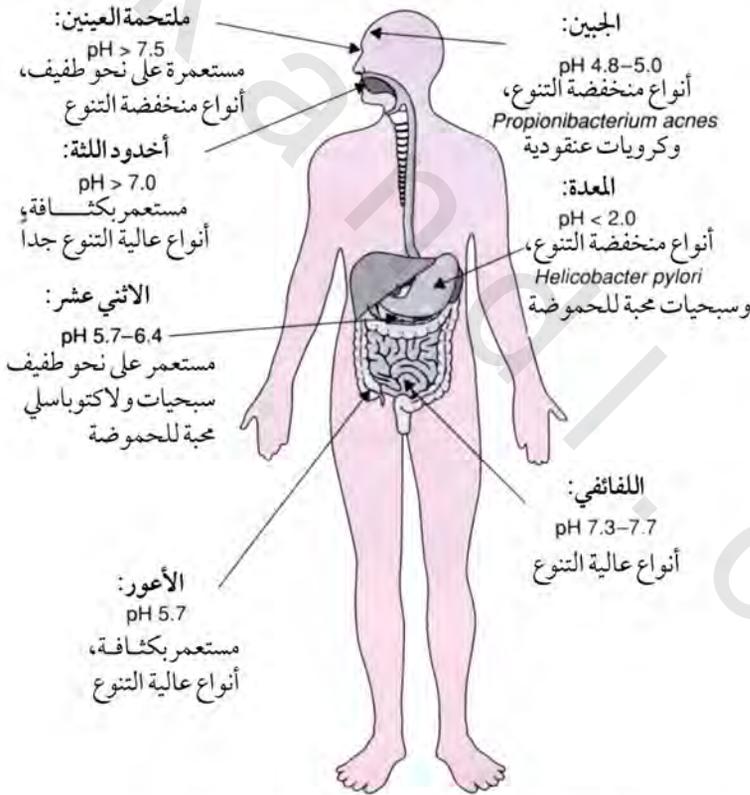
هناك عدد من العوامل الكيموفيزيائية تؤثر على نمو الميكروبات، ولكن ليس جميعها (مثل الضغط الجوي، المجال المغناطيسي) ذات صلة كبيرة بتركيب أو نمو المجتمعات الميكروبية التي تقطن البشر. وذلك لأننا نحن أنفسنا محدودون فيما يتعلق بنوع ونطاق البيئات التي يمكن أن نتحملها، وكذلك فإن آليات الاتزان تضمن بيئة ثابتة إلى حد ما في معظم المواقع المستعمرة بالميكروبات. وتعزز آليات الاتزان هذه بعوامل مثل الملابس، السكن، وتكييف الهواء حيث تساعد في الحماية ضد البيئات الشديدة التي قد يتعرض لها البشر. مع ذلك، وبالرغم من فاعلية آليات الاتزان الخاصة بنا، فإن ملتحمة العين والمناطق المكشوفة من الجلد سوف تشهد تقلبات في درجة الحرارة والرطوبة - على سبيل المثال - أكبر من تلك التي تشهدها مواقع مثل أسطح الأغشية المخاطية للجهاز التنفسي والهضمي. إن أكثر المحددات الكيموفيزيائية أهمية والتي تؤثر على نمو الميكروبيوتا المستوطنة للإنسان هي درجة الحرارة، الرقم الهيدروجيني، جهد الأوكسدة Eh، تركيب الهواء، النشاط المائي، الملوحة، والضوء.

ودرجة الحرارة في معظم مواقع الجسم في الجنس البشري هي ٣٧ درجة مئوية تقريباً. ويقلص ذلك من نوع الميكروب الذي يمكن أن يستعمر البشر في تلك الأنواع الميزوفيلية، أي التي تنمو في نطاق درجة الحرارة ٢٥-٤٠ درجة مئوية، ودرجة الحرارة المثلى للنمو هي ٣٧ درجة مئوية تقريباً. إن درجة حرارة المناطق المكشوفة من الجلد (مثل الوجه واليدين) تميل إلى أن تكون أقل بدرجات مئوية قليلة (حوالي ٣٣ درجة مئوية) من معظم مواقع الجسم الأخرى، وبالرغم من أنه قد تم تسجيل درجات حرارة أقل بكثير من ٣٧ درجة مئوية في هذه المواقع في أولئك الأشخاص الذين يعيشون في المناخ القطبي والمعتدل، فإن ذلك لا يبدو أنه ذو تأثير على أنواع الكائنات الحية التي تستعمر مثل هذه المواقع من الجسم. ودرجة حرارة أسطح الملتحمة قد تكون أقل من تلك التي على الجلد، وهناك بعض البراهين على أن تغير درجة حرارة المناخ تؤثر على تركيب ميكروبيوتا العين، رغم أن التغير في درجة الرطوبة الملازم للعين قد يكون مسئولاً أيضاً - بشكل جزئي - عن ذلك (الفقرة ٣, ٤, ٢).

وعلى النقيض من درجة الحرارة، فإن الرقم الهيدروجيني لمختلف مواقع الجسم يتفاوت بشكل هائل ويتراوح من ١-٢ إلى قيم قلوية (الشكل رقم ١٣, ١). وذلك له تأثير كبير على أنواع الكائنات الحية التي تقطن هذه المواقع. فبينما يتواجد رقم هيدروجيني حامضي جداً في عدد من مواقع الجسم (مثل المعدة، والاثنى عشر، والأعور، والجلد)، فإنه من النادر أن تتواجد بيئات قلوية، وعموماً فإنها توجد فقط في الغشاء الدمعي، اللفائفي، ومنطقة تحت اللثة من تجويف الفم.

وبناءً على نطاق الرقم الهيدروجيني الذي يمكن أن تنمو فيه وكذلك درجة الرقم الهيدروجيني الأمثل للنمو، فإن الميكروبات تصنف إلى محبة للحموضة، محبة للوسط المتعادل، أو محبة للقلوية. والرقم الهيدروجيني الأمثل لنمو الميكروبات المحبة للحموضة - عموماً - يكون أقل من ٥, ٥، الميكروبات المحبة للوسط المتعادل تنمو أفضل عبر

نطاق الرقم الهيدروجيني ٤, ٥ إلى ٨ والميكروبات المحبة للوسط القلوي يكون الرقم الهيدروجيني الأمثل لنموها أكبر من ٨. ومعظم أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة للبشر هي محبة للوسط المتعادل. ويمكن لبعض الكائنات الحية أن تقاوم الحموضة أو القلوية الشديدة وذلك رغم أنها قد لا تكون قادرة على النمو بشكل مثالي في مثل هذه pHs- مثل هذه الكائنات الحية تسمى متحملة للحموضة، أو متحملة للقلوية على التوالي. إن مصطلح "منتجة للحمض" يشير إلى الكائنات الحية التي تنتج منتجات نهائية حامضية من عمليات التمثيل الغذائي، مثل سبقيات، لاكتوباسيلي، وبريونيكتيريا. وعلى الرغم من أن الكائنات الحية المحبة والمتحملة للحموضة - وليس مستغرياً - يتم عزلها من مواقع الجسم ذات الرقم الهيدروجيني المنخفض، فليس كل الكائنات الحية التي تستعمر المواقع الحمضية تنتمي إلى أي من هذه الفئات. ومن ثم، فإن *Hel. pylori* والتي تستعمر أكثر المناطق حموضة في الجسم - المعدة - فهي محبة للوسط المتعادل وليست محبة للحموضة. هذا الكائن الحي يهيئ بيئة دقيقة ذات رقم هيدروجيني قريبة من درجة التعادل بفضل إنتاج الأمونيا من البولين الموجود في العصائر المعدية.



الشكل رقم (١٣, ١). مناطق الجسم التي ليس لديها رقم هيدروجيني متعادل والميكروبيوتا المقترنة بها.

وبينما يتحدد الرقم الهيدروجيني لموقع ما في الجسم بشكل مبدئي بواسطة العائل، فإن أنشطة الميكروبات التي تستعمر ذلك الموقع يمكن كذلك أن تكون ذات تأثير عميق على رقمها الهيدروجيني. ومن ثم، فإن الأنشطة

الأيضية للميكروبات المتواجدة على الجلد وفي المهبل تلعب دوراً رئيسياً في خفض الرقم الهيدروجيني لهذه المواقع. ويؤثر تولد هذه الأرقام الهيدروجينية المنخفضة على تركيب المجتمعات الميكروبية القائمة عن طريق منع الاستعمار بأنواع غير قادرة على البقاء على قيد الحياة في مثل الأرقام الهيدروجينية وهذا مثال لعلاقة الإضرار أو التضاد. ويزداد الرقم الهيدروجيني للقولون تدريجياً كذلك على امتداد طوله حتى قيمه أكثر تعادلاً نتيجة إنتاج الأمونيا بسبب تخمر الأحماض الأمينية بواسطة البكتيريا المقيمة. إن وجود السكريز في الغذاء يمكن من إنتاج الحمض بواسطة السبقيات واللاكتوباسلي الفموية، مما ينتج عنه رقم هيدروجيني منخفض في الأغشية الحيوية التي تتكون على سطح الأسنان. وعلى الرغم من إن نمو كائن حي ما يكون مقتصرأ على نطاق رقم هيدروجيني معين، فقد بينت دراسات أنه عندما يكون الكائن الحي جزءاً من مجتمع مختلط الأنواع، فإن نطاق الرقم الهيدروجيني الذي يستطيع أن ينمو فيه يتسع. إن محتوى الأوكسجين في الهواء في موقع ما هو محدد هام لأي من الأنواع التي سوف تكون قادرة على أن تقيم في الموقع، و - على الأخص - نوع الميكروبات التي يمكن أن تعمل ككائنات حية رائدة للموقع. ومن الممكن تمييز عدد من المجموعات الميكروبية على أساس علاقتها بالأوكسجين الجزئي وذلك مدرج في الجدول رقم (١, ٣).

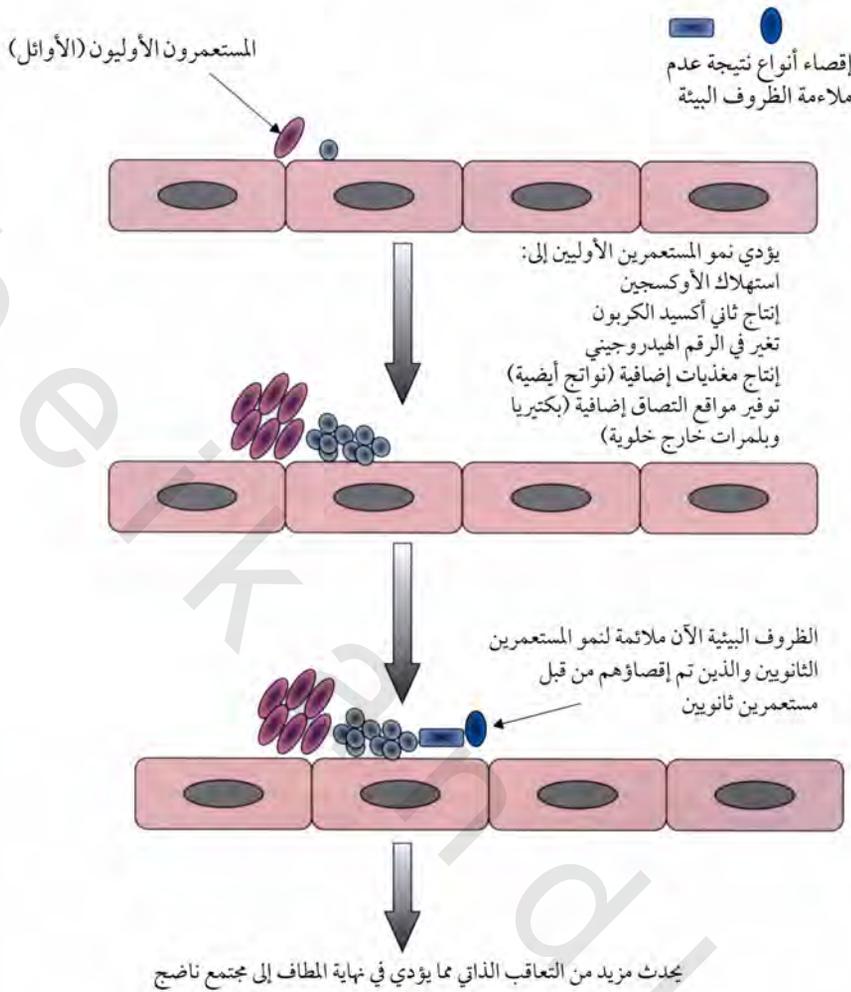
الجدول رقم (١, ٣). تصنيف الميكروبات بناءً على احتياجها من الأوكسجين.

المجموعة الميكروبية	الوصف	أمثلة
ميكروبات هوائية إجبارية	تحتاج الأوكسجين لكي تنمو	<i>Acinetobacter, Moraxella, Micrococcus, Brevibacterium</i>
حبة لثاني أكسيد الكربون (كابنوفيلات)	هوائيات ذات أفضل نمو في تركيزات من ثاني أكسيد الكربون بين ٥ و ١٠٪ - ذلك أعلى من التركيزات الموجودة في الهواء	<i>Neisseria, Haemophilus, Aggregatibacter,</i>
ميكروبات لا هوائية إجبارية	لا تستطيع أن تنمو في وجود الأوكسجين	<i>Bacteroides, Clostridium, Porphyromonas, Fusobacterium, Veillonella, Bifidobacterium, Propionibacterium (some strains), Eubacterium, Ruminococcus</i>
ميكروبات لا هوائية اختيارية	تستطيع أن تنمو في وجود أو غياب الأوكسجين	<i>Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus, Escherichia, Proteus</i>
ميكروبات حبة لتركيزات منخفضة من الأوكسجين (ميكروفيلات)	تنمو أفضل في تركيزات منخفضة من الأوكسجين	<i>Helicobacter, Campylobacter, Lactobacillus (some species), Propionibacterium (some species)</i>

بالرغم من أن البشر يقطنون بيئة هوائية، فإن معظم الميكروبات المستوطنة الخاصة بهم تكون إما لاهوائية إجبارية أو لاهوائية اختيارية وليست هوائية إجبارية. والميكروبات الهوائية الإجبارية لا تتواجد كثيراً في أي من أسطح الجسم، حتى في مواقع مثل الجلد والتجويف الفمي والتي تكون على اتصال دائم بالهواء. عند الولادة، فإن جميع أسطح الفرد تكون هوائية، لذلك يمكن للميكروبات الهوائية الإجبارية أو اللاهوائية الاختيارية فقط أن تستعمر أي موقع في الجسم. مع ذلك، فبمجرد أن يصبح المجتمع الرائد راسخاً، فإن الاستهلاك الميكروبي للأوكسجين وإنتاج ثاني أكسيد الكربون يغير من تركيب الهواء. يهيئ ذلك نطاقاً من المواطن الدقيقة في الموقع، مما يمكن من الاستعمار بواسطة ميكروبات محبة لثاني أكسيد الكربون (كابنوفيلات)، ميكروبات محبة لتركيز منخفض من الأوكسجين (ميكروإيروفيلية)، وميكروبات لاهوائية إجبارية، والتي سوف يؤدي نموها بدوره إلى مزيد من التغير في تركيب الهواء. إن قدرة الميكروبات الهوائية واللاهوائية الاختيارية على إيجاد بيئات مناسبة لنمو ميكروبات لاهوائية إجبارية وميكروبات محبة لتركيز منخفض من الأوكسجين يعد بمثابة نموذج لعملية المطاعمة أو المعايشة والتعاقب الذاتي ضمن موطن ما (الشكل رقم ١٤، ١). وأمثلة خاصة لذلك تشمل استعمار سطح الأسنان بواسطة السبقيات اللاهوائية الاختيارية والذي يتبعه ترسيخ كبتيريا لاهوائية إجبارية مثل *Veillonella spp* و *Fusobacterium spp*. وسوف ترد في الفصول اللاحقة أمثلة أخرى عديدة من التعاقب الذاتي الذي يتم تحفيز حدوثه بواسطة التغيرات في التركيب الغازي للموقع.

وذا صلة بالمحتوى الأوكسجيني لموقع ما، هو جهد الأوكسدة  $redox\ potential (Eh)$  وهو مقياس للقوة الاختزالية لنظام ما، وهو ذو تأثير هام على سير التفاعلات الإنزيمية المنطوية على تفاعلات الأوكسدة والاختزال المتزامنة للمركبات. ويمكن لبعض الكائنات الحية أن تنجز مثل هذه التفاعلات في البيئة المؤكسدة فقط، في حين أن البيئة الاختزالية تكون أساسية لميكروبات أخرى. إن الميكروبات الهوائية الإجبارية تكون نشطة فقط في البيئة ذات جهد الأوكسدة  $Eh$  الموجب، في حين تحتاج الميكروبات اللاهوائية إلى جهد أوكسدة  $Eh$  سالب. ويمكن للميكروبات اللاهوائية الاختيارية أن تعمل عبر نطاق واسع من قيم  $Eh$ . ونتيجة خواصه المؤكسدة القوية، فإن وجود الأوكسجين في بيئة ما يحدث أثر دراماتيكي على  $Eh$  الخاص بها. ومع ذلك فنتيجة الاستهلاك السريع للأوكسجين بواسطة الميكروبات المتنفسة، فقد يكون الموقع على اتصال بالأوكسجين الجوي ولكنه يكون ذا محتوى منخفض من الأوكسجين وجهد أوكسدة  $Eh$  سالب بشكل كافٍ لكي يسمح للميكروبات اللاهوائية الإجبارية بالبقاء على قيد الحياة. وأمثلة لمثل هذه المواقع تشمل الأغشية الحيوية على أسطح الأسنان (الفقرة ٣، ٣، ٨)، مناطق عديدة من الأغشية المخاطية للجهاز التنفسي (الفقرة ١، ٣، ٤)، وبصيلات الشعر (الفقرة ٣، ٢). إن إنتاج جهد أوكسدة  $Eh$  سالب بواسطة الكائنات الحية الهوائية واللاهوائية الاختيارية - بالتالي تخلق بيئة مناسبة لنمو الميكروبات اللاهوائية الإجبارية - هو مثال آخر للمطاعمة والذي يؤدي إلى التعاقب الذاتي.

ويحفز ثاني أكسيد الكربون من نمو الكائنات الحية المحبة لثاني أكسيد الكربون (كابنوفيلية) مثل *Haemophilus spp* و *Neisseria spp* وتنمو مثل هذه الكائنات الحية نمواً ضعيفاً في الهواء ذي التركيزات العادية من الغاز وهي معتمدة على ثاني أكسيد الكربون الذي ينتجه العائل أو التنفس الميكروبي.



الشكل رقم (١٤، ١). التعاقب الذاتي داخل موطن ما. يغير المستعمرون الأوائل لموطن ما من الظروف البيئية بعدد من الطرق، مثل استهلاك المغذيات والأوكسجين، وعن طريق إنتاج مخرجات أيضية نهائية وإفراز جزيئات كبيرة. ولذلك تهيئ مواقع التصاق ومغذيات إضافية جنباً إلى جنب مع الظروف البيئية المختلفة (مثل الرقم الهيدروجيني، أو جهد الأكسدة، أو تركيز الأوكسجين) مما يُمكن كائنات حية أخرى (مستعمرون ثانويين) من أن ترسخ من نفسها في الموقع. ويمكن للأخيرة ذاتها بعد ذلك أن تغير من البيئة، مما يسمح لكائنات حية أخرى أن تستعمر الموطن. وفي نهاية المطاف ينشأ مجتمع ناضج في الموقع.

النشاط المائي (water activity) ( $a_w$ ) لموقع ما هو مؤشر لنسبة الماء المتاح للنشاط الميكروبي ودائماً ما يكون أقل من الكمية الكلية للماء الموجود، حيث إنه يتأثر بتركيز المذابات وكذلك بوجود الأسطح. والماء النقي تكون قيمة  $a_w = 1$ ، وتحتاج الخلايا البشرية لـ  $a_w = 0.977$  لكي تنمو. والعديد من الميكروبات التي تستعمر البشر تحتاج إلى  $a_w$  على الأقل

٩٦, ٠ من أجل أيض غذائي نشط (الجدول رقم ٤, ١)، ويمكن لمعظم المواقع أن توفى بهذا المطلب - باستثناء العديد من مناطق الجلد. ويمكن للمكورات العنقودية - وخلافاً للعديد من الميكروبات - أن تنمو في  $a_w$  منخفض إلى ما يصل إلى ٨٥, ٠ ولذلك فهي قادرة على أن تستعمر المناطق الجافة من الجلد مثل الذراع، والساق وراحة اليد (الفقرة ٣, ٢).

الجدول رقم (٤, ١). النشاط المائي المطلوب لدعم النمو لمختلف الميكروبات.

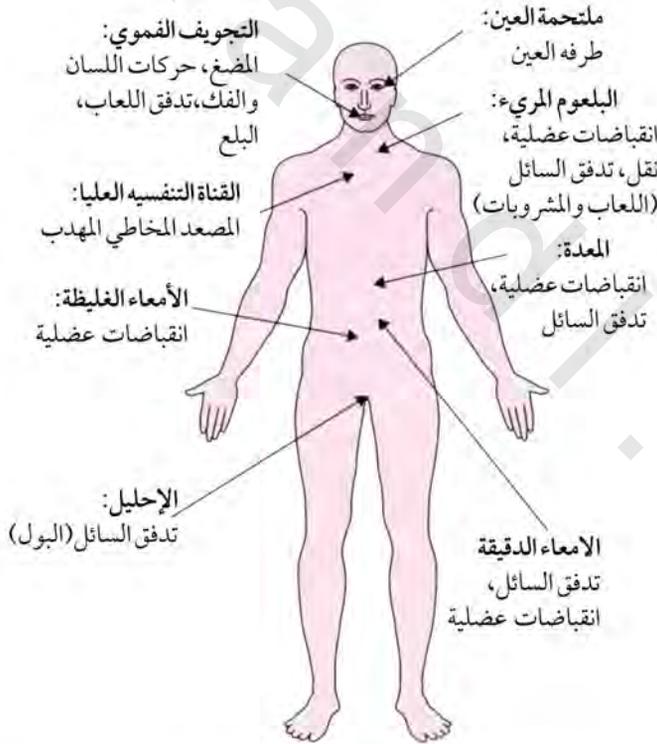
فئة الكائن الحي	أمثلة	النشاط المائي ( $a_w$ )
عصويات سالبة الجرام	نطاق من الفئة	٩٤, ٠ - ٩٧, ٠
	<i>E. coli</i>	٩٥, ٠
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	٩٤, ٠
عصويات موجبة الجرام	<i>Clostridium spp.</i>	٩٥, ٠ - ٩٧, ٠
	<i>Lactobacillus spp.</i>	٩٥, ٠ - ٩٧, ٠
	كرويات موجبة الجرام	نطاق من الفئة
<i>Micrococcus luteus</i>		٩٣, ٠
<i>Staph. aureus</i>		٨٦, ٠
معظم العنقوديات سالبة الكواجيليز	<i>Staphylococcus spp.</i>	٩, ٠ - ٩٥, ٠
	<i>Corynebacterium spp.</i>	٩, ٠ - ٩٥, ٠
	<i>Micrococcus spp.</i>	٩, ٠ - ٩٥, ٠
	الميكروبات المحبة للملوحة (هالوفيلات)	نطاق من الفئة

إن التركيزات العالية من الملح تضر بالعديد من الميكروبات حيث إنها تسبب نزع الماء وتختثر البروتينات. ونتيجة تبخر العرق، فإن الأملاح تتواجد في مناطق عديدة من الجلد مما ينتقي الاستعمار بواسطة الكائنات الحية المقاومة للملوحة مثل العنقوديات (الفقرة ٣, ٢). والمحتوى الملحي لمواقع جسم الإنسان - بخلاف الجلد - لا يحدث تأثيراً انتقائياً حيث إنه في الحدود التي يمكن لمعظم الميكروبات أن تتحملها.

تحتوي أشعة الشمس على أشعة فوق بنفسجية ضارة جداً، ويمكن كذلك أن تحفز من تولد أيونات حرة سالبة سامه وأنواع من الأوكسجين المتفاعل النشط من المركبات التي تعرف بـ «مركبات ضيائية». ويتعرض كل من الجلد والعين للضوء، ولكن هناك أدلة ضعيفة على أن الضوء يحدث أثراً انتقائياً على الميكروبات التي تقطن هذه المواقع.

## Mechanical Determinants المحددات الميكانيكية (١، ٢، ٣)

تتولد في بعض مناطق الجسم - أساساً في القناة الهضمية والقناة البولية - قوى ميكانيكية حيث تؤثر على قدرة الميكروبات على استعمار مثل هذه المواقع (الشكل رقم ١٥، ١). ومن ثم ففي التجويف الفموي، المعدة والمناطق العليا من الأمعاء الدقيقة، فإن تدفق اللعاب أو إفرازات الأمعاء تخلق قوى جز هيدروديناميكية والتي يمكن أن تزيل الميكروبات غير الملتصقة بأسطح الأغشية المخاطية. وفي المناطق السفلى للقناة الهضمية (المعدة والأمعاء الدقيقة والغليظة)، فإن الموجات المتعاقبة وغيرها من حركة الأمعاء سوف تزيل أيضاً لإزالة الميكروبات غير الملتصقة. وتتمارس هذه القوى الميكانيكية دوراً انتقائياً بحيث تفضل الكائنات الحية القادرة على الالتصاق بأسطح العائل. وبالمثل في القناة الهضمية يُزيل تدفق البول المتكرر الميكروبات غير الملتصقة بالخلايا الطلائية للقناة البولية. وفي تجويف الفم، فإن حركة اللسان وعملية المضغ للأسنان تولد قوى ميكانيكية كبيرة والتي قد تكون كافية لإزالة البكتيريا الملتصقة بالغشاء المخاطي وبالأسنان. ويشجع ذلك من استعمار المواقع المحمية من هذه القوى مثل تلك الموجودة بين الأسنان وفي أخدود اللثة (الفقرة ١، ٣، ٨).



الشكل رقم (١٥، ١). مواقع الجسم التي تكون فيها المحددات الميكانيكية ذات تأثير كبير على الميكروبيوتا المستوطنة.

وبينما لا توجد قوى هيدروديناميكية قوية تعمل في القناة التنفسية، فإن إنتاج "بطانية" من المخاط والتي يتم دفعها بشكل مستمر باتجاه تجويف الفم تقوم بحصر وطرده الميكروبات التي تصل إلى هذه المنطقة - ويعرف هذا النظام

"بالمصعد المخاطي ذو الأهداب" (الفقرة ٢, ٤). والكائنات الحية القادرة على الالتصاق بالطبقة الطلائية الكامنة أو بالطبقة الأكثر سكوناً المحيطه بالأهداب الواقعة تحت الطبقة المخاطية، هي فقط القادرة على استعمار القناة التنفسية. إن المجتمعات الميكروبية التي تستعمر أي موقع في الجسم (بخلاف تلك الموجودة على أسطح الأسنان) تكون ملتصقة بالأسطح الطلائية والتي تكون في حالة تساقط مستمر. ويعني ذلك أن الميكروبيوتا لأي موقع (بخلاف تلك الموجودة على الأسنان) تكون عرضة لتآكل ميكانيكي مستمر. وتتساقط الميكروبات المتواجدة على الجلد والقناة البولية التناسلية مباشرة إلى البيئة - رغم أنها تحتجز بشكل مؤقت بواسطة الملابس - في حين أن الميكروبات التي تساقط من الغشاء المخاطي المعوي تصبح جزءاً من ميكروبيوتا التجويف لعدة ساعات قبل أن تطرد إلى البيئة. وفي القناة التنفسية فإن المصعد المخاطي ذا الأهداب يقوم بنقل الميكروبات لتجويف الفم حيث يتم بلعه أو طرده إلى البيئة الخارجية.

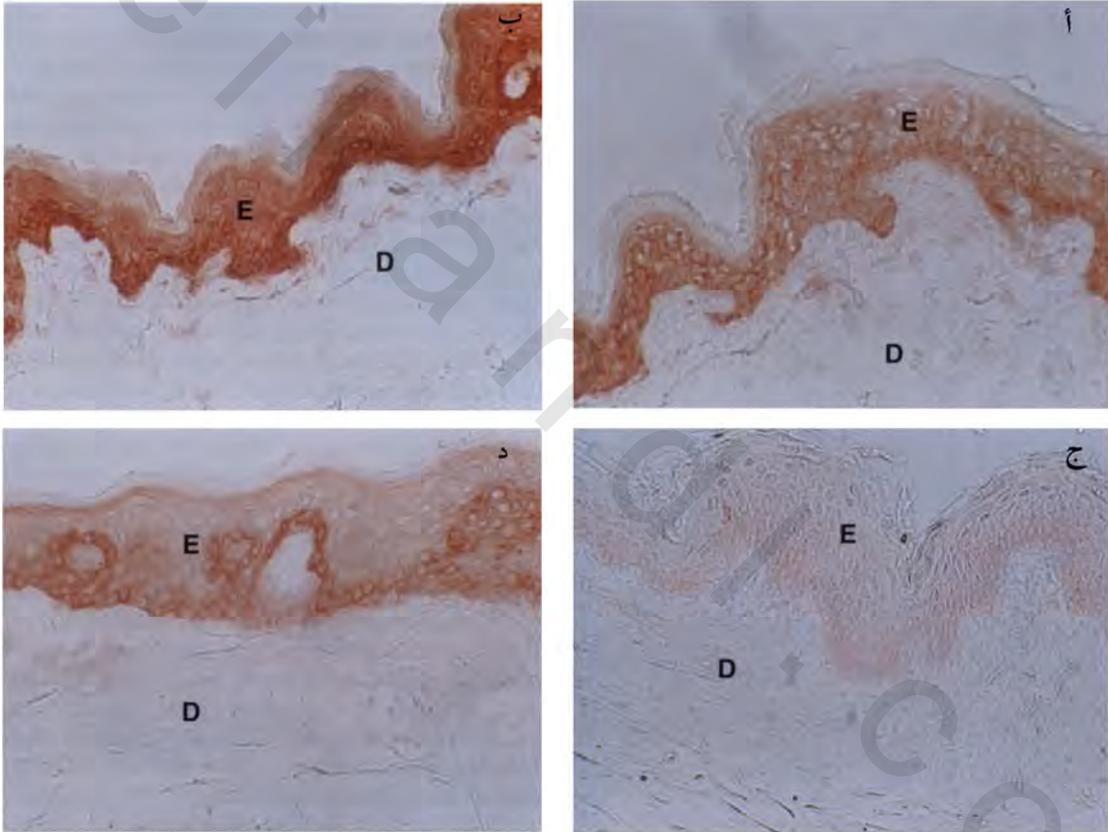
#### (٤, ٢, ١) المحددات البيولوجية Biological Determinants

تنتج أنظمة المناعة الطبيعية والمكتسبة للبشر مجموعة متنوعة من الجزيئات والخلايا المنشطة التي تقتل الميكروبات، تثبط من نموها، تمنع التصاقها بالأسطح الطلائية، وتعادل السموم التي تنتجها. والجزيئات والخلايا المستجيبة في هذه الأنظمة، والتي تتواجد على الأسطح المستعمرة بواسطة الميكروبات المستوطنة، سيتم الإشارة إليها هنا باختصار على أن يتم شرحها بمزيد من التفصيل في الفقرات المناسبة للفصل الثاني إلى التاسع.

وينطوي نظام المناعة الطبيعية على العديد من الأنواع المختلفة من الخلايا بما في ذلك خلايا طلائية، ومونوسيتات، وماكروفاجات، وكرات الدم البيضاء مفصصة النواة (PMNs) polymorphonuclear leukocytes، وخلايا طبيعية قاتلة (NK) Natural Killer، وخلايا متفرعة، وأنصبة تحتية متنوعة من الليمفوسيت والتي تقوم بربط أنظمة المناعة الطبيعية والمكتسبة ببعضها البعض. إن الاستجابات التي تتضمن أنواعاً مختلفة من الخلايا يتم التنسيق فيما بينها بواسطة السيتوكينات وجزيئات إشارة أخرى. ويؤدي هذا النظام إلى تحرير مجموعة متنوعة من الجزيئات المستجيبة إلى الأسطح الخارجية للخلايا الطلائية والتي تشمل ببتيدات مضادة للميكروبات، وليسوزيم، ولاكتوفيرين، وإنزيم لاكتوبرير أوكسيديز، وإنزيم فوسفوليباز A<sub>2</sub> الإفرازي، وكوليكتينات. وسوف يتم شرح أنشطة ووظائف هذه الجزيئات بمزيد من التفصيل لاحقاً (الفقرة ٤, ٥, ١). مع ذلك فمن أجل إبداء استجابة دفاعية ضد عمرضات ميكروبية، فيجب على جهاز المناعة الطبيعية أولاً وقبل كل شيء أن يتعرف على وجود مثل هذه الكائنات الحية وأن يكون قادراً على التمييز بينها وبين الميكروبيوتا المستوطنة. ولقد بدأنا في الآونة الأخيرة فقط في فهم الآليات الكامنة وراء عمليات التعرف والتمييز تلك.

وتستند عملية التعرف على قدرة الخلايا البشرية على رصد مكونات ميكروبية تركيبية أساسية والتي تعرف بـ "أنماط جزيئية مقترنة بالميكروب" (MAMPs) "microbe-associated molecular patterns" وكانت MAMPs تعرف في الأصل بـ "أنماط جزيئية مقترنة بالمرض" (PAMPs). ومع ذلك، وحيث إن الجزيئات التي يشملها هذا المصطلح (انظر أسفل) موجودة كذلك في الغالبية العظمى من الأنواع غير المرضية، فإن المصطلح MAMPs هو المناسب

أكثر. وتشمل MAMPs جزيئات مثل ليبوعديدسكريدات (LPS)، حمض ليبوتيكويك (LTA)، وبيتيدوجليكان، وليبوبروتينات، وبروتينات). ويتم التعرف على هذه الجزيئات بواسطة "مستقبلات التعرف على النمط" pattern-recognition receptors (PRRs)، ومنها مجموعة من بروتينات عابرة للغشاء والتي تعرف بـ "مستقبلات شبيهة الناقوس" Toll-like receptors (TLRS)، وهي ذات أهمية على نحو خاص. وهي تتواجد على نيوتروفيلات، ومونوسيتات، وماكروفاجات، وخلايا متفرعة وخلايا طلائية (انظر الشكل رقم ١٦، ١) وكذلك أشكال أخرى في الفصل الثاني إلى التاسع). ولقد تم التعرف - حالياً - على ١١ TLRs مختلف في خلايا بشرية، وكل منها يتعرف على واحد أو أكثر من MAMPs، رغم أنه في بعض الأحيان يتطلب التعرف على بعض MAMPs اثنين من TLRs (الجدول رقم ٥، ١).



الشكل رقم (١٦، ١). إنتاج TLRs في جلد بشري سليم، تم رصده بواسطة الصبغة المناعية (D: الأدمة، E: البشرة)، وتشير المناطق المصبوغة باللون البرتقالي إلى إنتاج (أ) TLR1، (ب) TLR2، (ج) TLR3، و (د) TLR4. تكبير  $\times 250$ . مستنسخة بتصريح من:

دار بلاك ويل للنشر المحدودة Blackwell Publishing Ltd، أو كسفورد، المملكة المتحدة من: Baker, B.S., Ovigne, J.M.,

.Powes, A.V., Corcoran, S. and Fry, L., (2003) *Br J Dermatol* 148, 670-9

يعمل التفاعل بين TLRs والجزء المكمل له (الليجاند) على تنشيط مسار إشاري في خلية العائل، مما يؤدي إلى تنشيط العديد من عوامل النسخ الجيني بما في ذلك NF-KB وعوامل منظمة إنترفيرونية. والنتيجة النهائية هي تحفيز للالتهاب وترسيخ الاستجابات المناعية التكيفية. وتحرر السيتوكينات الالتهابية - تشمل IL-1، IL-6، IL-12 و TNF $\alpha$  - وتقوم

بتنشيط الخلايا المحيطة لإنتاج كيموكينات أو جزيئات التصاق، مما ينتج عنه تطويع الخلايا الالتهابية إلى الموقع. ويتم تنشيط الماكروفاجات والنيوتروفيلات الموطوعة حيث يمكن أن تقتل الميكروبات التي تواجهها. ويتم تحفيز الخلايا المعرضة للأنتيجين ويؤدي ذلك إلى تنشيط تصنيع خلايا T الطبيعية المتخصصة ضد الأنتيجين، وبالتالي تستحث الاستجابة المناعية التكيفية. ويمكن لتنشيط TLRs أن يؤدي كذلك إلى زيادة إنتاج ببتيدات مضادة للميكروبات.

الجدول رقم (١,٥). المستقبلات الشبيهة بالناقوس TLRs، والمكونات الميكروبية التي تميزها.

المستقبل (المستقبلات) الشبيهة بالناقوس (TLRs)	الـ MAMPs التي يتم تمييزها
TLR1 (مع TLR2)	ببتيدات دهنية ثلاثية الأسيل البكتيرية
TLR2 (دائماً مع TLR6)	ببتيدات بكتيرية، أحماض التيكويك الدهنية، بيتيدوجليكان، أرابينومانان الدهني (ميكوبكتيريا)، وحدات من <i>Staph. epidermidis</i> التي تذوب في الفينول، جليكوانيسيتول الدهنية الفوسفاتية ( <i>Trypanosoma cruzi</i> )، جليكوليبيدات ( <i>Treponema maltophilum</i> ) بورينات ( <i>Nisseria spp.</i> )، زيموسان (فطريات)، هياجلوتينين (فيروس الحصبة)
TLR3	الدنا الفيروسي ثنائي الشريط
TLR4	عديد السكاريدات الدهني، بروتين إندماج (فيروس المخلي التنفسي)، بروتين الصدمة الحرارية ٦٠ ( <i>Chlamydia pneumoniae</i> )
TLR5	الفلاجيلين من السوط البكتيري
TLR6 (دائماً مع TLR2)	ببتيدات بكتيرية دهنية ثنائية الأسيل
TLR7	رنا فيروسي أحادي الشريط
TLR8	رنا فيروسي أحادي الشريط
TLR9	دنا فيروسي وبكتيري
TLR10	غير معروف
TLR11	غير معروف

وتوجد مجموعة أخرى من PRRs داخل الخلايا الحيوانية - هي نوعان من البروتينات السيتوبلازمية الذائبة NOD1 و NOD2 (انظر الشكل رقم ٨,٨). ويتعرف الـ NOD1 على بيتيدوجليكان من البكتيريا سالبة صبغة الجرام فضلاً عن *Listeria spp* و *Bacillus spp*، في حين يتعرف الـ NOD2 على ميوراميل ثنائي البيبتيد، وهكذا يمكن أن يرصد تواجد كل من الأنواع موجبة وسالبة صبغة الجرام. إن التعرف على الليجاندا المكمل بواسطة بروتين الـ NOD يؤدي إلى تنشيط عامل النسخ الجيني NF-KB وتحرير سيتوكينات الالتهابي البدائي وتشمل TNF و IL-1 $\beta$ ، IL-8، IL-6، وسوف تتولد مثل هذه الاستجابة الالتهابية بواسطة هذا النظام فقط عندما تهاجم الميكروبات خلايا العائل أو عندما تمتص خلية العائل الـ MAMP ذاتها.

الكثير جداً عن "التعرف"، ولكن ماذا عن التمييز؟ أقل بكثير هو ما يعرف عن كيف يقوم نظام المناعة الطبيعية بالتمييز بين أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة - التي يسمح لها بالبقاء - والآخرين - الأنواع التي يمكن أن تكون ضارة - والتي تقوم بطردها. إن العائل قد يستخدم مجموعات من TRRs للتعرف على ميكروب محدد - أو نوع من الميكروب - وهكذا ربما يكون قادراً على التمييز بين أنواع الميكروبيوتا الطبيعية الأصلية والخارجية أو الأجنبية.

بناءً على طبيعة الميكروب، فسوف يتم تنشيط مجموعة من مسارات الـ TLR الإشارية، وقد يتم التعرف على الإشارة النهائية المتولدة بواسطة العائل على أنها خاصة إما بميكروب "صديق" أو "معادي"، وبالتالي تتولد الاستجابة المناسبة. وهناك أيضاً أدلة على أن بعض أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة - بخلاف الأنواع الخارجية - تكون قادرة على تثبيط الاستجابة الالتهابية والتي لولا حدوث ذلك كان سيتم تحفيزها بعد التعرف على MAMPs الخاص بها بواسطة الـ TLRs. علاوة على ذلك، فليست كل خلايا العائل تنتج كل الـ TLRs، حيث أن إنتاج هذه الـ PRRs يكون مختلفاً على الأسطح القمية عن الجانبية القاعدية، ففي الخلايا الطلائية المعوية، يكون إنتاج TLRs منخفضاً بشدة على أسطحها القمية، ولذلك فإن هذه الخلايا لا تستجيب لبعض الـ MAMPs الموجودة على البكتيريا في التجويف، ولذلك لا تستحث استجابة التهابية. ومع ذلك فإن غزو الممرضات لمثل هذه الخلايا سيقوم بتحفيز استجابة التهابية وقائية، وذلك بعد التعرف على البيبتيدوجليكان بواسطة بروتينات Nod. ويتج TLR5 فقط على السطح الجانبي القاعدي للخلايا الطلائية المعوية، وبالتالي لن يتم تنشيط مسار إشاري بواسطة تواجد الفلاجيلين على البكتيريا في التجويف. مع ذلك، فإن اختراق الحاجز الطلائي يؤدي إلى وصول الكائنات الحية إلى السطح الجانبي القاعدي للخلايا الطلائية، والذي سوف يؤدي إلى حث استجابة التهابية وقائية عن طريق تنشيط الـ TLR5.

ولقد سجل في الآونة الأخيرة أن تنشيط TLR9 على الأسطح القمية والجانبية القاعدية للخلايا الطلائية المعوية يؤدي إلى استجابات مختلفة - يحد الأول على خفض شلالات إشارية مسئولة عن تعزيز استجابة التهابية، بينما يقوم الأخير بعمل العكس. ولقد اقترح كذلك أن تنشيط مسارات الـ TLR الإشارية بواسطة كائنات حية خارجية قد يتطلب وجود عوامل فوعة ميكروبية خاصة تعمل كعوامل مساعدة.

ويشمل النظام المناعي المكتسب أيضاً عدداً كبيراً من أنواع مختلفة من الخلايا بما في ذلك بعض من أولئك المشاركين في المناعة الطبيعية، ولكن المحركين الرئيسيين في هذا النظام هما الليمفوسيتات B و T. ومرة أخرى، فإن تنسيق الاستجابة يتم أساساً بواسطة السيتوكينات. وأهم جزيء مستجيب في الاستجابة المناعية المكتسبة فيما يتعلق بالميكروبات المستوطنة هو الجلوبيولين المناعي الإفرازي A (sIgA)، حيث يستطيع أن يصل إلى الأسطح الخارجية للطبقة الطلائية، وهكذا يتراكم على مواقع الاستعمار الميكروبي (الشكل رقم ١٧، ١). ويتواجد كذلك IgG على أسطح الأغشية المخاطية ولكنه - باستثناء القناة التناسلية الأثوية - يتواجد بتركيز أقل من IgA. ومن جميع الأجسام المضادة التي ينتجها البشر، فإن sIgA ينتج بأكثر كمية - بين ٥ و ١٥ جم في اليوم الواحد في الأشخاص البالغين.

والـ IgA هو منشط ضعيف فقط للمتمم، وهو أوسونين ضعيف. مع ذلك، فإن إحدى وظائفه الرئيسية هي منع التصاق البكتيريا بتركيب العائل، ويتحقق ذلك عن طريق ارتباط الـ sIgA باللواصق البكتيرية، وبالتالي تمنع تفاعلها

مع المستقبلات الموجودة على أنسجة العائل. إن ارتباط IgA بالميكروبات لا يمنعها فقط من الارتباط بسطح الغشاء المخاطي ولكن يمكن أن يؤدي كذلك إلى تكوين تجمعات حيث يكون التخلص منها أسهل من الميكروبات الفردية، والتي يتم التخلص منها بواسطة السوائل مثل البول، اللعاب، أو الدموع. إن الخلايا المستجيبة الخاصة بأنظمة المناعة الطبيعية والمكتسبة والتي قد تتواجد على الأسطح الطلائية في غياب عدوى تشمل PMNs وماكروفاجات، ولكن لا يعرف سوى القليل عن قدرتها على التأثير على تركيب الميكروبيوتا المستوطنة. ومن المعتقد أن الماكروفاجات ذات أهمية في منع استعمار المناطق السفلى للقناة التنفسية بواسطة الميكروبات المستنشقة.



الشكل رقم (١٧, ١). صور مجهرية للقولون مصبوغة بـ FITC-anti-IgA (اللون الأخضر). تتواجد كمية كبيرة من IgA (اللون الأخضر) في المخاط. تتواجد البكتيريا (لون أصفر- برتقالي، مشار إليها بالسهم) في طبقات المخاط (لون رمادي، مشار إليها بالسهم ثنائي الرأس) والعديد منها مغلف بـ IgA. شريط المقياس ١٠ ميكرومتر. منقول من لينيكوت، ويليامز، ويلكينز، فيلادلفيا، بنسلفانيا، الولايات المتحدة الأمريكية من: van der waaij, L.A., Harmsen, H.J., Madjipour: M. et al. (2005) Bacterial population analysis of human colon and terminal ileum biopsies with 16S rRNA-based fluorescent probes: Commensal bacteria live in suspension and have no direct contact with epithelial cells *Inflamm*

.Dowel Dis 11, 865-71

وفي حين أن أنظمة الدفاع المناعية الطبيعية والمكتسبة هامة في الدفاع ضد الممرضات الميكروبية، فإن دورها الدقيق في تنظيم الميكروبيوتا المستوطنة غير مؤكد. ويرجع ذلك إلى أن معظم البحوث عن الاستجابات المناعية

للميكروبات قد ركزت على دورها في مكافحة الميكروبات المرضية، وليس على تفاعلاتها مع الأنواع المستوطنة. ولذلك فلا يعرف سوى القليل عن الآليات التي تمكن المجتمعات الميكروبية المستوطنة من البقاء حية وتحمل العائل لها المدى طويل، أو لماذا لم تقم هذه الكائنات الحية بحث استجابة التهائية مزمنة متلفة. ومما يثير الدهشة بالتأكيد، أنه لا تتولد استجابة التهائية نتيجة مثل هذه الأعداد الهائلة من الميكروبات والتي تملك مجموعة من العوامل القادرة على تحفيز تحرير سيتوكينات الالتهابي البدائي من خلايا العائل.

ولقد اقترح أن الأنظمة المناعية للعائل لا تستجيب لأعضاء الميكروبيوتا المستوطنة، بمعنى أن العائل يبدي "تسامح". ويدعم هذا الاقتراح نتائج عدد من الدراسات التي أجريت داخل الجسم الحي. والتي أثبتت أن الليمفوسيتات لا تتوالد كاستجابة للميكروبيوتا المعوية المستوطنة الخاصة به، في حين أنها تتوالد عندما تتعرض لميكروبات من نفس الأنواع من أمعاء أفراد آخرين. علاوة على ذلك، فإن الاستجابة المناعية المستحثة في الفئران التي تم حقنها بسلالات *Bacteroides spp.* أو *E. coli* الفئرانية تكون مخفضة بشكل كبير بالمقارنة بالاستجابة المناعية الناتجة من الحقن بالسلالات الإنسانية المناظرة من هذه الكائنات الحية.

ولقد اقترح أن هذا التسامح هو نتيجة أوجه التشابه الوثيق بين الأنتجينات السطحية للعديد من الميكروبات المستوطنة وتلك الخاصة بأنسجة العائل. ويؤدي ذلك أن الجهاز المناعي يميز هذه الكائنات الحية على أنها "ذاتية"، ويكون ذلك مفيداً لكل من الميكروبات (حيث يتوفر لها موطن مناسب لنموها) والعائل البشري حيث يتوفر له ميكروبيوتا مستوطنة والتي تمنحه العديد من الفوائد. مع ذلك، فقد أظهرت دراسات أخرى أن بعض الميكروبات المستوطنة يمكن أن تستحث مناعة الأجسام المضادة والاستجابات المناعية الأخرى، وأن بعض (وليس كل) الكائنات الحية في الأمعاء وعلى سطح الجلد تكون مغطاة في sIgA. علاوة على ذلك، فقد تم رصد أجسام مضادة ضد العديد من الميكروبات المستوطنة (مثل *Veillonella spp. Bacteroides fragilis* والسبحيات الفموية) في أمصال أفراد أصحاء. وفي حين أن الميكروبات المستوطنة قد تكون قادرة على حث إنتاج أجسام مضادة، فلا يبدو أن الجزئيات المستجبة ذات دور رئيسي في تنظيم تركيب الميكروبيوتا المستوطنة. ومن ثم رغم أن أوجه القصور في إنتاج sIgA شائعة نسبياً، فإن تركيب المجتمعات التي تستعمر مثل هؤلاء الأفراد لا تختلف كثيراً عن تلك الموجودة في الأفراد بدون مثل هذا القصور. وبالمثل، فيبدو أن فقدان وظيفة خلايا T يكون ذا أثر ضئيل على تركيب الميكروبيوتا المعوية.

في المقابل، فإن الجهاز المناعي الطبيعي قد يلعب دوراً مهماً في التحكم في الاستعمار وتنظيم تركيب الميكروبيوتا في موقع ما في الجسم. إن أسطح الأغشية المخاطية تفرز عدداً من المركبات المضادة للميكروبات وينتج الغشاء المخاطي لموقع معين مجموعة خاصة من هذه المركبات، وكل منها ذو نطاق محدد مضاد للميكروبات. وتنتج بعض هذه المركبات بشكل مستمر (بنائي)، في حين ينتج البعض الآخر فقط كاستجابة لسيتوكينات معينة أو كاستجابة لوجود كائن معين (الفقرة ٤، ٥، ١). لذلك، فمن المرجح أن الخليط المميز من المركبات المضادة للميكروبات والذي ينتج في موقع ما من الجسم من شأنه أن يؤثر على نوع الميكروبات القادرة على استعمار ذلك الموقع. وسيرد شرح الاستجابات المناعية الأخرى للخلايا الطلائية ضد الميكروبيوتا المستوطنة في الفقرة (٤، ٥، ١).

إن إنتاج الهرمونات والتقلبات في تركيزاتها من شأنه أن يحدث أثراً عميقاً على بيئة مواقع معينة من الجسم. على

سبيل المثال، فإن زيادة إنتاج الإفرازات الدهنية أثناء فترة المراهقة تؤدي إلى تغيرات جذرية في بيئة الجلد. وكذلك فإن إنتاج هرمون الإستروجين والبروجيستيرون يغير من بيئة المهبل في المراحل المختلفة من حياة الأنثى (أثناء الحيض وسن اليأس) فضلاً عن فترة الدورة الشهرية للسيدات في مرحلة من بدء نزول الحيض/ قبل انقطاع الطمث (انظر الفقرة ٣، ٦).

ويجب على الميكروبات التي تصل لموقع ما في الجسم أن تتعامل ليس فقط مع أنظمة العائل الدفاعية، ولكن أيضاً مع المركبات المضادة للميكروبات التي تنتجها الكائنات الحية الموجودة فعلاً. وكما تم الإشارة في الفقرة (١، ٢، ١)، فإن الميكروبات المستوطنة للبشر تنتج نطاقاً كبيراً جداً من مواد مضادة للميكروبات (بكتيريوسينات، أحماض دهنية، فوق أكسيد الهيدروجين، إلخ)، وسيرد شرح ذلك بتفصيل أكبر في الأقسام المناسبة في الفصل الثاني إلى التاسع. وهناك اهتمام بالغ في استخدام الميكروبات التي تنتج هذه المركبات لمنع أو علاج الأمراض المعدية، بمعنى في صورة بروبيوتك أو في العلاج البديل.

### (١، ٣) خصائص العائل التي تؤثر على الميكروبيوتا المستوطنة

#### Host Characteristics that Affect the Indigenous Microbiota

إن الآثار التي تترتب على العوامل الخاصة بالعائل على تركيب المجتمع الميكروبي الذي يشغل موقعاً معيناً في الجسم سوف يتم مناقشتها طوال باقي الكتاب. ونتيجة الاختلافات الموجودة بين أفراد الجنس البشري، فإن الظروف البيئية التي يوفرها العائل في موقع معين من الجسم سوف تتفاوت من شخص لآخر. وبعض من العوامل العديدة التي تؤثر على الظروف البيئية في موقع ما في الجسم تشمل العمر، والجنس، والطرز الجيني، وحالة التغذية، والغذاء، والحالة الصحية، والإعاقة، والإقامة في المستشفى، والحالة العاطفية، والضغط النفسي، والمناخ، والجغرافية، والنظافة الشخصية، والظروف المعيشية، والمكان، وأسلوب الحياة. والعديد من هذه العوامل بطبيعتها الحال تكون مرتبطة ببعضها البعض، وسوف يؤثر بعضها على جميع مواقع الجسم، في حين يؤثر البعض الآخر - على الأرجح - على مواقع معينة فقط. وتؤدي هذه الاختلافات من شخص لآخر إلى اختلافات في تركيب المجتمع الميكروبي القائم في موقع ما، مما يجعل من الصعب تحديد "الميكروبيوتا المستوطنة" لموقع ما في الجسم. ولسوء الحظ، فإن آثار معظم العوامل المذكورة أعلاه على الميكروبيوتا المستوطنة لم يتم دراستها بشكل مستفيض. على الرغم من ذلك فهناك بعض المعلومات المتاحة، وسيتم الإشارة الآن إلى بعض النقاط العامة هنا، بينما ستضمن الفقرات المناسبة في الفصل الثاني إلى التاسع على تفاصيل محددة.

#### (١، ٣، ١) السن Age

إن معظم البيانات عن الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في الجسم الواردة في الفصل الثاني إلى التاسع سوف تتعلق بـ "أشخاص بالغين أصحاء". مع ذلك، فيبدو أن ميكروبيوتا مواقع عديدة من الجسم تكون مختلفة في الأفراد الصغار جداً وكبار السن جداً (الجدول رقم ٦، ١). وترجع هذه الاختلافات بين صغار السن إلى العديد من العوامل والتي تشمل نظاماً مناعياً غير ناضج، التغذية القائمة على الحليب، غياب الأسنان، وعوامل سلوكية.

وتظهر الاختلافات في كبار السن نتيجة الانخفاض في كفاءة الجهاز المناعي، واختلال وظيفي في العديد من الأعضاء، وسوء التغذية، وسوء النظافة الشخصية، وزيادة استخدام الأجهزة الطبية والأعضاء الصناعية مثل الأسطوانات

وأطقم الأسنان، إلخ. وهناك العديد من العلامات لوجود اختلال وظيفي في الاستجابة المناعية في كبار السن (أي شيخوخة المناعة) بما في ذلك انخفاض في إنتاج الأجسام المضادة، وانخفاض في عدد الليمفوسيتات، وضعف في تكاثر خلايا T، وضعف في التقام وقتل الميكروبات بواسطة PMNs. مع ذلك، فمن غير المعروف ما إذا كانت هذه العوامل تساهم في التغيرات في تركيب الميكروبيوتات في مواقع الجسم. وسوء التغذية مشكلة شائعة في كبار السن ولقد قدر أن بين ١٠-٢٥٪ من كبار السن في الدول الصناعية يعانون من بعض الخلل في التغذية. وسوف يؤثر ذلك ليس فقط على الوظيفة المناعية ولكن أيضاً على تركيب إفرازات العائل، والتي بالتأكيد ستكون ذات تأثير على الميكروبيوتا المستوطنة. وعوامل أخرى من المرجح أن تؤثر على ميكروبيوتا مواقع محددة من الجسم مدرجة في الجدول رقم (٧، ١).

الجدول رقم (٦، ١). أمثلة لتأثير العمر على تركيب الميكروبيوتا المستوطنة لموقع ما في الجسم.

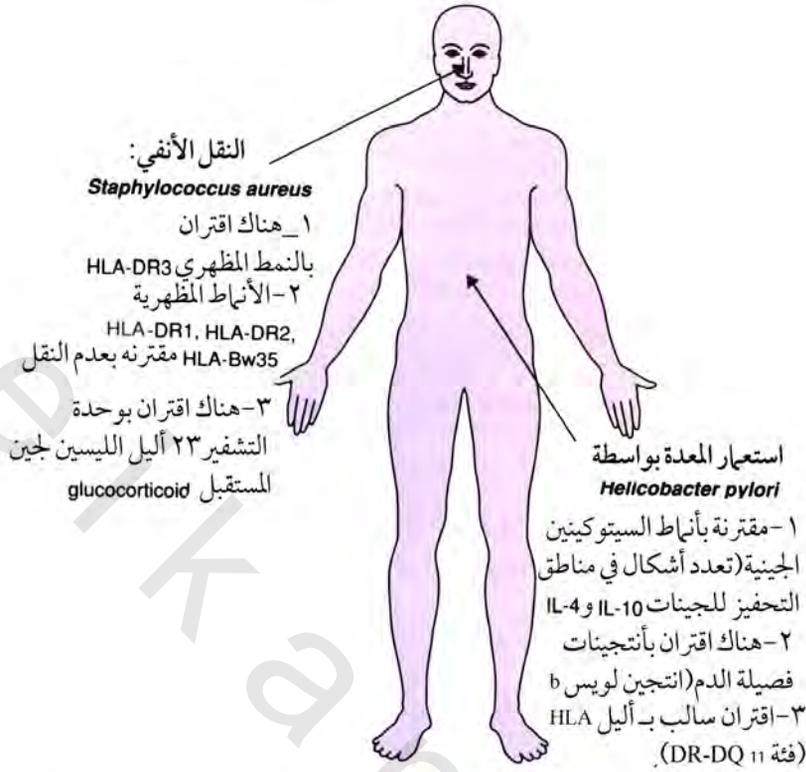
الموقع في الجسم	الاختلافات في الميكروبيوتا المتعلقة بالعمر
القولون	في حديثي الولادة أثناء الرضاعة الطبيعية وقبل الفطام، فإن <i>Bifidobacterium</i> spp. تهيمن على الميكروبيوتا البرازية، بينما في البالغين تكون <i>Bifidobacterium</i> spp. قليلة جداً
التجويف الفموي	الميكروبيوتا البرازية في كبار السن لديها نسب منخفضة من <i>Veillonella</i> spp. والبفيدوبكتيريا، ولكنها ذات نسب متزايدة من الكلوستريديا، لاكتوباسلي والبكتيريا المعوية قبل ظهور الأسنان فإن <i>Strep. sanguinis</i> غير موجودة في الأطفال، بينما هي في البالغين واحدة من الكائنات الحية السائدة في التجويف الفموي
البلعوم الأنفي	في كبار السن، فهناك زيادة في معدل عزل السبقيات والبكتيريا المعوية بعد البلوغ، فإن انتشار <i>Prevotella loeschii</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella denticola</i> , <i>Prevotella melaningenica</i> يتزايد في أحمود اللثة
البلعوم الفموي	انتشار <i>Neisseria meningitidis</i> يكون أقل في حديثي الولادة عنها في البالغين الشباب
القناة البولية	تهيمن <i>Moraxella catterhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> على البلعوم الأنفي في حديثي الولادة، بينما تمثل هذه الكائنات الحية نسباً أقل بكثير في ميكروبيوتا البلعوم الأنفي في البالغين
الجلد	في كبار السن، فإن هناك تزايداً في الاستعمار بواسطة البكتيريا سالبة الجرام (مثل <i>E. coli</i> و <i>Klebsiella</i> spp. و <i>Enterobacter</i> spp.) فضلاً عن <i>C. albicans</i>
العين	تزايد انتشار السبقيات والبكتيريا المعوية في كبار السن
	تزايد انتشار <i>Propionibacterium avidum</i> في الإبطيين في البالغين الشباب بالمقارنة بالأطفال
	انتشار منخفض لـ <i>Propionibacterium</i> في الأطفال الصغار
	في كبار السن، فإن هناك زيادة في معدل عزل بكتيريا الكورين والعصويات سالبة الجرام

الجدول رقم (١,٧). العوامل التي قد تساهم في تغيير الميكروبيوتا المستوطنة في كبار السن.

العامل	النتائج
التدهور المناعي	من المرجح أن يؤثر على ميكروبيوتا جميع المواقع
سوء التغذية	ضعف في الاستجابة المناعية، مما يؤثر على تركيب إفرازات العائل في معظم المواقع وبالتالي يؤثر على الميكروبيوتا
نقص الإزالة المخاطية الهدبية	تزايد استعمار القناة التنفسية، بما في ذلك بالأنواع التي عادة ما يتم طردها
نقص في إنتاج الحمض المعوي	تزايد استعمار المعدة، بما في ذلك بالأنواع التي عادة ما تُقتل بالرقم الهيدروجيني المنخفض
نقص معدل تدفق البول، البول المتبقي بعد التبول، تزايد الالتصاق البكتيري لطلائية القناة البولية، تضخم البروستاتا في الرجال	تزايد استعمار القناة البولية بما في ذلك بالأنواع التي عادة ما يتم طردها
غياب هرمون الأستروجين في الإناث	تناقص إنتاج الحمض في المهبل، وبالتالي تُمكن من الاستعمار بواسطة أنواع عادة ما يتم طردها
نقص حركة الأمعاء، تغير في تركيب المخاط	تُمكن من استعمار الأمعاء الدقيقة

### (٢, ٣, ١) الطراز الجيني للعائل Host genotype

في حين أن عدداً من الدراسات قد بحث في تأثير الطرز الجينية على حساسية الأفراد للأمراض المعدية، فلا يعرف سوى القليل عن تأثيرها على الميكروبيوتا المستوطنة. ومن المتوقع أن تشابه بيئة موقع ما في الجسم في الأفراد الذين على درجة عالية من الارتباط الجيني - نتيجة التشابه التشريحي والفسولوجي - أكثر من أولئك البعيدين جينياً. ولقد تبين أن الميكروبيوتا البرازية لتوأم متماثل (تم تحليله بواسطة أنماط إليكتروفوريسيس الهلام الماسخ المتدرج [DGGE] لجينات 16S rRNA المضخمة - (انظر الفقرة ٣, ٤, ١) تكون على درجة أكبر من التشابه من تلك الخاصة بالأفراد من غير ذوي العلاقة. علاوة على ذلك، فإن درجة التشابه بين الميكروبيوتات تكون على علاقة متبادلة مع درجة القرابة الجينية بين الأفراد. والميكروبيوتا الأنفية في التوأم المتماثل تكون على درجة أعلى من التشابه عنها في التوأم غير المتماثل. وهناك أمثلة قليلة أيضاً عن العلاقة المتبادلة بين الطراز الجيني للعائل ونقل أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة (الشكل رقم ١٨, ١).



الشكل رقم (١٨ ، ١). الاقتران بين الطراز الجيني للعائل ونقل أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة.

### (١، ٣، ٣) الجنس Gender

لقد لوحظت اختلافات عديدة بين الذكور والإناث فيما يتعلق بتركيب الميكروبيوتا لعدد من مواقع الجسم. وللأسف، فإن الأسباب الكامنة وراء ذلك لم يتم تحديدها في معظم الأحيان ولكن من المرجح أن تكون متشابهة ومتعددة وتنطوي على عوامل تشريحية، وسلوكية، وهرمونية، وعوامل فسيولوجية أخرى. وبعض الأمثلة على ذلك مبينة في الشكل رقم (١٩ ، ١).

### (١ ، ٤) التقنيات المستخدمة لتوصيف المجتمعات الميكروبية التي تقطن البشر

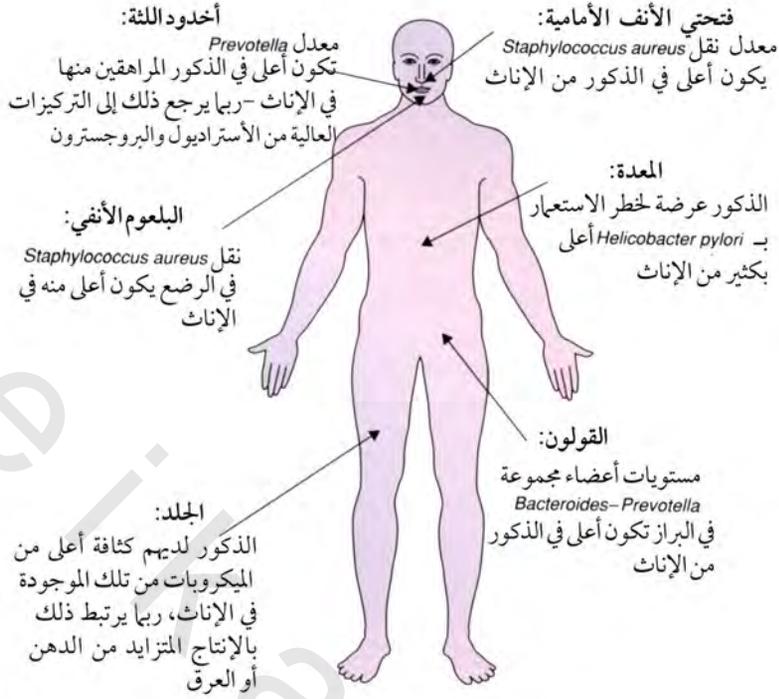
#### Techniques Used to Characterize Microbial Communities Inhabiting Humans

لقد استخدمت تقنيات متنوعة لدراسة الميكروبيوتا المستوطنة، ولكل منها عيوبها ومميزاتها.

### (١ ، ٤ ، ١) المجهرى (ميكروسكوبي) Microscopy

يوضح الشكل رقم (١ ، ٢٠) التقنيات الميكروسكوبية التي تستخدم في تحليل المجتمعات الميكروبية المستوطنة

للإنسان.

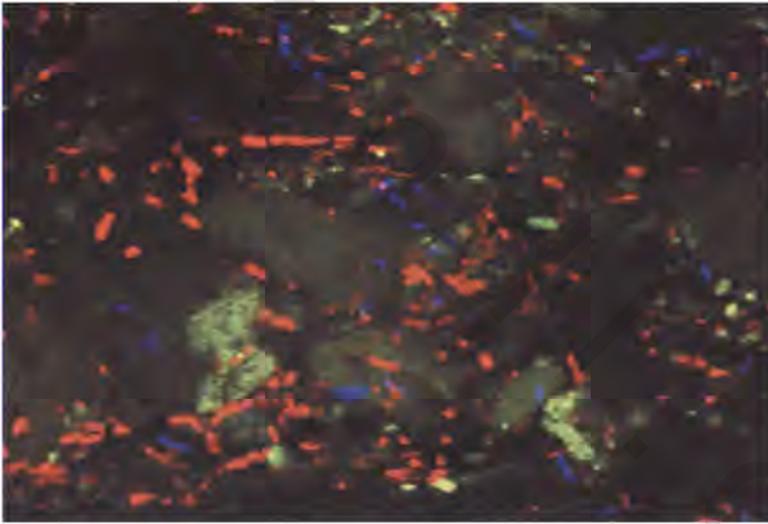


الشكل رقم (١٩, ١). أمثلة لتأثير الجنس على الميكروبيوتا المستوطنة لمختلف مواقع الجسم.



الشكل رقم (٢٠, ١). التقنيات المجهرية المستخدمة في دراسة المجتمعات الميكروبية المستوطنة للبشر.

إن استخدام المجهر (الميكروسكوب) الضوئي هو أحد أبسط وأكثر المناهج المباشرة لدراسة المجتمعات الميكروبية. وإحدى مميزاتة هي أنه يستطيع أن يكشف عن تفاصيل التركيب المادي للمجتمع وعن الترتيب الفراغي للكائنات الحية المكونة له. ويعمل كذلك بمثابة "معيار ذهبي" فيما يتعلق بالعدد الكلي للميكروبات الموجودة في العينة - حيث يستخدم عادةً كمعيار لتقييم قدرة التقنيات الأخرى - الأقل مباشرةً - على رصد جميع الكائنات الحية الموجودة في مجتمع ما. وبهذه الطريقة، فقد تبين أن تحليل عينات براز باستخدام منهجيات قائمة على الاستزراع قد ترصد نحو ٢٠٪ فقط من الكائنات الحية الموجودة. إن العد المميز لمختلف الطرز المظهرية في عينة تعطي مؤشر عن مدى تنوع الميكروبيوتا، ولقد ثبت لسنوات عديدة أن ذلك مفيد للتأكد مما إذا كان تركيب ميكروبيوتا المهبل واللثة التحتية لفرد ما تعد مؤشراً للصحة أو المرض. ويمكن تعزيز القدرة التحليلية للميكروسكوب الضوئي بعدد من الطرق. على سبيل المثال، فإن استخدام صبغات حيوية يمكن لها أن تكشف عن نسبة الخلايا الحية إلى الخلايا الميتة الموجودة. علاوة على ذلك، فيمكن الحصول على معلومات عن هوية الكائنات الحية الموجودة (وعلاقتها الفراغية) باستخدام أجسام مضادة موسومة أو مجسّات من قليل النيوكليوتيد - الميسم المستخدم عادةً ما يكون جزيء فلورسنتي (الشكل رقم ٢١، ١).



الشكل رقم (٢١، ١). صورة بالميكروسكوب الضوئي لسطح الغشاء المخاطي للقولون مصبوغ بمجسّات قليلة النيوكليوتيدات لجين

16S rRNA والتي تستهدف *Bacteroides* (اللون الأحمر، yC3)، *Bifidobacterium* (اللون الأزرق، yC5)، و *Escherichia*

*coli* (أيزوثيو سيانات الفلورنستي، اللون الأخضر). منقولة بتصريح من مطابع جامعة كامبريدج، كامبريدج، المملكة

المتحدة، من: Macfarlane, S., and Macfarlane, G.T. (2003) Bacterial growth on mucosal surfaces and biofilms in

the large bowel in the large bowel. In Wilson, M. and Devine, D. (eds), *Medical Implications of Biofilms*

والـ CLSM هي تقنية تمكن من فحص المجتمعات في حالتها الحية الرطبة والتي توفر معلومات قيمة عن التنظيم

الفراغي الحقيقي للخلايا المكونة للمجتمعات فضلاً عن الشكل الإجمالي وأبعاد المجتمع (انظر الشكل رقم ٧، ١

و٨، ١). وهي تقنية قد أحدثت ثورة في فهمنا لتراكيب مجتمعات الغشاء الحيوي. ويمكن الحصول على معلومات إضافية باستخدام صبغات حيوية، أجسام مضادة فلوروسنتية موسومة ومجسات موسومة من قليل نيوكليوتيد. علاوة على ذلك، فيمكن الحصول على معلومات متعلقة بطبيعة البيئة في الغشاء الحيوي (مثل الرقم الهيدروجيني، وجهد الأكسدة، إلخ) باستخدام مجسات مناسبة.

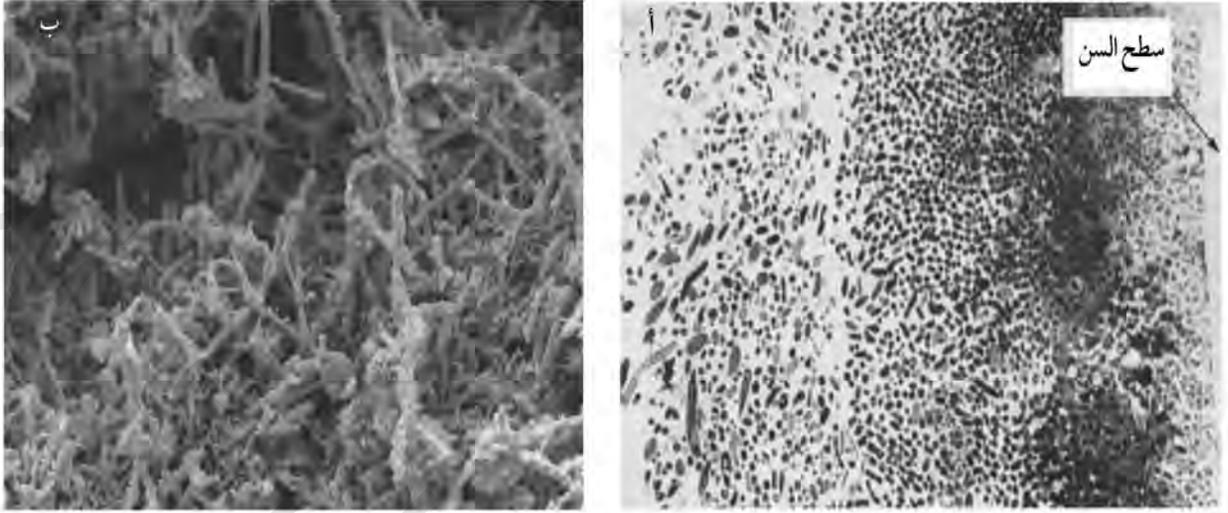
ومن الممكن كذلك مراقبة التعبير الجيني في الغشاء الحيوي باستخدام جينات مراسلة مثل البروتين الفلوريسنتي الأخضر (انظر الشكل رقم ١٠، ١).

إن استخدام التقنيات الجزيئية بالاشتراك مع الميكروسكوب الضوئي يبرهن على أنه مجز جداً في دراسات الميكروبيوتا المستوطنة. وإحدى هذه التقنيات هي التهجين الفلورسنتي في الموقع (FISH)، والتي تشمل استخدام مجسات من قليل نيوكليوتيد الموسومة بالفلوروسنتية، والتي تستهدف مناطق محددة من الدنا البكتيري (الشكل رقم ٢١، ١). ومعظم المجسات التي تستخدم حالياً هي تلك التي تتعرف على الجينات التي تشفر للـ rRNA الريبوسومي ذات معامل الترسيب 16S (16S rRNA). ويتكون الجين الذي يشفر لـ 16S rRNA في البكتيريا من مناطق ثابتة وأخرى متغيرة. وضمن الجزيء، فهناك مناطق متخصصة جداً لأنواع معينة من البكتيريا فضلاً عن مناطق توجد في جميع البكتيريا، في جنس واحد من البكتيريا، أو في مجموعات من البكتيريا وثيقة الصلة ببعضها البعض. ولذلك يمكن تصميم مجسات لتعريف أنواع بعينها، أجناس بعينها، مجموعات ميكروبية معينة ذات صلة، أو حتى جميع البكتيريا. وفي الأونة الأخيرة، تم استخدام مجسات لتمييز mRNA للتعرف على الجينات التي يتم التعبير عنها في المجتمعات. إن إحدى مزايا هذا المنهج هي إمكانية عمله آلياً، وأن يتم معالجة البيانات الناتجة بواسطة برمجيات تحليل الصورة بواسطة الكمبيوتر.

إن استخدام الميكروسكوب الإلكتروني القاطع والماسح يمكن أن يوفر معلومات والتي لا يمكن الحصول عليها باستخدام الميكروسكوب الضوئي العادي، ويمكن استخدام التكبيرات العالية المتاحة في الكشف عن تفاصيل اللواصق الميكروبية والتراكيب اللاصقة (الشكل رقم ٢٢، ١). ويمكن تعريف الكائنات الحية الموجودة باستخدام أجسام مضادة مرتبطة بأدلة ذات كثافة إلكترونية عالية (مثل الذهب أو الفيريتين). مع ذلك، فإن عيباً رئيسياً لاستخدام الميكروسكوب الإلكتروني هو أن تجهيز العينة ونزع الماء المصاحب لتجهيز العينة يغير من تركيب العينة، وبالتالي يمنع تحديد الترتيب الفراغي للخلايا في المجتمعات بدقة.

### ٢، ٤، ١) المنهجيات المعتمدة على الاستزراع Culture Dependent Approaches

إن معظم معرفتنا عن تركيب المجتمعات الميكروبية المستوطنة للبشر قد تم الحصول عليه باستخدام تقنيات الاستزراع الكيفية والكمية. ونظراً لتعقيد المجتمعات في معظم مواقع الجسم، فإن مثل هذه الطرق تكون شاقة جداً. وهناك أيضاً عدد من المشكلات في هذا المنهج. أولاً وقبل أي شيء، ففي حالة استخدام بيئة غير انتقائية، يجب اختيارها بحيث تكون قادرة على تعزيز نمو جميع الأنواع التي يحتمل تواجدها - هذا مستحيل عملياً نظراً للتباين في المتطلبات الغذائية (عادةً دقيقة جداً) لأعضاء مثل هذه المجتمعات. علاوة على ذلك، فإنه من الصعب توفير الظروف البيئية المثلى (مثل الرقم الهيدروجيني، محتوى الأكسجين، محتوى ثاني أكسيد الكربون، إلخ) الضرورية لتمكين من نمو جميع الأنواع المختلفة من الميكروبات الموجودة.



الشكل رقم (٢٢، ١). صور بالميكروسكوب الإلكتروني القاطع (أ) والماسح (ب) لبلاكات الأسنان. تم الحصول على هذه الصور من السيدة نيكولا موردان. معهد إستان للأسنان UCL Eastman Dental Institute، جامعة لندن، لندن، المملكة المتحدة.

وتظهر مشكلات نتيجة أن بعض الكائنات الحية تنمو أسرع من الأخرى، مما يؤدي إلى إفراط في النمو على الأطباق والفشل في عزل الكائنات الحية ذات النمو البطيء. ففي عينات أخذت من مواقع ذات ميكروبيوتا عالية الكثافة جداً (مثل القولون والمهبل) أو بلاك الأسنان، فإنه من الضروري استخدام تخفيفات من العينة للحصول على مستعمرات منفصلة للتعريف لاحقاً. ويعني ذلك أن الكائنات الحية المتواجدة بنسبة ضئيلة سوف "تخفف أكثر من اللازم" ولذلك فمن النادر أن يتم عزلها. ولقد قامت العديد من الدراسات باستخدام بيئات انتقائية بدلاً من أو بالإضافة إلى البيئات غير الانتقائية. وقد يكون ذلك مفيداً، ولكن يتطلب تحليل ميكروبيوتا معقدة استخدام عدد من البيئات بحيث تكون انتقائية لمختلف مجموعات الكائنات الحية المتواجدة. ومع ذلك، فإنه لا توجد بيئة يمكن الاعتماد عليها في كونها حقاً انتقائية، ويمكن كذلك للمكونات المثبطة (المضافة للبيئة) أن يكون لها تأثير سلبي على الكائنات الحية التي من المفترض أن البيئة انتقائية لها. إن جميع هذه المشكلات تساهم في زيادة عبء العمل، مما يعني أنها ذات تكلفة عالية وتؤدي حتماً إلى انخفاض في عدد العينات التي يمكن معالجتها - بالتالي إلى انخفاض في الدقة الإحصائية للبيانات التي يتم الحصول عليها.

ولقد أظهرت المقارنة لعينات تم تحليلها بواسطة الاستزراع وبواسطة الميكروسكوب، أن حتى أفضل طرق الاستزراع تبخس بشدة عدد الكائنات الحية الموجودة في الميكروبيوتا مواقع معينة في الجسم - خصوصاً عينات من القناة الهضمية، والتجويف الفموي. والأسباب لذلك عديدة، وهذه هي أهم أسباب المشكلات المقترنة بالتحليل المعتمد على الاستزراع للمجتمعات الميكروبية:

- الفشل في توفير المتطلبات الغذائية لبعض الكائنات الحية الموجودة.
- الفشل في رصد الكائنات الحية التي تكون في حالة "حية ولكنها غير قابلة للاستزراع".

• الفشل في إخلال سلاسل أو تجمعات الكائنات الحية قبل إستزراعها على الأطباق - يؤدي ذلك إلى إنتاج "وحدة مكونة للمستعمرة" واحدة فقط من عنقود أو سلسلة تتكون من العديد من البكتيريا الحية، وبالتالي تبخس أو تقلل من نسبتها.

• موت الخلايا الحية أثناء نقل وتجهيز العينة.

• إفراط في النمو في أطباق الاستزراع بواسطة الكائنات الحية سريعة النمو.

• تخفيف زائد للكائنات التي توجد بنسب صغيرة والذي يؤدي إلى فقدانها.

• إمكانية حدوث تأثير مثبت للبيئات الانتقائية.

• طبيعة العمل الشاقة للعملية كلها.

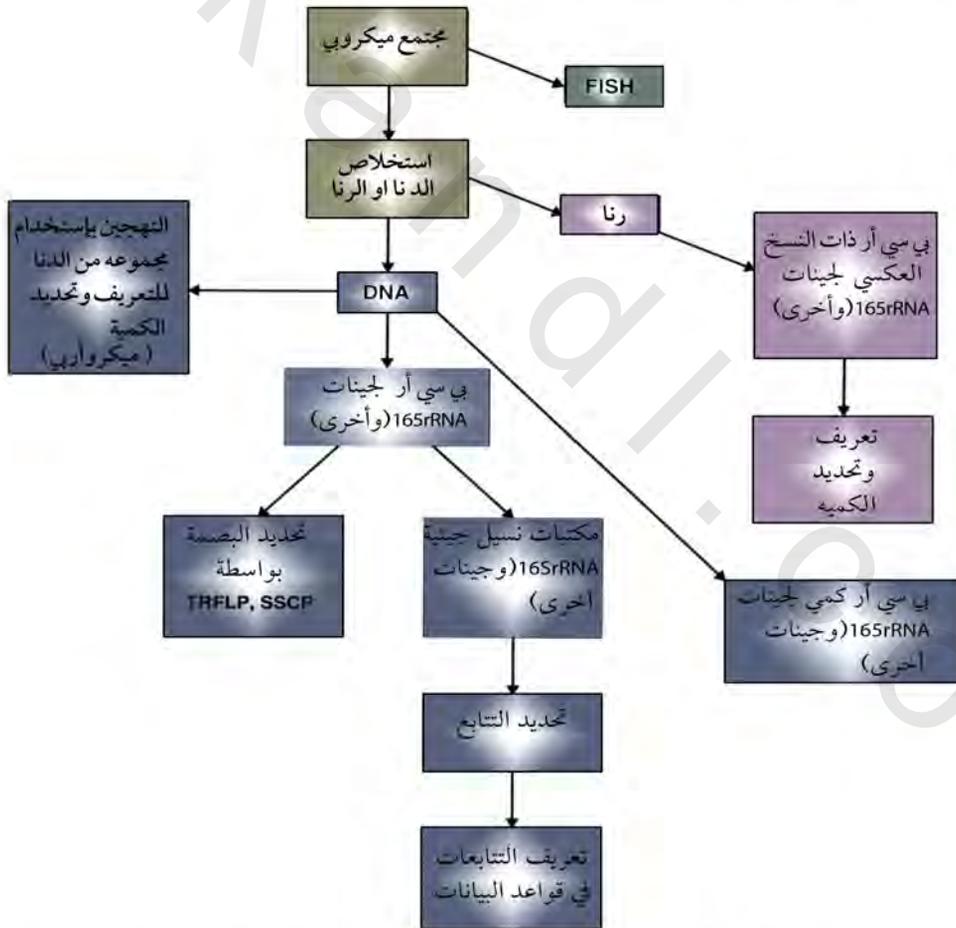
وأدت هذه المشكلات - إجمالياً - إلى بخس شديد لعدد وأنواع الكائنات الحية الموجودة في عينة مأخوذة من أي بيئة، حيث قدر أنه بإمكاننا استزراع في المعمل ليس أكثر من ١-٢٪ من الأنواع الميكروبية (الذي من المعتقد أن عددها بين ١٠<sup>١٠</sup> و ١٠<sup>٢٠</sup>) الموجودة على كوكب الأرض. ويمجرد الحصول على عزلات فردية، فإن المهمة التالية هي تعريف كل منها. وتقليدياً، فإن ذلك يشمل استخدام مجموعة من الاختبارات المورفولوجية، والفسولوجية والأيضية، والتي تعد عملاً شاقاً جداً وعادةً تكون غير مميزة بقوة. ولقد جعل استخدام الكيئات المتاحة تجارياً من هذه العملية أقل في متطلبها الفنية.

واختبارات الطرز المظهرية الأخرى التي استخدمت لأغراض التعريف تشمل تحليل بروتين الجدار الخلوي، تحليل مصلي، وتحليل مثيل إستر الأحماض الأمينية. وخلال السنوات القليلة الماضية، هناك اتجاه نحو زيادة التقنيات الجزئية لتعريف الكائنات الحية المعزولة، وتستند إحدى هذه الطرق على تحديد تتابع الجين المشفر ل-16S rRNA، حيث يضخم الجين بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل (بي سي آر PCR)، ويتم تحديد تتابع الجين المشفر ل-16S rRNA جينات للكائنات الحية والتي تم إيداعها سابقاً في قواعد البيانات. وإذا أظهر النتائج ٩٨٪ على الأقل تشابهاً مع تتابع جين موجود بالفعل في قواعد البيانات، فيفترض في هذه الحالة أن الجين من نفس هذا النوع البكتيري، ومن ثم يمكن تحديد هوية الكائن الحي غير المعروف. إن إجراء هذه الطريقة أبسط بكثير من إجراء مجموعة اختبارات الطرز المظهرية التعريفية، ولها ميزة كبيرة من حيث إمكانية عمل مقارنات عن "تطور السلالات" للكائنات الحية المعزولة. ومع ذلك، فإن بعض الفئات تكون معاندة لتفاعل البلمرة المتسلسل، والبعض (مثل العديد من السبقيات المسببة للاخضرار) تكون ذات صلة قوية جداً ببعضها البعض بحيث لا يمكن التمييز فيما بينها باستخدام هذا المنهج.

ومنهج آخر لتعريف الكائنات الحية المعزولة ينطوي على تهجين المستعمرة بمجسات من الحمض النووي. وتشتمل هذه التقنية - بشكل أساسي - على تحلل المستعمرة المعزولة وتعريضها لمجس من قليل (أوليغو) النيوكليوتيد الموسوم. ويتم تمييز التهجين عن طريق رصد المجس بعد الغسيل - يمكن للمجس أن يكون مادة مشعة، أو إنزيمياً، أو فلورسنت. ويمكن تصميم المجس ليميز نوعاً واحداً، جنساً أو مجموعة من الكائنات الحية. وعملياً، فإن عملية الجس تجري بشكل متزامن على العديد من المستعمرات التي تم نقلها لغشاء من النيتروسليلولوز. وتقنيات جزيئية أخرى تستخدم في تعريف المستعمرات المعزولة تشمل إلكتروفوريسيس الهلام ذات المجال الكهربائي النابض (PFGE)، وتنميط الريبو، وPCR المتعدد، وPCR ذات البادئات العشوائية.

### (١, ٤, ٣) المنهجيات الجزيئية غير المعتمدة على الاستزراع Culture Independent Molecular Approaches

يمكن التغلب على العديد من المشكلات الملازمة للمنهجيات المعتمدة على الاستزراع لتحليل المجتمعات الميكروبية باستخدام التقنيات الجزيئية، على الرغم من ذلك فهذه التقنيات لديها مشكلتها الخاصة. إن المرحلة الأولى في تحليل مجتمع ميكروبي باستخدام تقنية جزيئية هي عزل الدنا أو الرنا من العينة - وهنا تقع المشكلة الأولى. حيث إن استخلاص الأحماض النووية من الميكروبات يتطلب تحلل الخلايا، وتختلف مدى سهولة تحلل الخلايا اختلافاً كبيراً فيما بين الكائنات الحية المختلفة. ولقد استنبط العديد من الطرق (البروتوكولات) لتحليل الميكروبات الموجودة في العينات، وتشمل استخدام الإنزيمات، ومواد كيميائية، وطرقاً ميكانيكية. وبمجرد أن تتحلل الخلايا، فلا بد من توخي الحذر لتجنب تقطع وتحلل الأحماض النووية. ويمكن بعد ذلك استخدام الأحماض النووية المستخلصة بطرق متنوعة للكشف عن هوية الميكروبات الموجود أصلاً في العينة و/ أو عمل "صورة" أو "بصمة" عن المجتمع الميكروبي (الشكل رقم ٢٣, ١).



الشكل رقم (٢٣, ١). التقنيات الجزيئية غير المعتمدة على الاستزراع التي تستخدم في دراسة المجتمعات الميكروبية المستوطنة للبشر.

ويمكن استخدام بادئات عامة لتضخيم جميع جينات الـ 16S rRNA الموجودة في الدنا المستخلص من العينة، ثم تنسل التتابعات المضخمة. وبعد ذلك تحدد تتابعات الجينات المضخمة المنسلة وتقارن بتلك المودعة في قواعد البيانات مثل قاعدة بيانات مشروع الريبوسوم (<http://rdp.cme.msu.edu/index.jsp>) أو في Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) BLST). وهذه الطريقة يمكن تحديد تتابعات جينات 16S rRNA لجميع الكائنات الحية الموجودة في المجتمع (بها في ذلك تلك التي لا يمكن تنميتها في المعمل)، وبذلك - إذا كانت هذه التتابعات مطابقة لتلك الخاصة بكائنات حية معروفة في قواعد البيانات - سيتم الكشف عن هوية كل الكائنات الحية الموجودة. مع ذلك، فقد كشفت دراسات على ميكروبيوتا البراز - على سبيل المثال - عن أنه ليست كل تتابعات جينات 16S rRNA التي تم الحصول عليها يكون لها مقابل في قواعد البيانات - في الحقيقة فإن ما يصل إلى ٧٥٪ من التتابعات لم تطابق تلك الخاصة بالكائنات الحية المعروفة. وبعض المشكلات الخاصة بهذا المنهج هي أن كلاً من خطوتي البي سي آر والتنسيل في خطوات العمل لديها انحيازها الخاص بها، والتقنية عالية التكلفة وذات عمل شاق - وذلك يجد من عدد العينات التي يمكن معالجتها. لقد استخدمت دراسات قليلة جداً "بي سي آر - الزمن الحقيقي الكمي" (RT-PCR) في تحليل مجتمعات ميكروبية مستوطنة للبشر، ولكن من المرجح تزايد استخدام هذه التقنية.

ومنهج آخر مفيد وهو فصل الجينات المضخمة (أمبليكونات) على هلام مسمخ متدرج. وبالرغم من أن جميع الجينات المضخمة يكون لها نفس الطول، فإن الاختلاف في تركيبها من ناحية القواعد النيكليوتيدية يؤدي إلى أن يكون لديهم درجات ذوبان مختلفة، وهكذا سوف يذوب كل منها عند درجة مختلفة عندما ينحدر عبر الهلام، حيث يوجد تدرج سواء في درجة الحرارة (إليكتروفوريسيس الهلام ذات التدرج في درجة الحرارة (TGGE) أو تدرج في تركيز المادة المفككة (المسخة) مثل البولينا أو الفورماميد (DGGE). والتغير في شكل الدنا نتيجة التفكك يبطئ من رحيله عبر الهلام، مما يؤدي إلى فصل مختلف الجينات المضخمة (أمبليكونات). وصباغة الدنا في الهلام الناتج سوف تكشف عن نسق تشرط أو "بصمة" حيث تكون مميزة لذلك المجتمع (الشكل رقم ٢٤، ١). ويمكن قص الأشرطة منفردة، حيث يتم استخلاص كل جين، ويعاد تضخيمه، و تحدد تتابعاته، ويتم تعريفه باستخدام قواعد البيانات على النحو المبين أعلاه. وبدلاً من ذلك، يمكن مقارنة وتحليل "البصمات" الخاصة بعينات نفس الشخص والتي تم الحصول عليها في ظروف مختلفة لدراسة الاختلافات فيما بينها. ومن ثم يمكن تحديد تتابعات الأشرطة التي تظهر أو تختفي مع الوقت لتحديد مدى اكتساب أو فقدان كائن حي ما من المجتمع. وهذه الطريقة مفيدة كذلك لمقارنة الميكروبيوتات الموجودة في نفس الموقع من الجسم في أشخاص مختلفين، ولقد استخدمت بكثافة لمقارنة الميكروبيوتات في مناطق مختلفة من القناة المعوية المعوية. ولقد سهل استخدام الكمبيوتر والتحليل الإحصائي لنسق الأشرطة التي يتم الحصول عليها من عمل المقارنات. وهناك تقنيتان إضافيتان متاحان لعمل بصمة للمجتمع وهما تعدد تشكل الشريط الأحادي (SSCP)، والقطع الطرفية المقطوعة متعددة الأطوال (TRFLP).

ويمكن كذلك استخدام الدنا المستخلص من المجتمع الميكروبي في تجارب "تهجين التشرط النقطي". وفي مثل هذه التجارب، يتم عمل بقع من الدنا المستخلص على غشاء من النيتروسيلولوز لتكوين مجموعة على شكل شبكي. ويمكن بعد ذلك عمل جس هذه المجموعة بواسطة مجسات من الأوليجونوكليوتيد الموسومة، والتي تم تصميمها

للتعرف على نوع واحد، جنس، أو مجموعة من الكائنات الحية ذات الصلة ببعضها البعض. وبديلاً عن ذلك، يمكن تحضير مجموعات متشابهة من الدنا من مجموعة من الكائنات الحية، ويمكن عمل جس لها باستخدام الدنا المستخلص من العينة- بمجرد توسيمها بطريقة ما.



الشكل رقم (٢٤، ١). هلام عديد الأكريلاميد يوضح أنماط DGGE لعينات بلاك الأسنان ما فوق اللثة لستة أشخاص. ويوضح الشكل أشربة مناظرة لجينات 16S rRNA المضخمة ذات نفس الوزن الجزيئي، والتي تم فصلها بواسطة DGGE على ١٠٪ هلام عديد الكريلاميد، وتدرج ماسخ يتراوح من ٤٠ - ٨٠٪ (يتكون ١٠٠٪ من المساخ من ٧ مولار بولينا و ٤٠٪ فورماميد منزوع الأيونات). الصورة مقدمة - مشكوراً - من د/ جافن جافان، معهد إستان للأسنان UCL، جامعة لندن، لندن، المملكة المتحدة.

والطرق القائمة على الدنا لتحليل تركيب المجتمعات الميكروبية - مع ذلك - ليست خالية من العيوب، حيث من المرجح أن الدنا المستخلص من موقع ما في الجسم لا يتكون فقط من الدنا الخاص بالمجتمع المقيم، ولكنه مشتق أيضاً من أنواع ليست أصلية وكذلك من الكائنات الحية الميتة والتي تمكنت من الوصول إلى الموقع ولكنها لم تكن قادرة على البقاء هناك على قيد الحياة. وبالتالي فإن مثل هذا التحليل يمكن أن يعطي عدداً كبيراً من النتائج الإيجابية الكاذبة.

#### (٤، ٤، ١) التحليل الوظيفي للمجتمعات الميكروبية Functional Analysis Microbial Commuuties

إن تحديد تركيب المجتمع من حيث الأنواع هو الخطوة الأولى فقط في دراسة أي نظام بيئي، ويحتاج ذلك أن يتبعه تحديد وظائف المجتمع وكذلك وظائف أعضائه. ومع ذلك - نظراً لتعقيد معظم المجتمعات وحقيقة أن العديد

من الأنواع لم يتم استزراعها بعد - فإنه لم يتحقق إحراز سوى القليل فقط في هذا الصدد. وإحدى الطرق لتحديد القدرة الأيضية للمجتمع ككل - فضلاً عن التنوع الوظيفي المحتمل - تنطوي على تحضير عينات من مجتمع مع مجموعة من مواد التفاعل (مثل مصادر للكربون) وتحديد أي منها يمكن أن يستخدم. ويعطي ذلك "بصمة" أيضية حيث تشير إلى نطاق مواد التفاعل التي يمكن أن يستخدمها المجتمع. وتعرف هذه التقنية بـ "تنميط فسيولوجي على مستوى المجتمع" (CLPP). وبالإضافة إلى توفير معلومات عن مواد التفاعل التي يستخدمها المجتمع فعلاً، فإن CLPP قد يكون مفيداً لرصد استجابة المجتمع للظروف البيئية المتغيرة. مع ذلك، فهناك عددٌ من المشكلات في هذه التقنية. في المقام الأول، حيث إن ظروف التحضين التي توفر في المعمل تختلف عن تلك الخاصة بالبيئة الطبيعية للمجتمع، فمن غير المرجح جداً أن تكون الاستجابة الملاحظة تمثل القدرات الأيضية للمجتمع في بيئته الطبيعية. ثانياً، إن نمط استهلاك مواد التفاعل الملاحظ سوف يعكس فقط أنشطة تلك الكائنات الحية في المجتمع التي تكون نشيطة أيضاً تحت مجموعة ظروف التحضين الخاصة المستخدمة. وعلاوة على ذلك، فمن المرجح أن الحصص النسبية للأعضاء المكونة للمجتمع سوف تتغير أثناء فترة التحضين. وبالرغم من هذه العيوب، فيمكن لهذه التقنية البسيطة أن تقدم بعض الرؤى عن القدرات الوظيفية للمجتمع.

ولقد استخدم هذا النوع من النهج بطريقة أكثر محدودية لتحديد بعض "الخصائص المقترنة بالفلورا الدقيقة" (MACs) للعائل. ومن ثم، فقد تم تقييم عدد من القدرات الأيضية للميكروبيوتا القولونية، بما في ذلك أنشطة إنزيمات البروتيز، اليوريز، جلاتكوسيديز، هيدروليز ملح الصفراء، وأزو-ريداكتيز، فضلاً عن قدرتها على إنتاج الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة (SCFAs)، قدرتها على تحويل الكوليستيرول إلى كوبروستانول، وقدرتها على تحليل الميوسين، تثبيط التريسين، وقدرتها على إنتاج غازات مثل غاز الميثان، ثاني أكسيد الكربون، والهيدروجين. ولقد استخدم الباحثون المهتمون بوظيفة معينة للميكروبيوتا القولونية بتحديد واحدة أو عدد محدد من هذه الأنشطة. مع ذلك، فقد قامت بعض الدراسات بتحديد نطاق أوسع من هذه الـ MACs (أي "تنميط")، خصوصاً تلك الدراسات التي تتضمن تأثيرات المضادات الحيوية والغذاء على الميكروبيوتا القولونية أو تلك التي تدرس تطور هذه المجتمعات.

وهناك عدد من التقنيات متاحة لرصد التعبير الجيني في "موقعه الطبيعي"، رغم أنه لا يوجد سوى عدد قليل من التقارير عن تطبيقه لدراسة المجتمعات المستوطنة في الإنسان. وبعض من هذه التقنيات الواعدة تشمل بي سي آر النسخ العكسي (RT-PCR)، تقنية التعبير الجيني في الكائن الحي (IVET)، مجموعات دقيقة من الدنا (ميكروأربي)، تتبع النظائر في الموقع، والتهجين الطرحي. وهناك كذلك اهتمام كبير لاستخدام منهجيات الميتاجينوم وميتابروتيوم للتحقق من القدرات الوظيفية للمجتمعات. على سبيل المثال، في دراسة حديثة لميكروبيوتا البراز لشخصين بالغين، وجد أن الجينوم الإجمالي (ميكروبيوم) قد أثري بشكل كبير (بالمقارنة بمتوسط مشتق من الجينومات الميكروبية التي حددت بتابعاتها) فيما يتعلق بالتمثيل الغذائي لتشكيلة متنوعة من السكريات وعديد السكريات، إنتاج الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة، وبناء الأحماض الأمينية والفيتامينات الأساسية. وتماشى مثل هذه النتائج مع الدور المعروف لميكروبيوتا الأمعاء من حيث تحليل عديد السكريات النباتية المعقدة، لتوفير أحماض دهنية قصيرة السلسلة كمصدر للطاقة للخلايا القولونية وتزويد العائل بالفيتامينات (انظر الفقرة ٢، ٤، ٢، ٤، ٩).

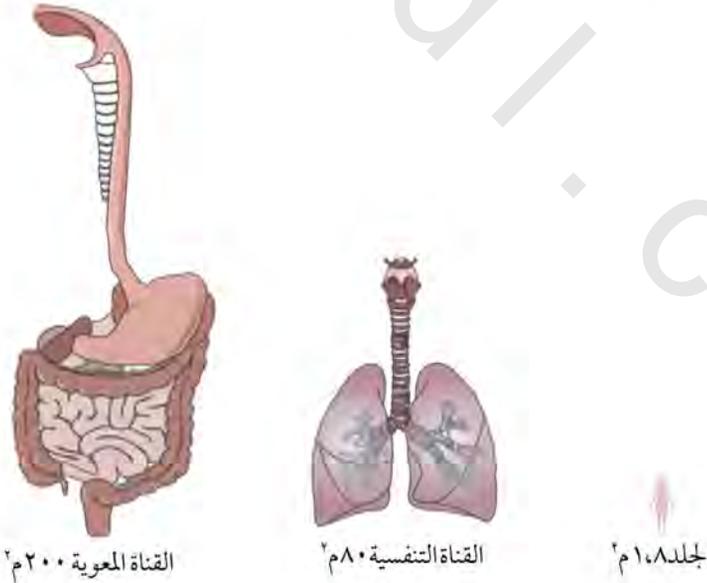
## (١, ٥) الطبقة الطلائية-موقع تفاعلات العائل-الميكروب

## The Epithelium-Site of Host-Microbe Interactions

إن الطبقة الطلائية تكون تغطية مستمرة على كل الأسطح المعرضة للبيئة الخارجية (أي الجلد، العيون، القناة التنفسية، القناة الهضمية، القناة البولية، والقناة التناسلية)، وهي تتكون من طبقة من خلايا متخصصة- في بعض الأحيان ذات خلية واحدة من حيث السمك. وبالرغم من أن إحدى وظائفها هي إقصاء الميكروبات عن الأنسجة الكامنة تحتها، فإنها ذاتها يتم استعمارها بواسطة الميكروبات موضوع هذا الكتاب. وحيث إن الطبقة الطلائية هي الموقع الأول للتفاعلات التي تحدث بين الميكروبات وعائلها البشري (فضلاً عن التفاعلات التي تحدث بين المستعمرين الميكروبيين أنفسهم)، فإنه من الضروري أن نتدارس هذا النسيج بمزيد من التفصيل. والأسطح الأخرى الوحيدة التي تحدث عليها تفاعلات بين الميكروبات والعائل هي الأسنان وسيرد ذكر تركيبها في الفصل الثامن.

## (١, ٥, ١) تركيب الطبقات الطلائية Structure of Epithelia

هناك - بشكل أساسي - نوعان رئيسان من الأسطح الطلائية يتم تمييزهما - الطلائية الجافة (وتعرف بالبشرة) وهي تكوّن الجلد، والطلائية الرطبة والتي تغطي العين وتلك الأسطح الداخلية من الجسم التي تكون على تلامس مع البيئة الخارجية. ويشار كذلك للطلائية الرطبة بالغشاء المخاطي (أو الأغشية المخاطية)، وذلك لأنها تكون مغلقة دائماً بطبقة من المخاط والذي يتكون أساساً من جليكوبروتينات تعرف بالميوسينات. والمساحة السطحية الكلية للغشاء المخاطي أكبر من المساحة السطحية الكلية للجلد بأكثر من ١٠٠ ضعف (الشكل رقم ١, ٢٥).



الشكل رقم (١, ٢٥). المساحات السطحية النسبية للأسطح الطلائية الرئيسة في الجسم البشري. أسطح أغشية مخاطية أخرى تشمل القناة البولية، والجهاز التناسلي، والعيون، ولكن مساحتها السطحية أصغر بكثير.

والعنصر الخلوي الرئيس للطبقة الطلائية هو الخلية الطلائية. ففي الطبقة الطلائية ترابط الخلايا المكونة لها مع بعضها عن طريق مجموعة متنوعة من الوصلات (الجدول رقم ٨, ١).

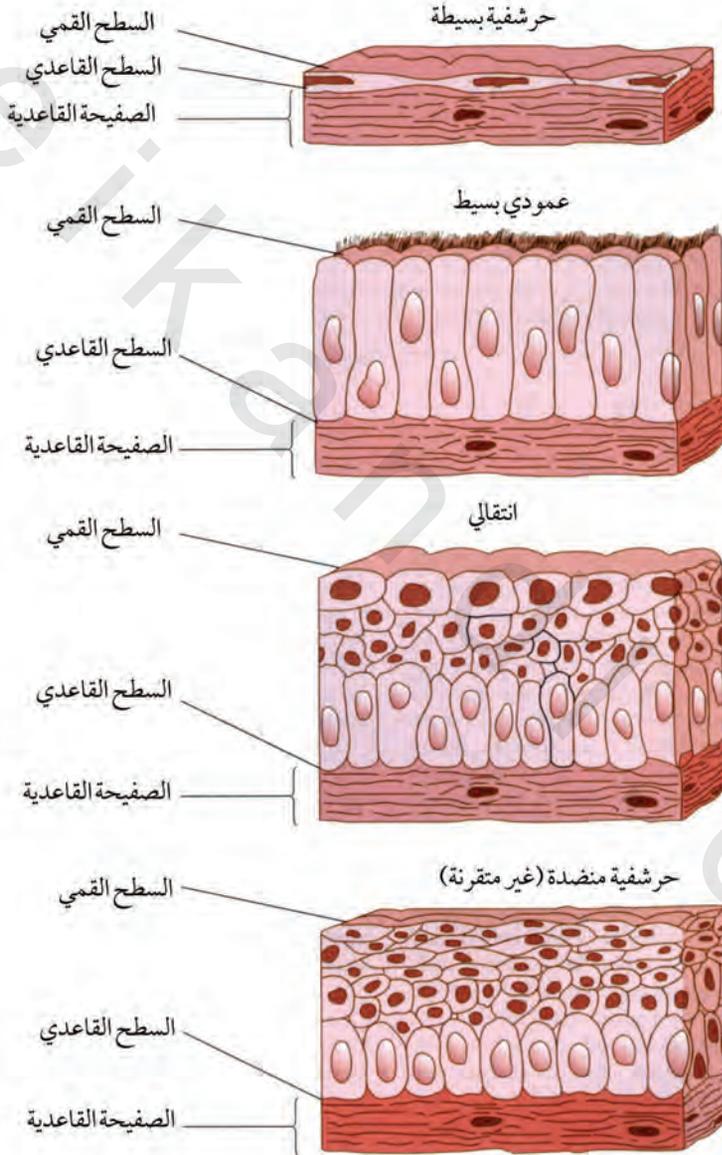
الجدول رقم (٨, ١). أنواع الوصلات بين الخلايا الطلائية.

أنواع الوصلات	الوظيفة
وصلات محكمة	تسد الخلايا المتجاورة، تحت الأسطح القمية تماماً (أي الأسطح المعرضة للبيئة الخارجية)، وبالتالي تمنع مرور الجزيئات بين الخلايا - حيث إنها غير نفاذة لجميع الجزيئات ما عدا الأصغر منها
وصلات فجوية	تتكون من قنوات بين الخلايا المتجاورة، وتسمح وصلات فجوية من مرور الجزيئات ذات الوزن الجزيئي الأقل من ١٠٠ دالتون
وصلات التصاق	توفر الوصلات الالتصاقية إلتصاقاً ميكانيكياً قوياً بين الخلايا، حيث تتكون عن طريق ربط بروتينات عابرة للغشاء والتي تعرف بـ «كادهيرينز Cadherins»

وتلتصق الطبقة الطلائية بالنسيج الكامن تحتها عن طريق طبقة من مادة ترابط خارج خلوية (أساساً كولاجين ولامينين) والتي تعرف بالصفحة القاعدية. ويتوسط شبيه ديسموسومز hemidesmosomes الالتصاق بهذه الطبقة. وتتفاوت الخلايا الطلائية في الشكل، فقد تكون منبسطة (حرفية)، مكعبة أو عمودية الشكل، والسطح القمي لها مغطى بتراكيب دقيقة تشبه الشعرة تعرف بالأهداب. وقد توجد كطبقة واحدة من الخلايا، أو قد تكون العديد من الطبقات وقد يخضع بعضها لعملية تسمى التقرن (تكوين الكيراتين)، حيث فيها يتراكم بروتين الكيراتين على الخلية، والتي ينزع منها الماء وتموت في نهاية المطاف. والخلايا الطلائية التي تخضع للتقرن تعرف بكيراتينوسيتات وهي مكون هام للجلد حيث تكون حاجزاً وقائياً على سطحه، وتوجد كذلك على بعض أسطح الأغشية المخاطية، مثل اللسان. إن تركيب الجلد يختلف من نواح عديدة عن الأغشية المخاطية، وسيرد ذكر ذلك بمزيد من التفصيل في الفصل الثاني. وسوف يعنى باقي هذا الفصل بشكل رئيس بالأغشية المخاطية التي تبطن جميع الأسطح الأخرى المعرضة للبيئة الخارجية.

والأنواع الرئيسة للطلائية المكونة لأسطح الأغشية المخاطية موضحة في الشكل رقم (٢٦, ١) والطلائية لها سطح قمي مواجه للتجويف الخاص بتجويف معين من الجسم، وهكذا يكون في حالة تلامس بالبيئة الخارجية، وسطح قاعدي (أو جانبي قاعدي) والذي يتلامس مع الصفحة القاعدية (أو الغشاء القاعدي) والنسيج الضام الكامن. وبالمثل، فإن كل خلية تحتوي على سطح قمي وسطح قاعدي جانبي. وتتكون الطلائية الحرفية والعمودية البسيطة من طبقة واحدة من الخلايا الطلائية وتتواجد مبطنة للعديد من تجاويف الجسم. وفي بعض الحالات يكون لدى الخلايا عدد من من الزوائد الدقيقة وذلك لزيادة المساحة السطحية، وتتواجد مثل هذه الطبقات الطلائية في المناطق التي صُممت من أجل امتصاص الجزيئات، مثل الأمعاء الدقيقة. وتُعرف الطلائية التي تتكون من عدة

طبقات من خلايا ذات أشكال مختلفة، بالطلائية الانتقالية وتوجد مبطنة للتجاويف التي تنبسط وتتقلص، مثل المثانة. وعندما تكون طبقات الخلايا منبسطة تدريجياً فإن الطلائية تعرف بـ "الطلائية الحرشفية الطبقيّة (منضدة)" وهي مميزة للطبقات المخاطية التي تكون عرضة للكشط أو الحك الميكانيكي، مثل تجويف الفم والمهبل. وقد تحدث عملية تقرن للطبقات الخارجية من الخلايا، ويقال عن الطبقة الطلائية في هذه الحالة إنها طبقة حرشفية طبقيّة متقرنة، وأمثلة ذلك الجلد، والحنك الصلب من تجويف الفم.



الشكل رقم (٢٦، ١). أنواع الأغشية المخاطية المختلفة الموجودة في جسم الإنسان. يتم شرح كل منها في سياق النص. منقولة بتصريح من

مطابع جامعة كامبريدج، كامبريدج، المملكة المتحدة. من: Wilson, M., McNab, R., Henderson, B. (2002) *Bacterial*

وتتكون الطلائية الحرشفية البسيطة من طبقة واحدة من الخلايا المنبسطة، وهي تبطن الأسطح التي صممت للامتصاص وليست عرضة للتمزق والتلف، مثل أسناخ الرئة (الحويصلات الهوائية). وتتكون الطلائية العمودية البسيطة من طبقة واحدة من الخلايا العمودية وتوجد مبطنة لمعظم القناة الهضمية. وتبطن كذلك بعض مناطق القناة التنفسية حيث قد تكون مغطاة ببروزات قصيرة تشبه الشعرة تعرف بالأهداب (انظر الشكل رقم ٧، ٤). وتمثل الطلائية ذات الأهداب نظاماً مناعياً مهماً حيث إنها تقوم بدفع طبقة المخاط التي تحتوي على البكتيريا المعلقة عبر سطح الطبقة الطلائية، وتطردها إلى خارج تجويف الجسم (الفقرة ٢، ٤). وعندما توجد أكثر من طبقة واحدة من الخلايا، فإن الطبقة الطلائية توصف بأنها "طبقة" وهي تتواجد في المناطق المعرضة للتمزق أو التلف. وتتكون الطبقة الطلائية - في بعض الأحيان - من طبقة واحدة من أنواع مختلفة من الخلايا، بعضها صغير ولا يصل للسطح، بينما البعض الآخر يكون كبيراً ويصل لسطح الطلائية. وعادة ما يشبه المظهر العام للطلائية الطبقيّة، حيث إن كل الخلايا تكون متصلة بالغشاء القاعدي، فإن مثل هذه الطبقة الطلائية تسمى "طبقة طلائية طبقية زائفة (كاذبة)".

وفضلاً عن توفير حاجز مادي ضد الميكروبات، فإن الخلايا الطلائية لها عدد من الوظائف الأخرى، بما في ذلك إفراز وامتصاص الجزيئات والأيونات، إنتاج بيبتيديات مضادة للميكروبات وجزيئات مستجيبة أخرى خاصة بالنظام الدفاعي للعائل. وفي المناطق التي يكون فيها امتصاص الجزيئات هي وظيفة مهمة (مثل الأمعاء الدقيقة)، فإن الطبقة الطلائية تنطوي لتعطي العديد من البروزات تشبه الأصبع والتي تعرف بالزوائد وذلك لكي تزيد من المساحة السطحية، وبذلك تعزز من الامتصاص (الشكل رقم ٢٧، ١).

وبالإضافة إلى الخلايا الطلائية، فإن الطبقة الطلائية لمعظم أسطح الأغشية المخاطية تحتوي على نوع أو أكثر من خلايا إضافية. حيث تتواجد عادةً خلايا قادرة على إفراز مكونات المخاط، وتعرف هذه بخلايا جوبليت (انظر الشكل رقم ٣، ٣ و ٧، ٩). وقد يتواجد عدد من الخلايا الأخرى المنطوية على الدفاع عن العائل بما في ذلك الليمفوسيتات الداخلة طلائية والخلايا الشجرية (الدينديرية)، وكلاهما مشارك في الاستجابة المناعية المكتسبة. علاوة على ذلك، فإن الأسطح الطلائية عادةً ما تتخللها فتحات مجموعة متنوعة من الغدد. وقد تتواجد كذلك أنواع أخرى من الخلايا، وذلك بناءً على نوع سطح الغشاء المخاطي المعني، وسيرد ذكر ذلك في الفصول اللاحقة.

### (٢، ٥، ١) الطبقة الطلائية كطارد للميكروبات *The Epithelium as Excluder of Microbes*

هناك عدد من الطرق التي تقوم بها الطبقة الطلائية باستبعاد الميكروبات عن باقي الجسم (الشكل رقم ٢٨، ١). في المقام الأول، هي تعمل كحاجز مادي يمنع اختراق الميكروبات للأنسجة الكامنة تحتها. ثانياً، في أسطح الغشاء المخاطي طبقة المخاط التي تفرزها الطبقة الطلائية تعوق وصول الميكروبات إلى الخلايا الكامنة، وبالتالي تساعد على منع التصاق الميكروبات بهذه الخلايا (الشكل رقم ٢٩، ١). ويتم طرد طبقة المخاط بشكل مستمر إلى خارج الجسم جنباً إلى جنب مع أي ميكروبات معلقة بها.

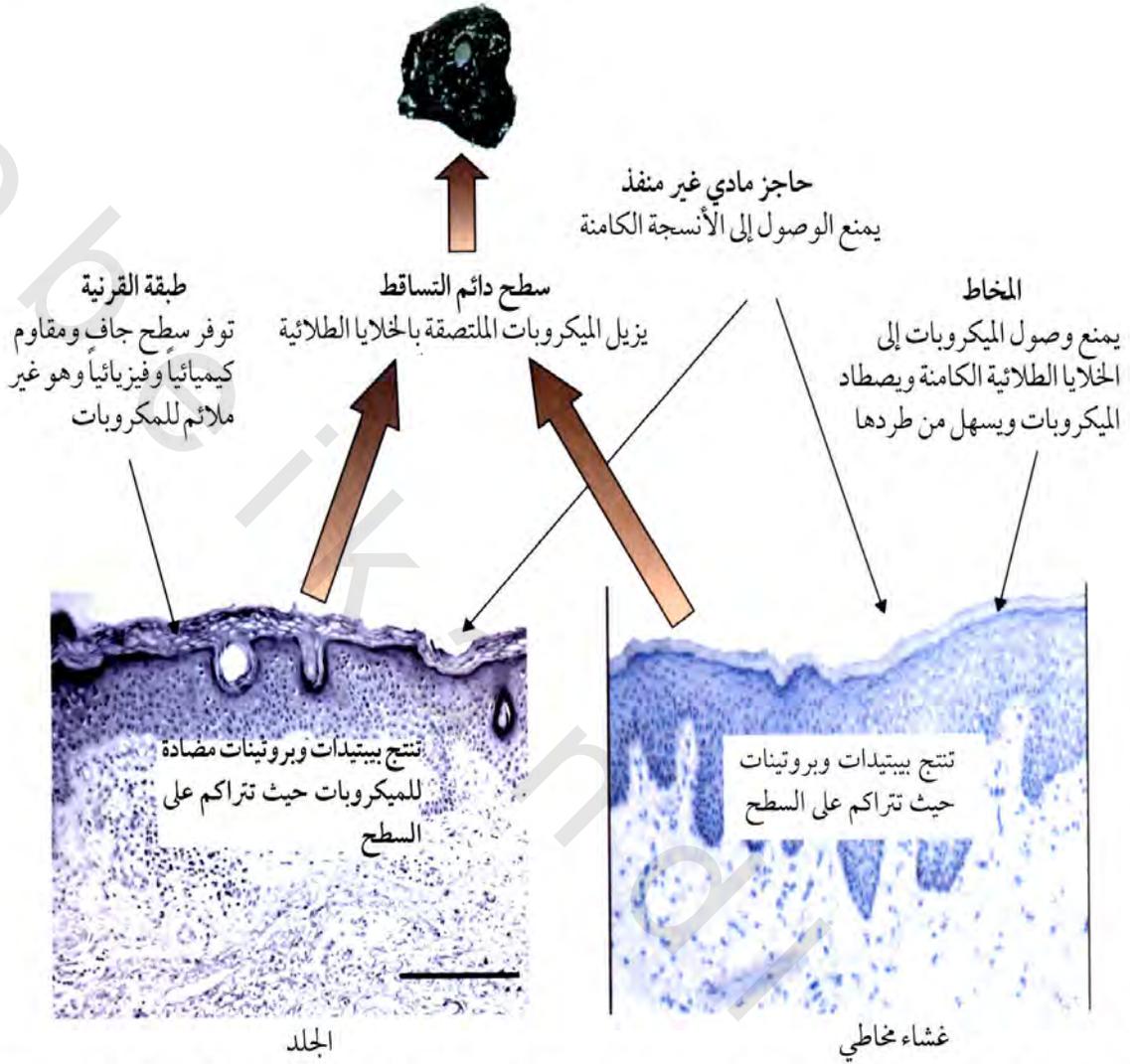


الشكل رقم (٢٧، ١). قطاع عرضي في المعى الصائم البشري. الطبقة الطلائية شديدة الأثخانة لتكون العديد من الذغابات، مما يؤدي إلى زيادة المساحة السطحية لامتصاص وإفراز الجزيئات. ديفد كينج، جامعة إلينوي الجنوبية، مدرسة الطب، إيلينوي، الولايات المتحدة الأمريكية، ٢٠٠٦ م مستخدمة بتصريح.

ثالثاً، فإن الخلايا الخارجية للجلد والغشاء المخاطي تكون في حالة تساقط مستمر حيث يتم استبدالها من أسفل، وهكذا فإن أي ميكروبات تصبح ملتصقة فعلاً يتم طردها مادياً إلى خارج الجسم جنباً إلى جنب مع الخلايا الطلائية المتساقطة (انظر الشكل رقم ٥، ١). وتقوم الطبقة الطلائية على سطح الجلد بعملية تقرن، مما يؤدي إلى تكوين طبقة من خلايا جافة ميتة (كورنيوسيتات)، والتي من الصعب على الميكروبات أن تستعمرها (الشكل رقم ٣٠، ١). أخيراً، فإن الطبقة الطلائية تفرز مجموعة من بروتينات مضادة للميكروبات، والتي لها القدرة سواء على قتل الميكروبات أو تثبيط نموها. وسيرد ذكر مزيد من التفاصيل عن آليات هذه المضادات الميكروبية في الفقرات المناسبة للفصول اللاحقة.

### (١، ٥، ٣) المخاط والميوسينات Mucus and Mucins

بالرغم من أن طبقة المخاط تعد مكوناً مهماً لنظام العائل الدفاعي، فهي أيضاً مصدر رئيس لمغذيات الميكروبات في مواقع مثل القناة التنفسية، والقناة التناسلية والقناة البولية. ويوضح ذلك جانباً مهماً من التفاعل بين البشر والميكروبات، وبغض النظر عن النظام الدفاعي الذي يطلقه العائل، فإن بعض الميكروبات سوف تطور طريقة لمعادلته أو الارتفاع به لمصلحتها الخاصة. إن المخاط - الذي ينتج مكوناته خلايا جوبليت والخلايا الطلائية - لديه العديد من الوظائف الوقائية، وهي ملخصة في الجدول رقم (٩، ١).



الشكل رقم (٢٨ ، ١). الطبقة الطلائية كطاردة للميكروبات. الصورة على اليسار: قطاع في الجلد البشري من أسفل الساق، توضح مختلف

الطبقات بما في ذلك الطبقة القرنية. شريط المقاس ٢٠٠ ميكرومتر. إعادة الطبع بتصريح من ماكميلان الناشر

المحدودة، لندن، المملكة المتحدة، من: Glaser, R., Harder, J., Lange, H., Bartels, J., Christophers, E., and Schroder, J. M. (2005)

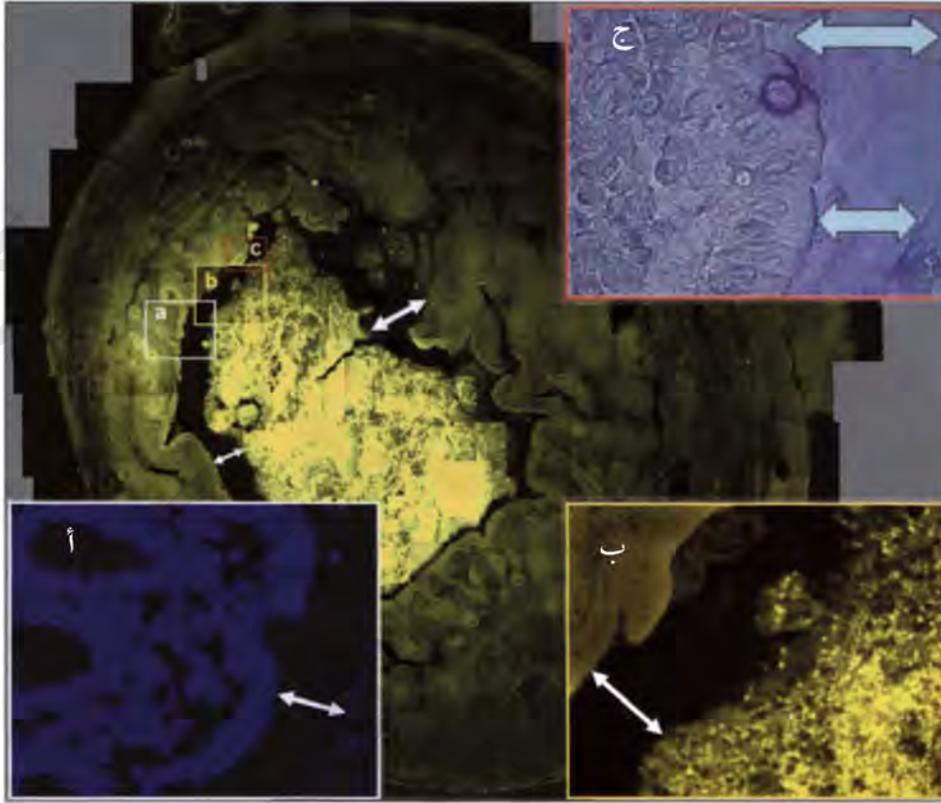
Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from *Escherichia coli* infection. *Nat Immunol*

© 2005, 6: 57-64. الصورة على اليمين: قطاع عرضي في الغشاء المخاطي المهبل. مستنسخة من: Pivarsci, A., Nagy,

I., Koreck, A., Kis, K., Kenderessy-Szabo, A., Szell, M., Dobozy, A., and Kemeny, L (2005) Microbial compounds

induce the expression of pro-inflammatory cytokines, chemokines and human  $\beta$ -defensin-2 in vaginal epithelial

cells. *Microbes and Infection* 7, 1117-27, © 2005 Elsevier، أمستردام، هولندا.



الشكل رقم (٢٩ ، ١). قطاع في الزائدة الدودية لشخص سليم بعد المعالجة بمجس قليل النيكليوتيد (Eub338)، والذي يتجهن مع جميع البكتيريا. في الصورة الرئيسية والمضافة (ب) تظهر الأغشية المخاطية نتيجة الخلفية العادية الفلورنستية لأنسجة الأسنان. ويمكن تمييز الطبقة المخاطية كفقوة مستمرة (أسهم ثنائية الرأس) بين سطح الغشاء المخاطي والبكتيريا (مصبوغة باللون الأصفر/الأخضر) المتموضعة في تجويف الزائدة الدودية. وتكون البكتيريا منفصلة عن السطح الطلائي على امتداد المحيط كله. في الصورة المضافة (ب) صبغت كل من البكتيريا والنسيج باللون الأزرق بواسطة ٦,٤ داي أميدينو -٢- فنيل إندول (DPI) - صبغة للدنا. لا يمكن رؤية بكتيريا في طبقة المخاط (منطقة داكنة، أسهم ثنائية الرأس) التكبير  $\times 400$ . في الصورة المضافة (ج) صبغت كل من النسيج والمخاط بواسطة الألسيان الأزرق/ شيف حمض البيرأيوديك. لا يمكن رؤية بكتيريا في طبقة المخاط (أسهم ثنائية الرأس) بين الأنسجة والبكتيريا المتواجدة في التجويف. منقولة بتصريح من مجموعة BMJ للنشر، لندن، المملكة المتحدة، من: Swidsinski, A., Loening-Baucke, V., Theissig, F., Engelhardt, H., Bengmark, S., Koch, S., Lochs, H. and Doerffel, Y. (2007) Comparative study of

.the intestinal mucous barrier in normal and inflamed colon. *Gut* 56, 343-50.

المكونات الرئيسية للمخاط هي الميوسينات والتي تتواجد عادةً بتركيز بين ٢ - ١٠٪ (وزن/ حجم). وهي عبارة عن جليكوبروتينات تحتوي على نسبة عالية من الكربوهيدرات - عادةً بين ٧٠ - ٨٥٪ (وزن/ حجم). والميوسينات هي جليكوبروتينات غير عادية حيث إن سلسلة الكربوهيدرات الجانبية تكون مرتبطة بالبروتين عند الحمض الأميني السيرين والثريونين عبر ذرة أكسجين (أي أنه أو-تسكر "O-glycosylated")، على الرغم من ذلك فقد يتواجد أيضاً

الارتباط بواسطة ذرة النيتروجين إن-تسكر N-glycosylated (الشكل رقم ٣١, ١). ويتكون تركيب الجزيء النمطي للميوسين من بروتين مرتبط به سلسلة جانبية من الكربوهيدرات بواسطة أو-تسكر و/أو إن-تسكر. ويتكون الهيكل البروتيني من عدة آلاف من الأحماض الأمينية، بحيث تحتوي على مناطق ذات محتوى عالٍ من السلاسل الجانبية من قليل السكريدات (أوليغوسكريدات)، ومناطق أخرى بدون هذه السلاسل الجانبية. والمناطق الغنية بالأوليغوسكريدات تكون مقاومة لإنزيمات البروتيزيس، في حين تكون المناطق الأخرى حساسة له. ومناطق البروتين التي تحتوي على أوليغوسكريدات تكون غنية بالأحماض الأمينية السيرين، الثريونين والبرولين.

وتتكون السلاسل الجانبية عادةً من بين ٢ و ١٢ وحدة من عدد محدود من السكريات- عادةً جلاكتوز، وفوكوز، وإن-أستيل جلوكوز أمين، ومانوز، وأحماض السياليك. وتعرف المنطقة من السلسلة الجانبية المشاركة في الربط بالبروتين بـ "اللب"، وهي نفسها تربط بـ "الهيكل" والذي يتكون من عدد من وحدات متكررة من سكريات الثنائية تحتوي على جلاكتوز وإن-أستيل جلوكوز أمين (الشكل رقم ٣١, ١). وتعرف السكريات الطرفية بـ "الأجزاء المحيطة (الخارجية)"، وتتكون عادةً من حمض السياليك وسكريات مكبرثة (تحتوي على مجموعة كبريتات). وتحدث عملية إضافة مجموعة الكبريتات إلى أقصى مدى لها في تلك الميوسينات التي تتواجد في مواقع الجسم المستعمرة بالميكروبات. والمناطق المحيطة من الجزيء غالباً ما تكون أنتجينية، وتحتوي على ABH أو محددات لويس لفصيلة الدم.



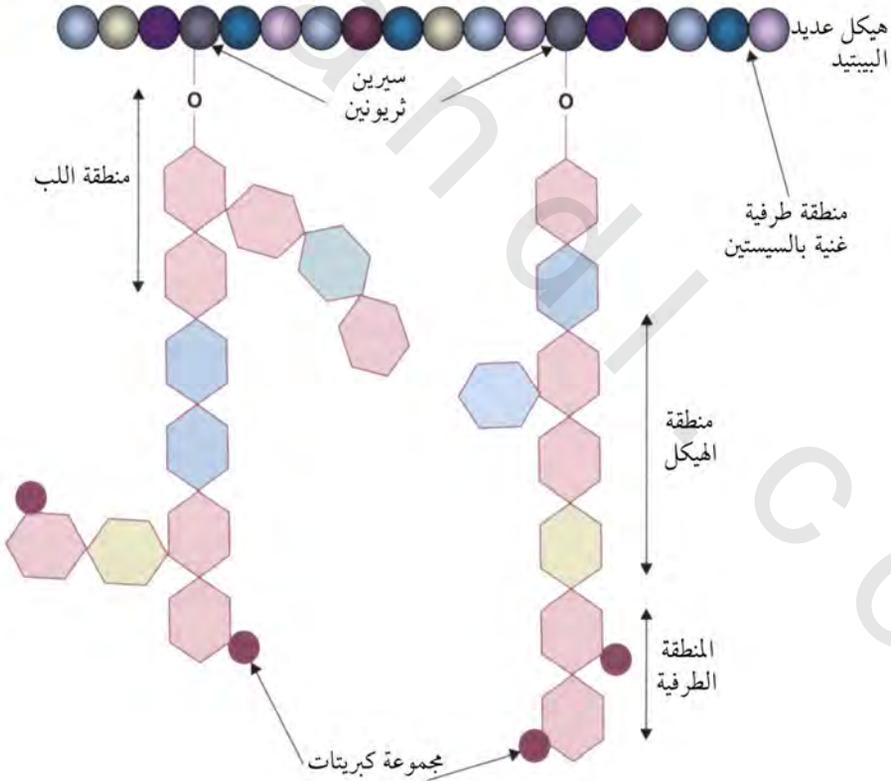
الشكل رقم (٣٠, ١). صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح توضح الخلايا الحرشفية على سطح الجلد. وتكون هي في حالة تساقط مستمر إلى

البيئة، آخذة معها أي ميكروبات ملتصقة بها. منقولة بتصريح من إلسيفر Elsevier، أمستردام، هولندا، من: Noble,

. W.C. (ed.), (1974) *Microbiology of Human Skin*, Volume 2 in the series of *Major Problems in Dermatology*

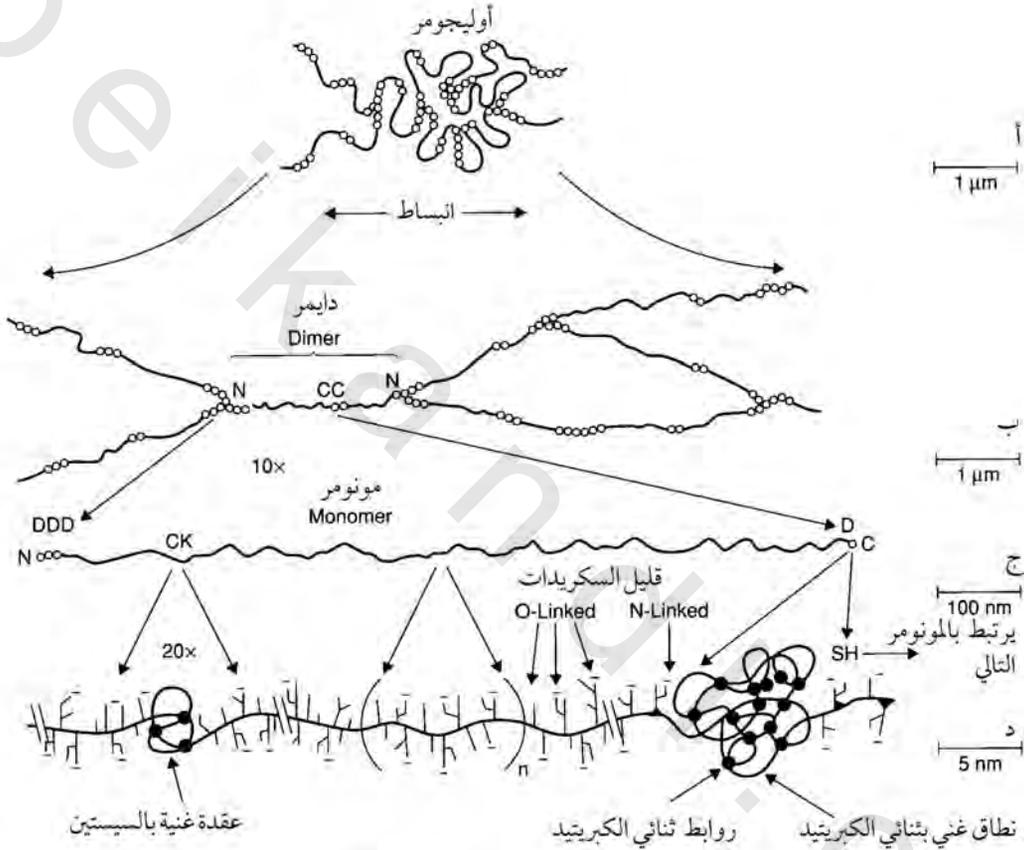
الجدول رقم (٩ ، ١). خصائص المخاط التي تساهم في دورها في حماية الطبقات الطلائية.

التأثير	الخاصية
تصطاد أو تعلق الميكروبات، وبالتالي تمنعها من الوصول إلى الطبقة الطلائية الكامنة واستعمارها	يحتوي على مستقبلات الالتصاق مختلف الميكروبات
تقتل العديد من الكائنات الحية المعلقة	يمنع نفاذ المركبات المضادة للميكروبات (أجسام مضادة، إنزيمات بيبتيدات، إلخ) التي يتجهها الغشاء المخاطي، وبالتالي يزيد من التركيزات الموضعية
تؤدي إلى طرد الميكروبات، مكوناتها ومخارجاتها	يبتج ويطرد من الجسم بشكل مستمر
تمنع الضرر نتيجة الحمض المعدني، إنزيمات، والجسيمات	يحمي الطبقة الطلائية ضد الضرر الكيميائي والمادي نتيجة المواد
تسهل من حركة المواد مثل الطعام، السوائل، الكيموس، إلخ	يزلق ويرطب الغشاء المخاطي



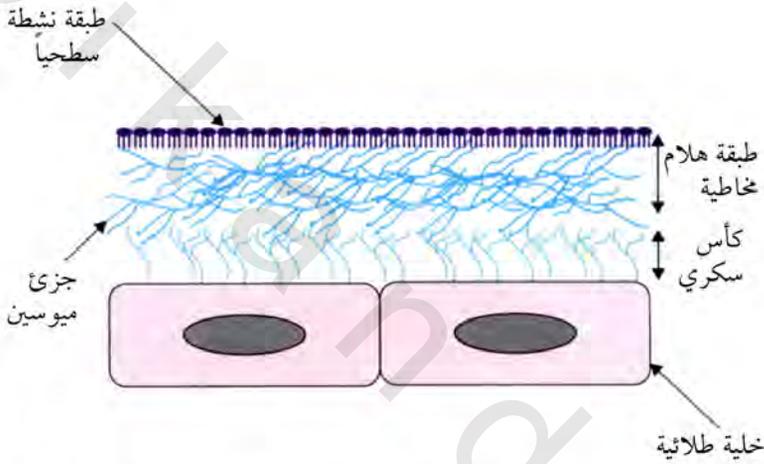
الشكل رقم (٣١ ، ١). تركيب عام لجزيء ميوسين.

إن جزيئات الجليكوبروتين كبيرة (عادةً  $10^6 - 10^7$  دالتون تقريباً)، ولكنها تتواجد عموماً على شكل بوليمرات ذات وزن جزيئي أكبر من ذلك، نتيجة تكوين رابطة الكبريتيد الثنائية والتي تربط المكونات البروتينية بالجزيئات المتجاورة (الشكل رقم ١, ٣٢). وقد يكون طول هذه البوليمرات عدة ميكرومترات، وتكون هلام لزج مرن في الوسط المائي.



الشكل رقم (١, ٣٢). تراكيب الميوسين وحيدة الوحدة (مونومر) وقليلة الوحدات (أوليجومر). (أ) يرتبط عدد من المونومرات الميوسين (يرمز بخطوط) معاً (يرمز للروابط بدوائر) في هلام قليل الوحدات (أوليجومر). (ب) تم مط الهلام لتوضيح الروابط بين المونومرات بشكل أكثر وضوحاً. يرمز N و C إلى الأطراف N و C لمونومرات الميوسين الفردية. (ج) مونومر وحيد مخطط بشكل مبسط يوضح وجود مناطق D الضالعة في تكوين روابط ثنائي الكبريتيد بين المونومرات. (د) تركيب المونومر موضح بتفصيل أكثر. ويجب ملاحظة أن المونومر يحتوي على العديد من قليل السكريات المرتبط عن طريق ذرة الأكسجين والنيتروجين. منقولة بتصريح من مطابع جامعة كامبريدج، كامبريدج، المملكة المتحدة من: Wilson, M., McNab, R. and Henderson, B. (2002) *Bacterial Disease Mechanism; An Introduction to*

ويكون للبوليمر الكلي تركيب يشبه "زجاجة-فرشاة"، حيث تبرز سلاسل الكربوهيدرات الجانبية كـ "شعيرات" من العمود الفقري أو الهيكل البروتيني المركزي. ويتم الحفاظ على هذا التركيب بواسطة قوى التنافر التي تعمل بين سلاسل الكربوهيدرات ذات الشحنة السالبة، وكذلك تلك التي تعمل بين السلاسل الجانبية والهيكل البروتيني. وكذلك تقوم السلاسل الجانبية بحماية البروتين من التحلل بواسطة إنزيمات البروتيزيس، وهكذا تساعد في الحفاظ على سلامة الهلام المخاطي. وبعض من الميوسينات التي تنتجها الطبقة الطلائية لا تكون بوليمرات وتبقى مرتبطة بغشاء الخلية الطلائية تساهمياً، حيث تكون ما يعرف بـ "الكأس السكري" (جليكوكاليكس)، والذي يتفاعل بشكل غير تساهمي مع طبقة المخاط، وبالتالي يساعدها لتبقى مصاحبة لسطح الغشاء المخاطي (الشكل رقم ٣٣، ١).



الشكل رقم (٣٣، ١). سطح الغشاء المخاطي النموذجي مغطى بطبقة من المخاط والذي يكون دائماً ذا طبقة رقيقة من الدهون على سطحه الخارجي. تتفاعل ميوسينات طبقة المخاط مع الميوسينات المرتبطة بالغشاء (يشار إليها عادةً بـ «الكأس السكري»).

إن طبقة المخاط لديها عادةً طبقة أحادية الجزيئات من الدهون على سطحها الخارجي، مما يجعلها كارهة للماء. وبعيداً عن الميوسينات والدهون، فإن المخاط يحتوي كذلك على خلايا متقشرة، مكونات خلايا العائل الميتة والمحللة، أجسام مضادة ومجموعة من المركبات المضادة للميكروبات التي ينتجها الغشاء المخاطي. وفي بعض المناطق (مثل عنق الرحم والقناة التنفسية)، فإن الأهداب تقوم بطرد الهلام المخاطي بشكل مستمر عبر سطح الغشاء المخاطي - وسيرد ذكر ذلك بمزيد من التفصيل في الفقرة (٢، ٤) و (١، ٢، ٦).

إن الأعمدة الفقرية (الهيكل) البروتينية لمختلف الميوسينات المتكونة تكون مشفرة بواسطة عائلة من تسعة جينات MUC، ويعتمد التعبير عن هذه الجينات على موقع الجسم الدقيق (الجدول رقم ١٠، ١). من ثم فإن MUC2 هو النوع الرئيسي من بروتين الميوسين الذي ينتج في القناة المعوية، في حين قد رصد التعبير عن ستة من جينات MUC في عنق الرحم - وبأنماط مختلفة من التعبير الجيني في المراحل المختلفة من الدورة الشهرية. وهناك كذلك اختلافات فيما يتعلق

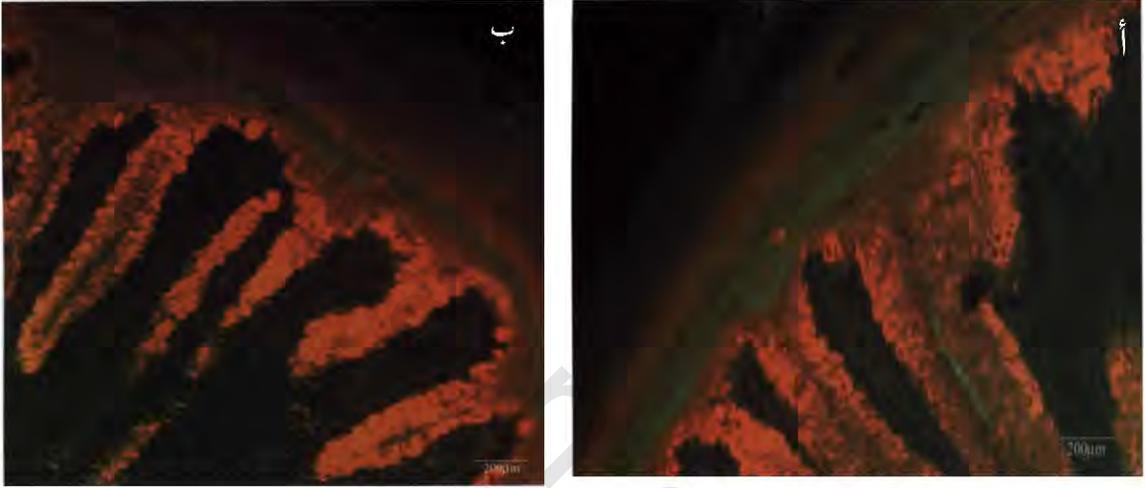
بأنهاط عملية التسكر لنوع محدد من بروتين الميوسين - وبالتالي فإن تركيب سلاسل الكربوهيدرات الجانبية للميوسين الذي يحتوي على بروتين MUC1 سوف يختلف - على سبيل المثال - في القناة التنفسية عنه في القنوات المعوية. وتوجد أنواع معينة من بروتينات الميوسين فقط في المخاط (مثل MUC5AC، الشكل رقم ١٠٣، ١٠٤)، بينما تتواجد أنواع أخرى عادةً فقط في الميوسينات الملتصقة بالخلايا الطلائية (مثل MUC1).

الجدول رقم (١٠، ١). هوية الميوسينات الموجودة في مختلف مواقع الجسم.

الجين	النوع	التعبير الجيني
MUC1	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية، العين، القناة التنفسية
MUC2	إفرازي	القناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC3A	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC3B	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC4	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية، العين، القناة التنفسية
MUC5AC	إفرازي	القناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC5B	إفرازي	القناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC6	إفرازي	لقناة المعوية، القناة التناسلية، القناة التنفسية
MUC12	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية
MUC13	غشائي	القناة المعوية، القناة التناسلية
MUC17	غشائي	القناة المعوية

وبالرغم من أن المخاط يلعب دوراً مهماً في الدفاع عن العائل، فقد طور عددٌ من الميكروبات القدرة على استخدام الميوسينات كمصدر للكربون، النيتروجين، والطاقة. وذلك له أهمية بشكل خاص في تلك المواقع من الجسم، التي ربما لا يتواجد فيها سوى بدائل قليلة من المغذيات، مثل القناة البولية والقناة التنفسية. ومع ذلك، فإن التعقيد التركيبي لهذه البوليمرات يعني أنه من غير المرجح أن يتم تحليلها بشكل كامل بواسطة نوع ميكروبي واحد. ويتطلب مثل هذا التحلل إلى إنتاج مجموعة من الإنزيمات وبترتيب معين وذلك لأنه يمكن الوصول لبعض مناطق الجزيء فقط في حالة إزالة مناطق أخرى منه - يمكن إنجاز ذلك بواسطة إتحادات ميكروبية بشكل أيسر جداً من إنجازها بواسطة أنواع منفردة. وعلى الرغم من ذلك، فيمكن لعدد محدود من الميكروبات أن يحقق التحلل الكامل للميوسين، مثل الكائنات الحية المعوية *Bifidobactaium* sp. و *Ruminococcus gnavus* و *Ruminococcus torques* و *Akkermansia muciphila*. وميكروبات عديدة أخرى لديها مخزون أكثر محدودية من الإنزيمات حيث تنجز تحللاً جزئياً للميوسينات. وبقيامها بذلك، فإنها لا تحصل على المغذيات الكافية لتطلبها الذاتية فقط، ولكنها أيضاً تنتج قطعاً من الميوسين والتي يمكن لكائن حي آخر أن يتتفع بها، وهكذا حتى يكون الاتحاد الميكروبي - في نهاية المطاف - قد حلل كل الجزيء. ومجموعة الأنزيمات المطلوبة لتحقيق التحلل الكامل للميوسين مبينة في الجدول رقم (١١، ١).

لقد رصدت القدرة على تحليل الميوسين - كلياً أو جزئياً - في ميكروبات أو اتحادات ميكروبية تستوطن جميع مواقع الأغشية المخاطية في الجسم، وسيرد ذكر ذلك في الفقرات المناسبة في الفصل الثاني إلى التاسع. إن الإزالة الكاملة للمخاط من سطح الغشاء المخاطي سوف تترك العائل عرضة للاستعمار الميكروبي، وسوف يكون لها نتائج ضارة أخرى. مع ذلك، فهذا لا يبدو أنه حدث شديد الشيع، مما يعني أن معدل استهلاك الميكروبيوتا المستوطنة للمخاط يجب أن يتم بنفس معدل إنتاج المخاط بواسطة العائل - وهذا مثال آخر للعلاقة المتوازنة التي توجد بين العائل والميكروبات المستوطنة له.



الشكل رقم (٣٤، ١). التعريف الكيميائي النسيجي للميوسينات الموجودة في المخاط الذي يغطي الطبقة الطلائية المعدية لذكر بالغ. MUC6 موسوم بجسم مضاد بيدي فلورنستي أخضر اللون، بينما MUC5AC موسوم بجسم مضاد يشع فلورنس لون أحمر-برتقالي. تتكون طبقة المخاط على السطح المعدية أساساً من MUC5AC حيث يمتد في صورة طبقات من الألواح بحيث يكون بينها طبقات من بروتين MUC6. MUC6 منتشر بشكل خاص في الحفر المعدية. منقول بتصريح لطيف من علوم سبرنجر وأعمال الوسائط Springer Science and Business Media ، برلين، ألمانيا، من : Ho, S.B., Takamura, K., Anway, R. et al. (2004) The adherent gastric mucous layer is composed of alternating layer of MUC5AC and MUC6 mucin proteins. *Dig Dis Sci* 49, 1598-1600

#### (٤، ٥، ١) الاستجابات المناعية الطبيعية والمكتسبة على سطح الغشاء المخاطي

##### Innate and Acquired Immune Responses at the Mucosal Surface

إن الخلايا الطلائية تكون في تلامس مستمر بمجموعات ميكروبية معقدة، والتي تتكون - في معظم الأحيان - من أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة لموقع معين. وتحتوي جميع هذه الميكروبات على موديولينات، ولذلك فلها القدرة على حث إطلاق سيتوكينات الالتهابي الأولي (البداية) من خلايا طلائية، وعلى تحريض الاستجابة الالتهابية. ولكي

تتجنب العواقب الضارة للحالة الالتهابية المستمرة في الأغشية المخاطية، فيجب على الطبقة الطلائية في موقع معين أن تكون قادرة على تمييز الميكروبيوتا المستوطنة لهذا الموقع، وأن تقمع أي استجابة التهابية ضدها، بمعنى أنه يجب عليها أن تبدي "تسامحاً" للميكروبيوتا المستوطنة الخاصة بها. مع ذلك، فإن الغشاء المخاطي في حاجة كذلك إلى أن يستجيب سريعاً في حالة وصول كائنات حية التي من المحتمل أن تكون ضارة، وهكذا يجب أن يكون قادراً على التعرف على هذه الكائنات الحية والتمييز بينها وبين أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة لها. ولقد تم الآن فقط البدء في الكشف عن الآليات المسؤولة عن التسامح والتمييز، والقليل الذي عرف عن ذلك قد جاء من دراسات شملت الغشاء المخاطي المعوي. إن الدور الذي يلعبه TLRs في التمييز بين الكائنات الحية الداخلية والخارجية، ومن ثم يساعد في منع الاستجابة الالتهابية ضد النوع الأول، قد تم شرحه في الفقرة (٤, ٢, ١). وسيتم الآن إيجاز الطرق الأخرى لحدوث ذلك.

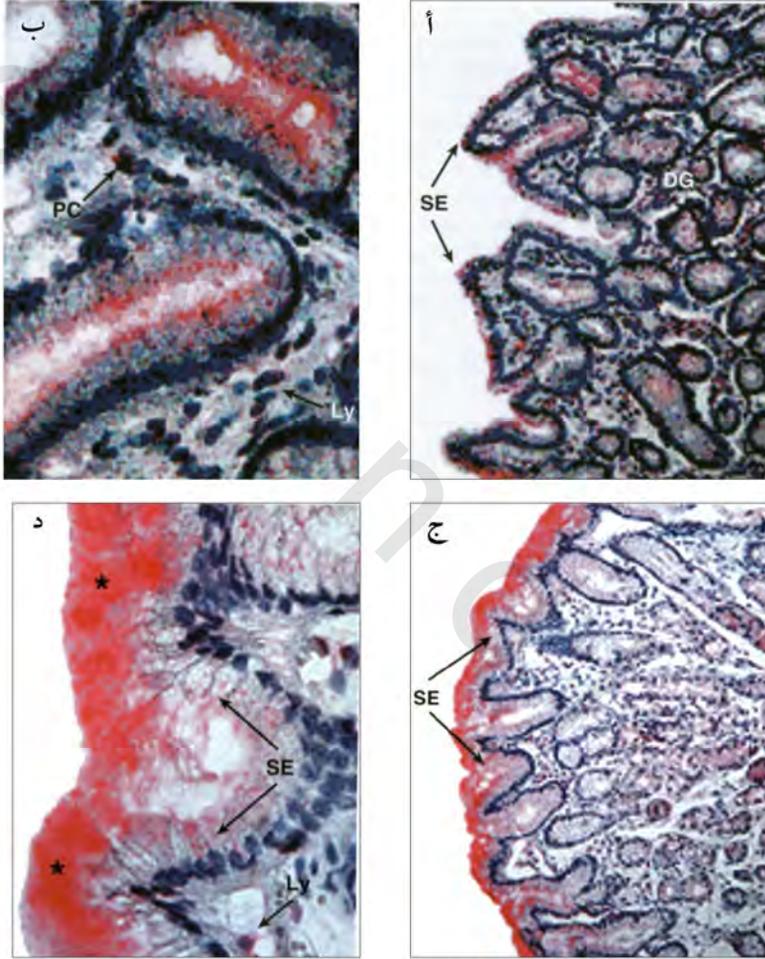
الجدول رقم (١١, ١). الإنزيمات المطلوبة لتحلل الكامل للميوسينات.

نوع الإنزيم	دوره في تحلل الميوسين
سلفاتيزيس	إزالة مجموعات الفوسفات الطرفية، وبالتالي يكشف عن السكريات التحتية وهكذا يجعله أكثر حساسية لفعل إنزيمات الجليكوسيديزيس
سياليديزيس (نيورامينيديزيس)	إزالة مجموعات حمض السياليك الطرفية، مما يعرض السكريات الكامنة لفعل إنزيمات الجليكوسيديزيس. ويمكن لحمض السياليك ذاته أن يتحلل بواسطة إنزيم أستيل نيورامينات بيروفات ليز إلى إن-أستيل مانوز أمين، والذي يمكن أن يستخدم كمصدر للكربون بواسطة بعض البكتيريا
إكسوجليكوسيديزيس	يفسخ السكريات من السلاسل الجانبية مثل بيتا-دي-جلاكتوسيديز، إن-أستيل-بيتا-دي-جلاكتوز أمينيديز، ألفا-فيكوسيديز، إن-أستيل-بيتا-دي-جلاكوأمينيديز
إندوجليكوسيديزيس	يفسخ السلسلة الجانبية كلية من هيكل البيبتيد، أو مهاجمة السلسلة الجانبية في مواقع غير المجموعة الطرفية - قد يحدث ذلك قبل أو بعد فسخ السلسلة الجانبية من البروتين
بيبتيديزيس/بروتيزيس	يفسخ في المناطق غير المسكرة، و يحلل هيكل البروتين بعد أن يكون تم إزالة السلاسل الجانبية

يمكن للممرضات المعوية أن تحث الاستجابة الالتهابية عن طريق تنشيط عامل النسخ الجيني NF- $\kappa$ B وإحدى نتائج ذلك هو تحرير كيموكين النيتروفيل IL-8، والذي يقوم بجذب PMNs إلى الموقع. في المقابل، فإن بعض القاطنين للقناة المعدية المعوية لا يقومون بتنشيط ال NF- $\kappa$ B، بل يقومون بتثبيط تنشيطه بواسطة محفزات التهابية مثل TNF $\alpha$ ، وبالتالي فإنها لا تحرر ال IL-8. وسواء يرجع ذلك إلى إنتاج عامل مثبط للمناعة بواسطة ميكروبات غير ممرضة، أو هو منتج خلوية العائل تم تحفيزه كاستجابة للتحفيز الناشئ بواسطة مثل هذه الكائنات الحية، فذلك لا يزال يتعين توثيقه.

والأثر النهائي هو أن الطبقة الطلائية تحتفظ بحالة استجابية منخفضة بوجود أعضاء الميكروبيوتا المستوطنة، بمعنى أنها تبدي تسامحاً لهذه الميكروبات.

ولقد وجد أن الميكروبات المستوطنة للقناة المعدية المعوية تحفز تحرير السيتوكينات الالتهابية الأولية من خلايا طلائية معوية بشكل عابر فقط. وتقوم ماكروفاجات الصفيحة المتخصصة (البروبريا) بتثبيط ذلك سريعاً. في المقابل، فإن الماكروفاجات غير قادرة على تثبيط تحرير سيتوكينات الالتهابي الأولي الذي تم حفزه بواسطة الممرضات الخارجية.



الشكل رقم (٣٥، ١). الرصد الكيميائي النسيجي المناعي لمثبط بروتيناز كرات الدم البيضاء الإفرازي (SLPI) في الغشاء المخاطي للجيب

المعدي (أ، ب)، وجسم المعدة (ج، د). تشير الصبغة الحمراء إلى وجود SLPI، في حين تصبغ الأنوية بالهيماتوزيلين. يمكن ملاحظة وجود SLPI على السطح الطلائي (SE)، خلايا البلازما (PC)، وليمفوسيتات (Ly). تشير علامة النجمة إلى الطبقة المخاطية وهي أكثر سمكاً في جسم المعدة. التكبير: (أ) و (ج)  $\times 100$  & (ب) و (د)  $\times 400$ .

من: Hritz, I., Kuester, D., Vieth, M., Herszenyl, L., Stolte, M., Roessner, A., Talassay, Z., Wex, T. and Malfertheiner, P. (2006) Secretory Leukocyte protease inhibitor expression in various types of gastritis: A

.Specific role Helicobacter pylori infection. *Eur J Gastroenterol hepatol* 18, 277-82

وبعض الأنواع المعوية المستوطنة- مثل *Lactobacillus spp.* لديه القدرة على حث تحرير TGFβ من خلايا طلائية معوية. والـ TGFβ هو منظم أساسي للاستجابة المناعية وذو تأثير عام مضاد للالتهابي.

أخيراً، فإنه من المسلم به الآن أن البيبتيدات والبروتينات المضادة للميكروبات هي وسائل مهمة حيث عن طريقها تقوم الأغشية المخاطية بتنظيم الميكروبيوتا المستوطنة لها (الشكل رقم ١, ٣٥). وتنتج الخلايا الطلائية نطاقاً واسعاً من البيبتيدات المضادة للميكروبات وهي مدرجة في الجدول رقم (١, ١٢). وبالرغم من أن هذه الجزئيات قد اشتهرت بقدرتها على تثبيط أو قتل الميكروبات، فإن بعضها له القدرة كذلك على القيام بآثار أخرى مثل معادلة الأنشطة البيولوجية للـ LPS (ليبوديدالسكريدات). ويكون لكل بيبتيد مضادة للميكروبات نطاق معين مضاد للميكروبات، وينتج سطح كل غشاء مخاطي بعضاً من هذه البيبتيدات فقط. علاوة على ذلك، فإن بعض البيبتيدات تنتج بشكل مستمر (بنائي)، في حين يحفز إنتاج (يزداد إنتاج) البعض الآخر كاستجابة لأنواع ميكروبية محددة، وتبدي بعض البيبتيدات تآزراً مع البعض الآخر. ولذلك فمن المرجح أن يلعب خليط معين من البيبتيدات الذي يفرزه سطح غشاء مخاطي معين دوراً ما في تحديد تركيب المجتمع الميكروبي في ذلك الموقع.

ومن المرجح أن مجموعة من الآليات السالف ذكرها تمنح أسطح الأغشية المخاطية القدرة على التحكم في تركيب المجتمعات الميكروبية القاطنة لها.

الجدول رقم (١, ١٢). بيبتيدات/ بروتينات مضادة للميكروبات تنتجها الطبقات الطلائية. فيما يتعلق بتلك البيبتيدات/ البروتينات التي ليس لديها في الوقت الحالي أي نشاط بخلاف النشاط المضاد للميكروبات، فإنه من المرجح أن بعض هذه الجزئيات سوف تظهر في النهاية أن لديها أنشطة أخرى، حيث تم اكتشاف العديد منها حديثاً، ولم يتم التحقق من أنشطتها بشكل كامل بعد.

بيبتيد/ بروتين مضاد للميكروبات	موقع الإنتاج	نطاق المضاد الميكروبي	أنشطة أخرى غير نشاطها كمضاد للميكروبات
دفاعي (ديفيسين) بشري-١ من النوع بيتا (HBD-1)	E, S, OC, RT, St, I, UT, FGT	أنواع موجبة وسالبة الجرام بما في ذلك <i>Staph. aureus, E. coli, Listeria monocytogenes, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, و Can. albicans</i>	-
HBD-2	E,S,OC, RT,I, FGT	<i>Strep. pyogenes, E. coli, Ent. faecalis, Can. albicans, Ps. aeruginosa,</i> الليوسوزيم واللاكتوفيرين ضد نطاق من البكتيريا	يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS
HBD-3	S, OC, RT, FGT	<i>Staph. aureus, Ps. aeruginosa, Enterococcus faecium, E. coli, Can. albicans</i>	جاذب كيميائي للمونوسيتات

تابع الجدول رقم (١٢, ١).

أنشطة أخرى غير نشاطها كمضاد للميكروبات	نطاق المضاد الميكروبي	موقع الإنتاج	بيبتيد/ بروتين مضاد للميكروبات
جاذب كيميائي للمونوسيتات	<i>Staph. aureus, E. coli, Strep. pneumoniae, Burkholderia cenocepacia, Staphylococcus carnosus, Ps. aeruginosa;</i>	ST, RT, FGT, MGT	HBD-4
	نشاط تآزري مع الليسوزيم و HBD-3		
-	<i>E. coli</i>	RT, MGT, OC	بروتين البريخ البشري-٢ (HE2)
-	<i>Sal. typhimurium, Lis. monocytogenes, E. coli, Can. albicans, Staph. aureus, Enterobacter aerogenes, Bacillus cereus</i>	FGT, I	دفاعي (ديفيسين) بشري-٥ من النوع ألفا
-	<i>Bac. cereus, E. coli</i>	I	دفاعي (ديفيسين) بشري-٦ من النوع ألفا
كبح تحفيز السيتوكين المستحث بواسطة البكتيريا، تثبيط التجمع المشترك بين <i>Gingivalis .Por</i> و <i>Streptococcus mitis</i> , جاذب كيميائي للمونوسيتات	<i>Can. albicans</i> و خمائر أخرى، بعض النشاط ضد أنواع موجبة الجرام <i>Por. gingivalis</i>	OC	هستاتين
-	<i>Lis. Monocytogenes, Staph. aureus, Bacillus spp., Lactobacillus spp</i>	S, OC, RT, I	البروتينات المميزة للبيتدوجليكان (PGLYRP) (1,2,3,4)
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS و LTA جاذب كيميائي للمونوسيتات، النيوتروفيلات و الليمفوسيتات البشرية	<i>Strep. pyogenes, E. coli, Staph. aureus, Strep. pneumoniae, Staph. epidermidis, Ent. faecalis, Ps. aeruginosa, Lis. monocytogenes, Sal. typhimurium, Bacillus megaterium, Ag. actinomycetemcomitans, F.nucleatum, Capnocytophaga spp.,</i>	S, OC, RT, I, FGT, MGT	كاسليسيدين البشري cathelicidin (LL-37/Hcap-18)
	الليسوزيم ضد نطاق من البكتيريا		

تابع الجدول رقم (١٢, ١).

أنشطة أخرى غير نشاطها كمضاد للميكروبات	نطاق المضاد الميكروبي	موقع الإنتاج	بيبتيد/ بروتين مضاد للميكروبات
	- <i>E. coli, Staph. epidermidis, Staph. aureus, Can. albicans, Streptococcus agalactiae</i>	UT, E,	هيبسيدين Hepcidin LEAP-1 (بيبتيد-١ المنتج بواسطة الكبد)
	كرويات معوية، نشاط تآزري مع الليسوزيم	E	بيتا ليسين
يجمع البكتيريا	فعال ضد البكتيريا موجبة الجرام بشكل رئيس	S, E, OC, RT, I, FGT, MGT	الليسوزيم
رابط للحديد، يمنع الالتصاق البكتيري، يحفز من خلايا NK	<i>Strep. mutans, Sterptococcus bovis, Vibrio cholera, E. coli, Bacillus subtilis, Lis. Monocytogenes</i> ، نشاط تآزري مع الليسوزيم، IgA, LL-37 و الدفاعيات البشرية من النوع بيتا	E, OC, RT, I, FGT, MGT	لاكتوفيرين
	- <i>E. coli, Can. albicans, Salmonella enteritidis, K. pneumonia, Proteus vulgaris, Yersinia enterocolitica, Ps. aeruginosa, Campylobacter jejuni, Staph. aureus, Strep. Mutans, Strep. Bovis, Bac. Subtilis, C. diphtheria, Lis. monocytogenes, Cl. perfringens</i>	E, OC, RT, I, FGT, MGT	لاكتوفيريسين
	- <i>Lis. Monocytogenes, Staph. aureus, Bacillus spp., Lactobacillus spp</i>	S, OC, RT, I	البروتينات المميز للبيتدوجليكان (PGLYRP-1,2,-3,-4)
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ PS و LTA جاذب كيميائي للمونوسيتات، النيوتروفيلات والليمفوسيتات CD4T البشرية	<i>Strep. pyogenes, E. coli, Staph. aureus, Strep. pneumoniae, Staph. epidermidis, Ent. faecalis, Ps. aeruginosa, Lis. monocytogenes, Sal. typhimurium, Bacillus megaterium, Ag. actinomycetemcomitans, F.nucleatum, Capnocytophaga spp.,</i> مع الليسوزيم ضد نطاق من البكتيريا	S, OC, RT, I, FGT, MGT	كاسيليسيدين البشري cathelicidin (LL-37/Hcap-18)

تابع الجدول رقم (١٢، ١).

أنشطة أخرى غير نشاطها كمضاد للميكروبات	نطاق المضاد الميكروبي	موقع الإنتاج	بيبتيد/ بروتين مضاد للميكروبات
	– <i>P. acnes, Staph. aureus, M. luteus, B. fragilis, E. coli, Por. gingivalis, Ag. Astinomycetemcomitans, Eikenella corrodens, Actinomyces naeslundii, and Strep. mutans</i>	S, OC, St, I	أدرينو موديولين
	– <i>Salmonella spp., Ent. Faecalis, Ent. Faecium, Staph. aureus, and E. coli</i>	I, FGT	هستونات
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS	<i>E. coli, Ps. aeruginosa, Staph. aureus</i>	E, OC, RT, FGT, MGT, St, I	مثبط إنزيم البروتينيز الليوكوسيت الإفرازي (SLPI)
	– كائنات حية عديدة موجبة الجرام بما في ذلك عنقوديات، سبحيات، كرويات دقيقة، كرويات معوية، و <i>Lis. monogenes</i>	E, RT, I, MGT	إنزيم فوسفوليبيز الإفرازي
	– <i>E. coli, Ent. faecalis, Staph. aureus, Can. albicans</i>	S	ديرميسلين
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS، يثبط من إنزيم الإلستيز النيوتروفيلي	<i>Staph. aureus, Ps. aeruginosa</i>	RT, S, FGT, MGT	إلافين (مشتق من الجلد مضاد لبروتينيز الليكوسيت)
	– <i>Staph. aureus, Staph. epidermidis, various streptococci spp., H. influenzae, E. coli, Prevotella spp, Por. gingivalis, Pseudomonas sp</i>	E, RT, OC, I	لاكتويروكسيديز (يحفز من التفاعل بين الهيروجين والبيروكسيديز والثيوسيانات، لينتج هيبوثيوسيانات)

تابع الجدول رقم (١٢, ١).

أنشطة أخرى غير نشاطها كمضاد للميكروبات	نطاق المضاد الميكروبي	موقع الإنتاج	بيبتيد/ بروتين مضاد للميكروبات
	- <i>E. coli, Ps. aeruginosa, K. pneumoniae, Serratia marcescens, Staph. aureus, Ent. faecalis</i>	RT	بيبتيد أنيوني
	- <i>Lis. monocytogenes, Listeria innocua, Ent. faecalis</i>	I	Regilly
	- <i>Ps. aeruginosa</i>	RT, OC	ستاتيرين Statherin
	بعض الأنواع سالبة الجرام	RT	جلانديولين Glandulin
	<i>E. coli, Klebsiella spp. Staph. epidermidis, Can. albicans</i>	FGT, OC	كالبروتيكتين Calprotectin
كيموكين	<i>E. coli</i>	S	سورياسين Psoriasis
	- <i>E. coli, Ps. aeruginosa, Staph. aureus, Can. albicans</i>	S, RT, OC	RNase7
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS	نشط ضد نطاق واسع الأنواع سالبة الجرام بما في ذلك <i>E. coli, Salmonella spp. Shigella spp., K. pneumonia, Ps. aeruginosa</i>	يتواجد في النيوتروفيل، ثبت مؤخراً أنه يفرز في بعض الأغشية المخاطية بما في ذلك E, RT, OC, I	بروتين محفز لقتل / نفاذية البكتيريا
	- <i>E. coli, K. pneumoniae, Salmonella spp. Ent. faecalis</i>	FGT	هيميسيدينات (قطع من الهيموجلوبيين)
يعادل بعض الأنشطة البيولوجية للـ LPS	<i>Ps. aeruginosa</i> ومن المحتمل أنواع أخرى سالبة الجرام	RT, E, I, OC	بروتين SPLUNC1 (نسيل - ١ من ثلاثية الحنك، الرئة والأنف)

تابع الجدول رقم (١٢, ١).

أنشطة أخرى غير نشاطها	نطاق المضاد الميكروبي	موقع الإنتاج	بيبتيد/ برونين مضاد للميكروبات
كمضاد للميكروبات			
يحفز من هجرة خلايا T، الخلايا اشجيرية (الديندرية) (غير الناضجة) ومجموعة من خلايا T الذاكرة	نشط أساساً ضد أنواع سالبة الجرام		كيموكين ليجاند-٢٠ (CCL20)

E: العين، FGT: القناة التناسلية الأنثوية، ا: الأمعاء، MGT: القناة التناسلية الذكرية، OC: التجويف الفموي، RT: القناة التنفسية، S: الجلد، St: المعدة، UT: القناة البولية

## المراجع

## 1.6 FURTHER READING

## 1.6.1 Books

- Atlas, R.M. and Bartha, R. (1997) *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications*. Addison-Wesley, Boston, Massachusetts, USA.
- Grubb, R., Midtvedt, T. and Norin, E. (eds). (1988) *The Regulatory and Protective Role of the Normal Microflora*. Stockton Press, New York, New York, USA.
- Hill, M.J. and Marsh P.D. (1990) *Human Microbial Ecology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Nataro, J.P., Cohen, P.S., Mobley, H.L.T. and Weiser, J.N. (2005) *Colonization of Mucosal Surfaces*. ASM Press, Washington DC, USA.
- Osborn, A.M. and Smith, C.J. (eds). (2005) *Molecular Microbial Ecology*. Taylor & Francis, New York, New York, USA.
- Rosebury, T. (1962) *Microorganisms Indigenous to Man*. McGraw-Hill Book Company, New York, New York, USA.
- Shafer, W.M. (ed.). (2006) *Antimicrobial Peptides and Human Disease*. Springer Science and Business Media, Berlin, Germany.
- Skinner, F.A. and Carr, J.G. (eds). (1974) *The Normal Microbial Flora of Man*. Academic Press, London, UK.
- Tannock, G.W. (1995) *Normal Microflora*. Chapman and Hall, London, UK.
- Tannock, G.W. (ed.). (1999) *Medical Importance of the Normal Microflora*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Wilson, M. (2005) *Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

## 1.6.2 Reviews and papers

- Agerberth, B. and Gudmundsson, G.H. (2006) Host antimicrobial defence peptides in human disease. *Curr Top Microbiol Immunol* 306, 67–90.
- Albiger, B., Dahlberg, S., Henriques-Normark, B. and Normark, S. (2007) Role of the innate immune system in host defence against bacterial infections: Focus on the Toll-like receptors. *J Intern Med* 261, 511–28.
- Backhed, F., Ley, R.E., Sonnenburg, J.L., Peterson, D.A. and Gordon, J.I. (2005) Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 307, 1915–20.
- Bae, J.W. and Park, Y.H. (2006) Homogeneous versus heterogeneous probes for microbial ecological microarrays. *Trends Biotechnol* 24, 318–23.
- Battin, T.J., Sloan, W.T., Kjelleberg, S., Daims, H., Head, I.M., Curtis, T.P. and Eberl, L. (2007) Microbial landscapes: New paths to biofilm research. *Nat Rev Microbiol* 5, 76–81
- Bayles, K.W. (2007) The biological role of death and lysis in biofilm development. *Nat Rev Microbiol* 5, 721–6
- Beisswenger, C. and Bals, R. (2005) Functions of antimicrobial peptides in host defense and immunity. *Curr Protein Pept Sci* 6, 255–64.
- Blaut, M., Collins, M.D., Welling, G.W., Dore, J., van Loo, J. and de Vos, W. (2002) Molecular biological methods for studying the gut microbiota: The EU human gut flora project. *Brit J Nutr* 87 (Suppl 2), S203–11.
- Bohannan, B.J., Kerr, B., Jessup, C.M., Hughes, J.B. and Sandvik, G. (2002) Trade-offs and coexistence in microbial microcosms. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 107–15.
- Boix, E. and Nogues, M.V. (2007). Mammalian antimicrobial proteins and peptides: Overview on the RNase A superfamily members involved in innate host defence. *Mol Biosyst* 3, 317–35.
- Boman, H.G. (2000) Innate immunity and the normal microflora. *Immunol Rev* 173, 5–16.
- Bottari, B., Ercolini, D., Gatti, M. and Neviani, E. (2006) Application of FISH technology for microbiological analysis: Current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol* 73, 485–94.
- Branda, S.S., Vik, S., Friedman, L. and Kolter, R. (2005) Biofilms: The matrix revisited. *Trends Microbiol* 13, 20–6.
- Brown, K.L. and Hancock, R.E. (2006) Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Curr Opin Immunol* 18, 24–30.
- Cario, E. (2005) Bacterial interactions with cells of the intestinal mucosa: Toll-like receptors and NOD2. *Gut* 54, 1182–93.
- Cheesman, S.E. and Guillemin, K. (2007) We know you are in there: Conversing with the indigenous gut microbiota. *Res Microbiol* 158, 2–9.
- Clavel, T. and Haller, D. (2007) Molecular interactions between bacteria, the epithelium, and the mucosal immune system in the intestinal tract: Implications for chronic inflammation. *Curr Issues Intest Microbiol* 8, 25–43
- Corthesy, B. (2007) Roundtrip ticket for secretory IgA: Role in mucosal homeostasis? *J Immunol* 178, 27–32.
- Dethlefsen, L., Eckburg, P.B., Bik, E.M. and Relman, D.A. (2006) Assembly of the human intestinal microbiota. *Trends Ecol Evol* 21, 517–23.
- Dethlefsen, L., McFall-Ngai, M. and Relman, D.A. (2007) An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature* 449, 811–18.
- Domka, J., Lee, J., Bansal, T. and Wood, T.K. (2007) Temporal gene-expression in *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Environ Microbiol* 9, 332–46.
- Donskey, C.J., Hujer, A.M., Das, S.M., Pultz, N.J., Bonomo, R.A. and Rice, L.B. (2003) Use of denaturing gradient gel electrophoresis for analysis of the stool microbiota of hospitalized patients. *J Microbiol Methods* 54, 249–56.
- Dunn, A.K. and Stabb, E.V. (2007) Beyond quorum sensing: The complexities of prokaryotic parliamentary procedures. *Anal Bioanal Chem* 387, 391–8.
- Durr, U.H., Sudheendra, U.S. and Ramamoorthy, A. (2006) LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta* 1758, 1408–25.

- Dziarski, R. and Gupta, D. (2006) Mammalian PGRPs: Novel antibacterial proteins. *Cell Microbiol* 8, 1059–69.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E. and Relman, D.A. (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 308, 1635–8.
- Elson, C.O. and Cong, Y. (2002) Understanding immune-microbial homeostasis in the intestine. *Immunol Rev* 26, 87–94.
- Emonts, M., Hazelzet, J.A., de Groot, R. and Hermans, P.W. (2003) Host genetic determinants of *Neisseria meningitidis* infections. *Lancet Infect Dis* 3, 565–77.
- Finegold, S.M. (2004) Changes in taxonomy, anaerobes associated with humans, 2001–2004. *Anaerobe* 10, 309–12.
- Fujimoto, C., Maeda, H., Kokeguchi, S., Takashiba, S., Nishimura, F., Arai, H., Fukui, K. and Murayama, Y. (2003) Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) to the analysis of microbial communities of subgingival plaque. *J Periodontol Res* 38, 440–45.
- Gavazzi, G. and Krause, K.H. (2002) Ageing and infection. *Lancet Infect Dis* 2, 659–66.
- Gill, S.R., Pop, M., Deboy, R.T., Eckburg, P.B., Turnbaugh, P.J., Samuel, B.S., Gordon, J.I., Relman, D.A., Fraser-Liggett, C.M. and Nelson, K.E. (2006) Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 312, 1355–9.
- Goodacre, R. (2007) Metabolomics of a superorganism. *J Nutr* 137, S259–66.
- Greene, E.A. and Voordouw, G. (2003) Analysis of environmental microbial communities by reverse sample genome probing. *J Microbiol Methods* 53, 211–19.
- Guan, R. and Mariuzza, R.A. (2007) Peptidoglycan recognition proteins of the innate immune system. *Trends Microbiol* 15, 127–34.
- Gupta, G. and Surolia, A. (2007) Collectins: Sentinels of innate immunity. *Bioessays* 29, 452–64.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W. and Stoodley, P. (2004) Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2, 95–108.
- Hebuterne, X. (2003) Gut changes attributed to ageing: Effects on intestinal microflora. *Curr Opin Clin Nutr Metabolic Care* 6, 49–54.
- Iweala, O.I. and Nagler, C.R. (2006) Immune privilege in the gut: The establishment and maintenance of non-responsiveness to dietary antigens and commensal flora. *Immunol Rev* 213, 82–100.
- Kapetanovic, R. and Cavaillon, J.M. (2007) Early events in innate immunity in the recognition of microbial pathogens. *Expert Opin Biol Ther* 7, 907–18.
- Keller, L. and Surette, M.G. (2006) Communication in bacteria: An ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 4, 249–58.
- Knowles, M.R. and Boucher, R.C. (2002) Mucus clearance as a primary innate defense mechanism for mammalian airways. *J Clin Invest* 109, 571–7.
- Lerat, E. and Moran, N.A. (2004) The evolutionary history of quorum-sensing systems in bacteria. *Mol Biol Evol* 21, 903–13.
- Ley, R.E., Peterson, D.A. and Gordon, J.I. (2006) Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 124, 837–48.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S. and Gordon, J.I. (2006) Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444, 1022–3.
- Lievin-Le Moal, V. and Servin, A.L. (2006) The front line of enteric host defense against unwelcome intrusion of harmful microorganisms: Mucins, antimicrobial peptides, and microbiota. *Clin Microbiol Rev* 19, 315–37.
- Macpherson, A.J., Geuking, M.B. and McCoy, K.D. (2005) Immune responses that adapt the intestinal mucosa to commensal intestinal bacteria. *Immunology* 115, 153–62.
- Magalhaes, J.G., Tattoli, I. and Girardin, S.E. (2007) The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Semin Immunol* 19, 106–15.
- McFarland, L.V. (2000) Normal flora: Diversity and functions. *Microb Ecol Health Dis* 12, 193–207.
- McGlauchlen, K.S. and Vogel, L.A. (2003) Ineffective humoral immunity in the elderly. *Microbes Infect* 5, 1279–84.
- Nobile, C.J. and Mitchell, A.P. (2007) Microbial biofilms: *E pluribus unum*. *Curr Biol* 17, R349–53.
- Nochi, T. and Kiyono, H. (2006) Innate immunity in the mucosal immune system. *Curr Pharm Des* 12, 4203–13.
- O'Hara, A.M. and Shanahan, F. (2006) The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 7, 688–93.
- O'Neill, L.A. (2006) How Toll-like receptors signal: What we know and what we don't know. *Curr Opin Immunol* 18, 3–9.
- Otto, M. (2006) Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. *Curr Top Microbiol Immunol* 306, 251–8.
- Palmer, C., Bik, E.M., Eisen, M.B., Eckburg, P.B., Sana, T.R., Wolber, P.K., Relman, D.A. and Brown, P.O. (2006) Rapid quantitative profiling of complex microbial populations. *Nucleic Acids Res* 34(1), e5.
- Palmer, J., Flint, S. and Brooks, J. (2007) Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol* 34, 577–88.
- Pandey, S. and Agrawal, D.K. (2006) Immunobiology of Toll-like receptors: Emerging trends. *Immunol Cell Biol* 84, 333–41.
- Parsek, M.R. and Greenberg, E.P. (2005) Sociomicrobiology: The connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol* 13, 27–33.
- Ponda, P.P. and Mayer, L. (2005) Mucosal epithelium in health and disease. *Curr Mol Med* 5, 549–56.
- Preston-Malham, J., Boddy, L. and Randerson, P.F. (2002) Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – A critique. *FEMS Microb Ecol* 42, 1–14.

- Rakoff-Nahoum, S. and Medzhitov, R. (2006) Role of the innate immune system and host-commensal mutualism. *Curr Top Microbiol Immunol* 308, 1–18.
- Reading, N.C. and Sperandio, V. (2006) Quorum sensing: The many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 254, 1–11.
- Relman, D.A. (2002) New technologies, human-microbe interactions, and the search for previously unrecognized pathogens. *J Infect Dis* 186 (Suppl 2), S254–8.
- Riley, M.A. and Wertz, J.E. (2002) Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol* 56, 117–37.
- Rusch, V.C. (1989) The concept of symbiosis: A survey of terminology used in description of associations of dissimilarly named organisms. *Microecol Therapy* 19, 33–59.
- Sansonetti, P.J. and Di Santo, J.P. (2007) Debugging how bacteria manipulate the immune response. *Immunity* 26, 149–61.
- Schnare, M., Rollinghoff, M. and Qureshi, S. (2006) Toll-like receptors: Sentinels of host defence against bacterial infection. *Int Arch Allergy Immunol* 139, 75–85.
- Seebah, S., Suresh, A., Zhuo, S., Choong, Y.H., Chua, H., Chuon, D., Beuerman, R. and Verma, C. (2007) Defensins knowledgebase: A manually curated database and information source focused on the defensins family of antimicrobial peptides. *Nucleic Acids Res* 35, D265–8.
- Sheehan, J.K., Kesimer, M. and Pickles, R. (2006) Innate immunity and mucus structure and function. *Novartis Found Symp* 279, 155–66.
- Sirard, J.C., Bayardo, M. and Didierlaurent, A. (2006) Pathogen-specific TLR signaling in mucosa: Mutual contribution of microbial TLR agonists and virulence factors. *Eur J Immunol* 36, 260–3.
- Smith, V.H. (2002) Effects of resource supplies on the structure and function of microbial communities. *Antonie Van Leeuwenhoek* 81, 99–106.
- Sonnenburg, J.L., Angenent, L.T. and Gordon, J.I. (2004) Getting a grip on things: How do communities of bacterial symbionts become established in our intestine? *Nat Immunol* 5, 569–73.
- Thornton, D.J. and Sheehan, J.K. (2004) From mucins to mucus: Toward a more coherent understanding of this essential barrier. *Proc Am Thorac Soc* 1, 54–61.
- Tjabringa, G.S., Vos, J.B., Olthuis, D., Ninaber, D.K., Rabe, K.F., Schalkwijk, J., Hiemstra, P.S. and Zeeuwen, P.L. (2005) Host defense effector molecules in mucosal secretions. *FEMS Immunol Med Microbiol* 45, 151–8.
- Tlaskalova-Hogenova, H., Tuckova, L., Mestecky, J., Kolinska, J., Rossmann, P., Stepankova, R., Kozakova, H., Hudcovic, T., Hrnčir, T., Prolova, L. and Kverka, M. (2005) Interaction of mucosal microbiota with the innate immune system. *Scand J Immunol* 62 (Suppl 1), 106–13.
- Toivanen, P., Vaahtovuori, J. and Eerola, E. (2001) Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora. *Infect Immun* 69, 2372–7.
- Trinchieri, G. and Sher, A. (2007) Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat Rev Immunol* 7, 179–90.
- Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R. and Gordon, J.I. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444, 1027–31.
- Vimr, E.R., Kalivoda, K.A., Deszo, E.L. and Steenbergen, S.M. (2004) Diversity of microbial sialic acid metabolism. *Microbiol Mol Biol Rev* 68, 132–53.
- Waters, C.M. and Bassler, B.L. (2005) Quorum sensing: Cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* 21, 319–46.
- Weinberg, E.D. (2007) Antibiotic properties and applications of lactoferrin. *Curr Pharm Des* 13, 801–2.
- Weng, L., Rubin, E.M. and Bristow, J. (2006) Application of sequence-based methods in human microbial ecology. *Genome Res* 16, 316–22.
- West, A.P., Koblansky, A.A. and Ghosh, S. (2006) Recognition and signaling by toll-like receptors. *Annu Rev Cell Dev Biol* 22, 409–37.
- Williams, O.W., Sharafkhaneh, A., Kim, V., Dickey, B.F. and Evans, C.M. (2006) Airway mucus: From production to secretion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 34, 527–36.
- Williams, P., Winzer, K., Chan, W.C. and Camara, M. (2007) Look who's talking: Communication and quorum sensing in the bacterial world. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362, 1119–34.
- Winkler, P., Ghadimi, D., Schrezenmeier, J. and Kraehenbuhl, J.P. (2007) Molecular and cellular basis of microflora-host interactions. *J Nutr* 137, 756S–72S.
- Woof, J.M. and Kerr, M.A. (2006) The function of immunoglobulin A in immunity. *J Pathol* 208, 270–82.
- Xu, J. (2006) Microbial ecology in the age of genomics and metagenomics: Concepts, tools, and recent advances. *Mol Ecol* 15, 1713–31.
- Xu, J. and Gordon, J.I. (2003) Honor thy symbionts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100, 10452–9.
- Zhou, J. (2003) Microarrays for bacterial detection and microbial community analysis. *Curr Opin Microbiol* 6, 288–94.
- Zoetendal, E.G., Akkermans, A.D.L., Akkermans-van Vliet, W.M., de Visser, J.A.G.M. and de Vos, W.M. (2001) The host genotype affects the bacterial community in the human gastrointestinal tract. *Microbial Ecology in Health and Disease* 13, 129–34.