

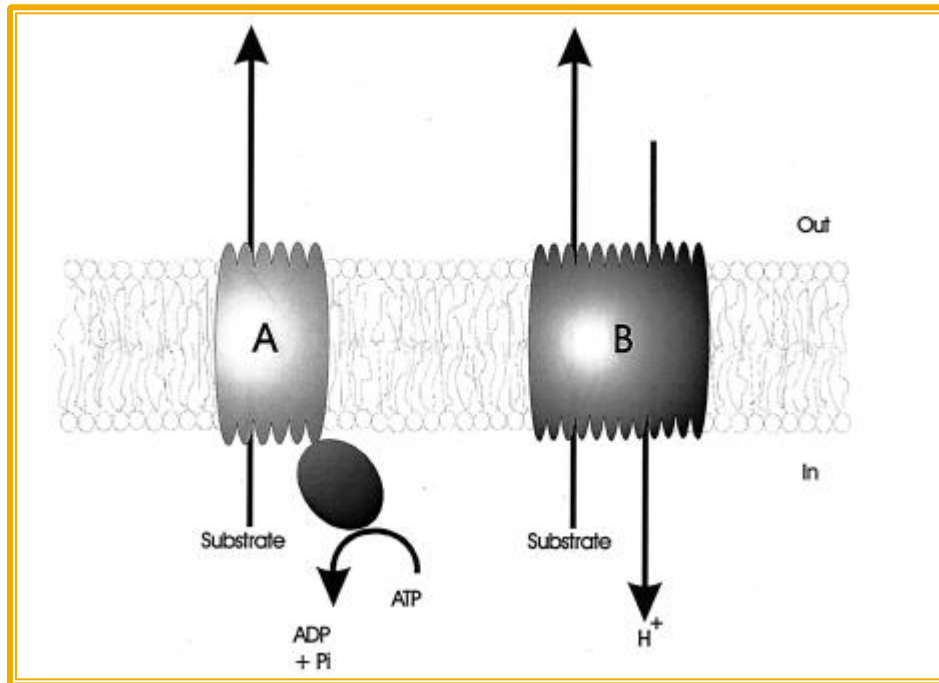
Mycobacterium tuberculosis'te Dışa Atım Pompaları

Doç. Dr. Zeynep SARIBAŞ
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Mikrobiyoloji AD.
2015

Dışa atım pompaları

- Dışa atım (efflux)..transporter
- Geniş substrat özgüllüğü (polispesifik)
- Doğal fonksiyonları

Dışa Atım Pompaları



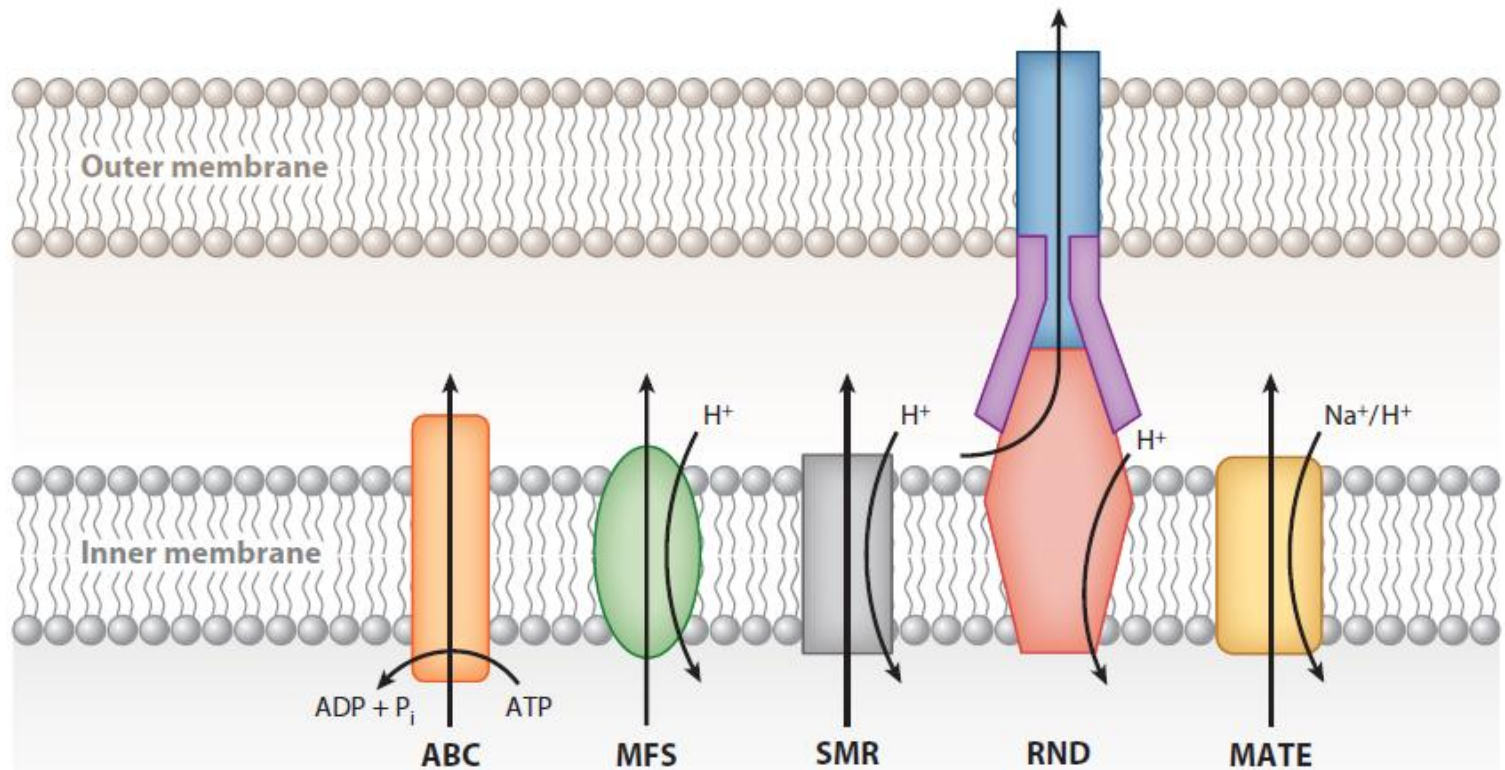
Dışa Atım Pompaları

- ABC (ATP-binding cassette)

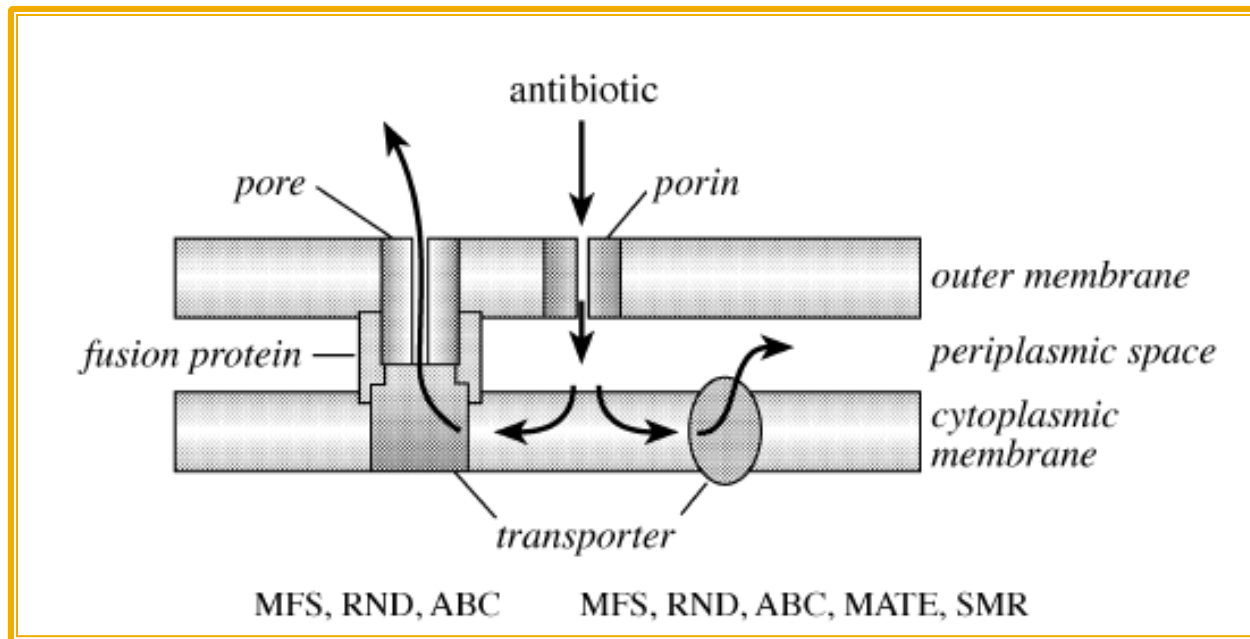
Sekonder

- MFS (major facilitator superfamily)
- SMR (small multidrug resistance)
- RND (resistance-nodulation-division)
- MATE (multidrug and toxic compound extrusion)

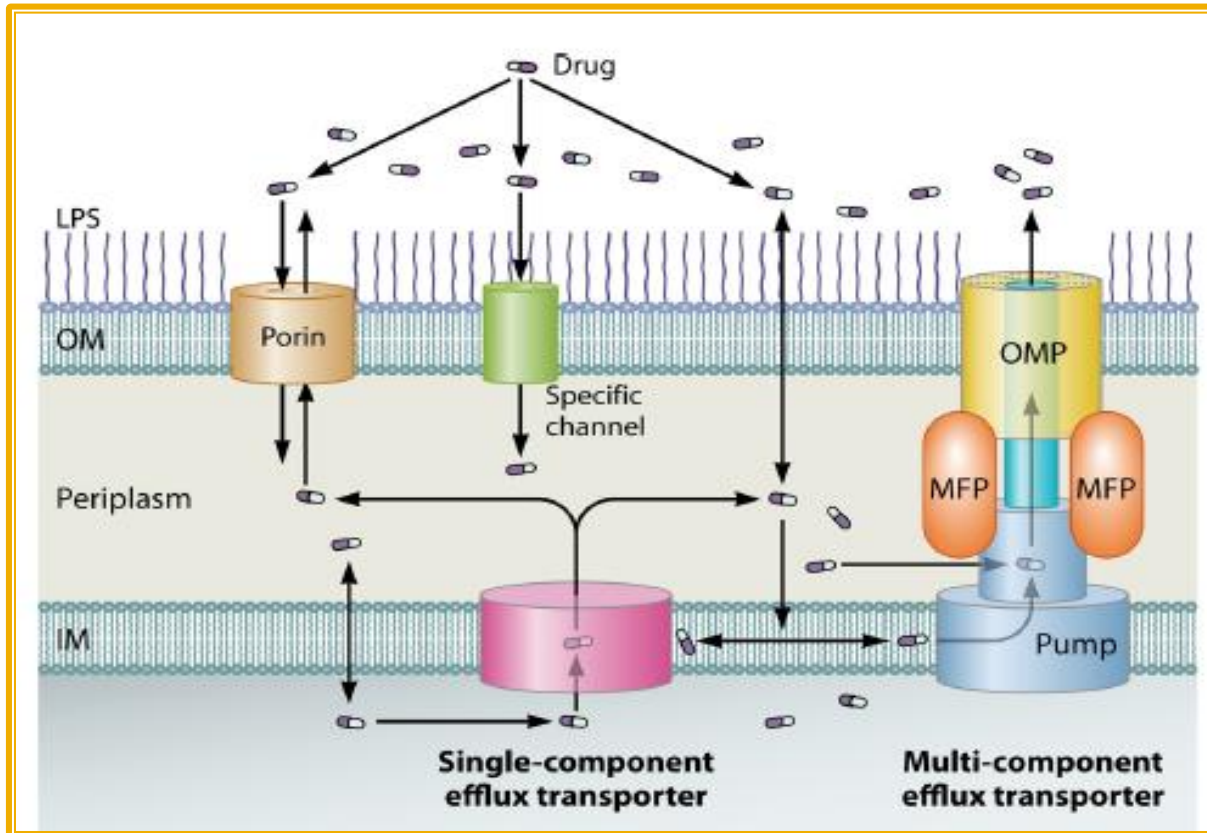
Dışa Atım Pompaları



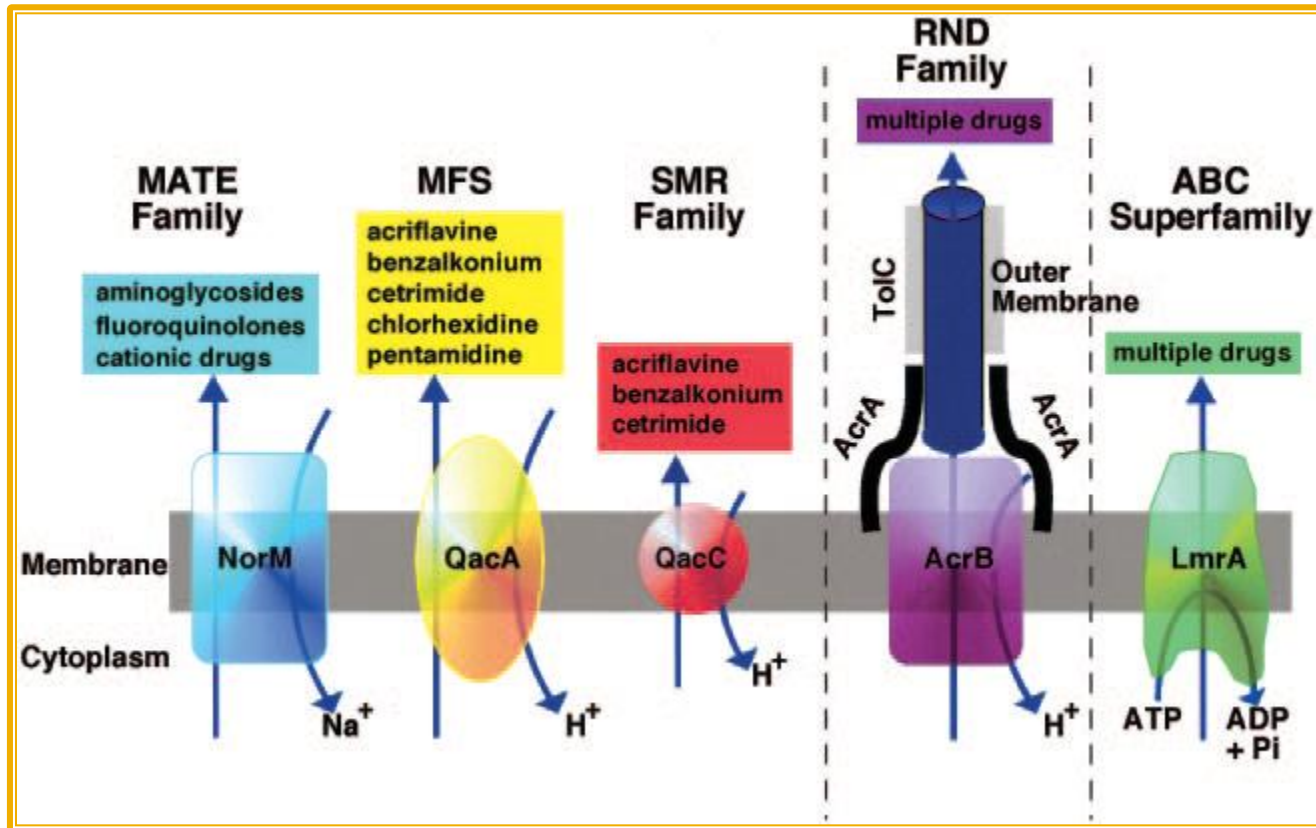
Dışa Atım Pompaları



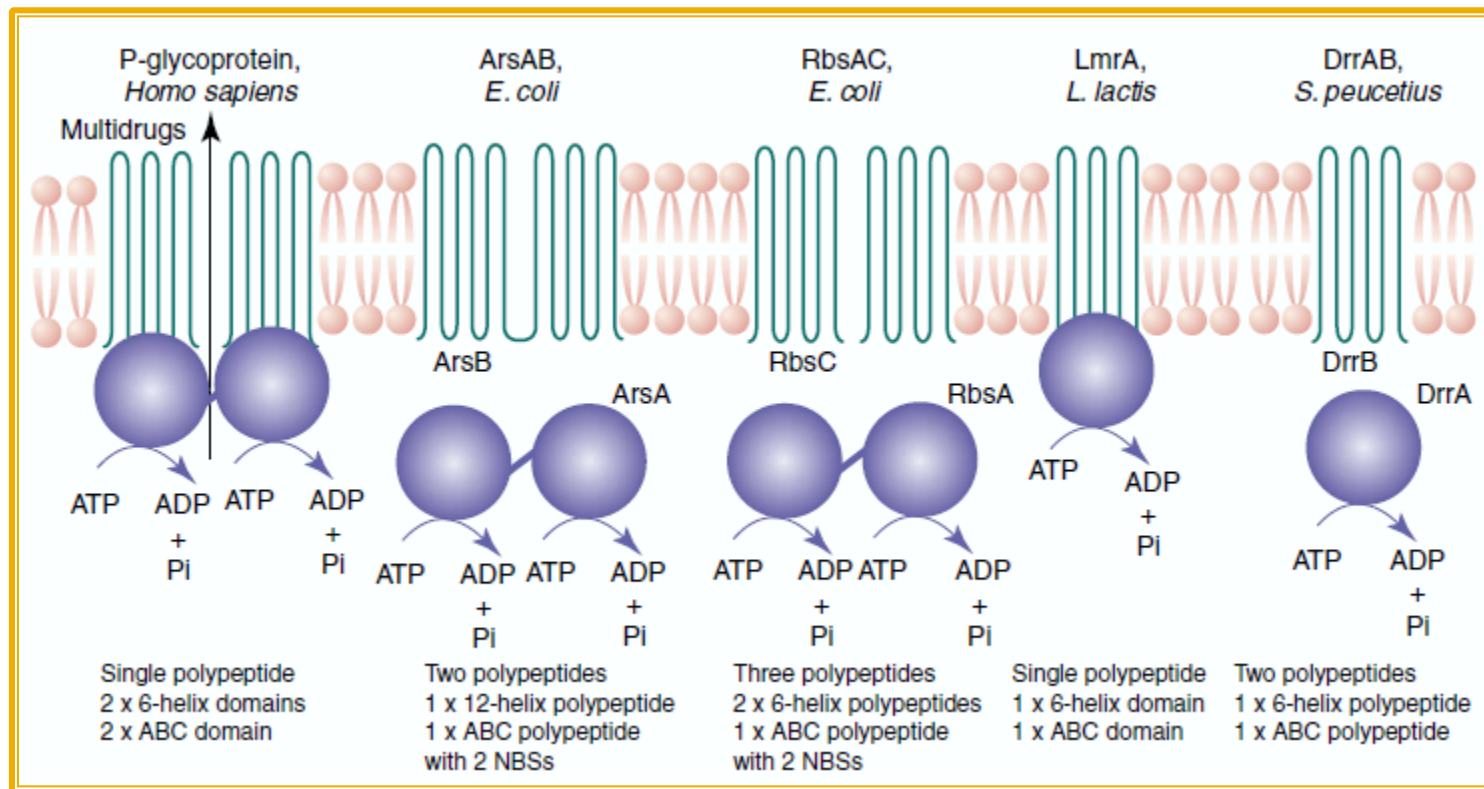
Dışa Atım Pompaları



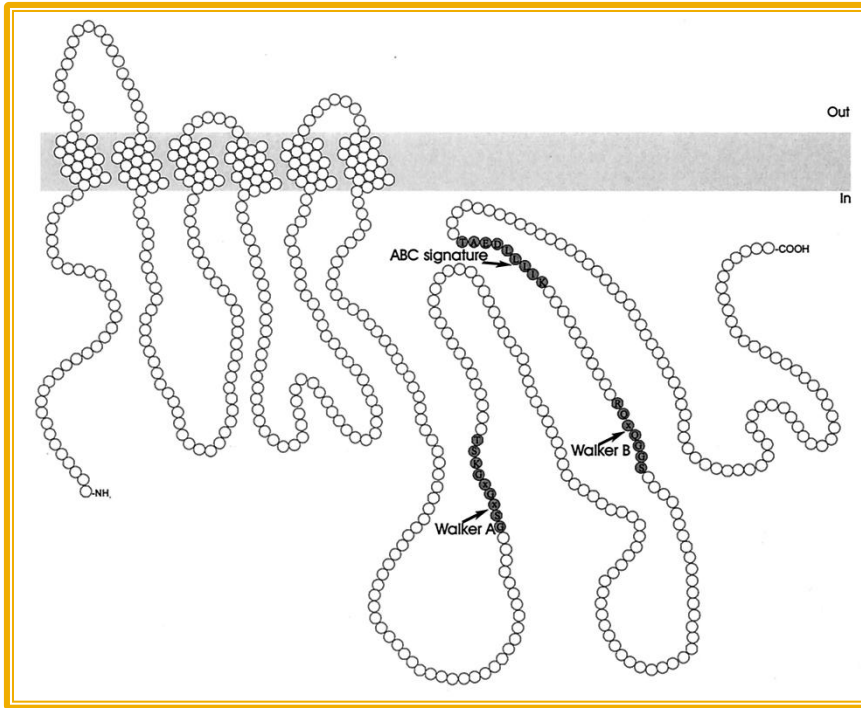
Dışa Atım Pompaları



ABC dışa atım pompaları

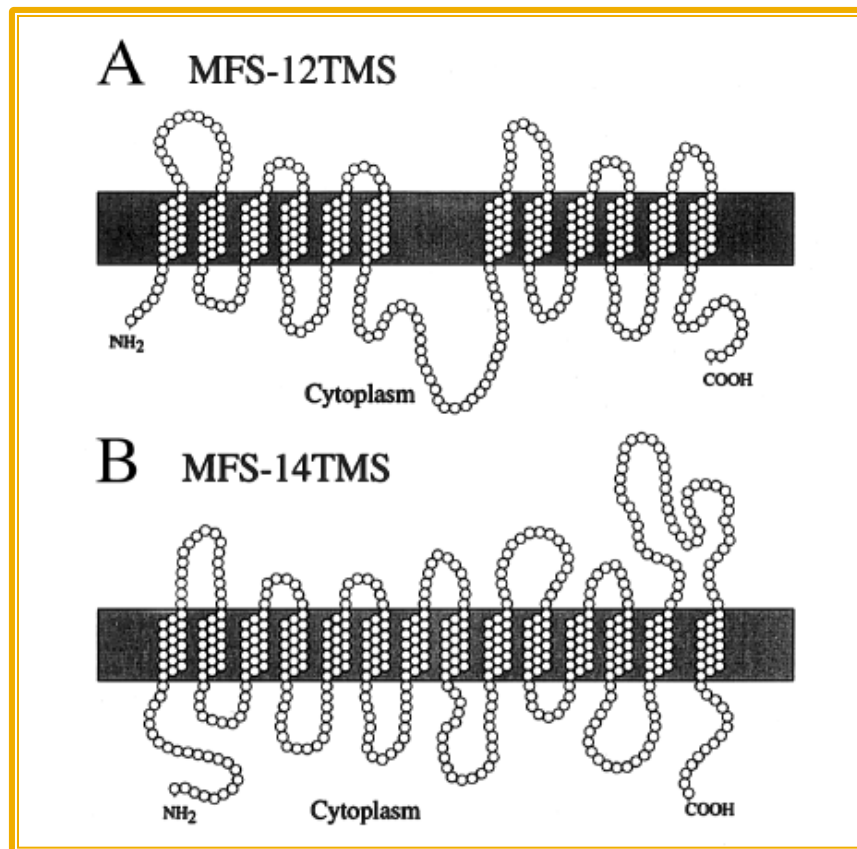


ABC dışa atım pompaları



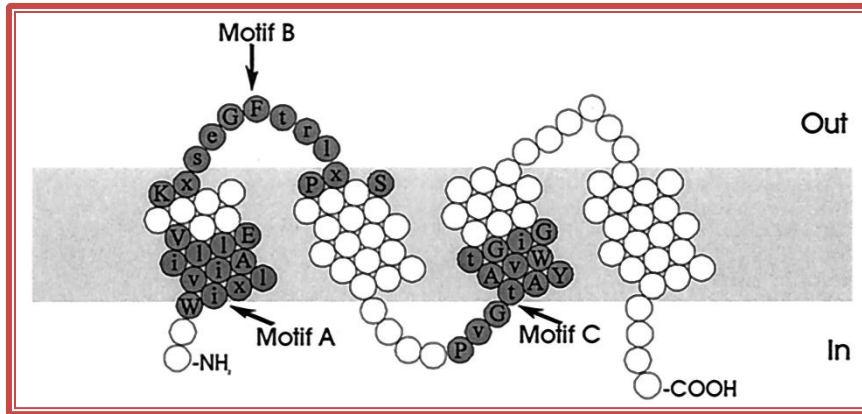
- 6 transmembran segment,
6 ATP bağlayıcı bölge

MFS dışa atım pompaları



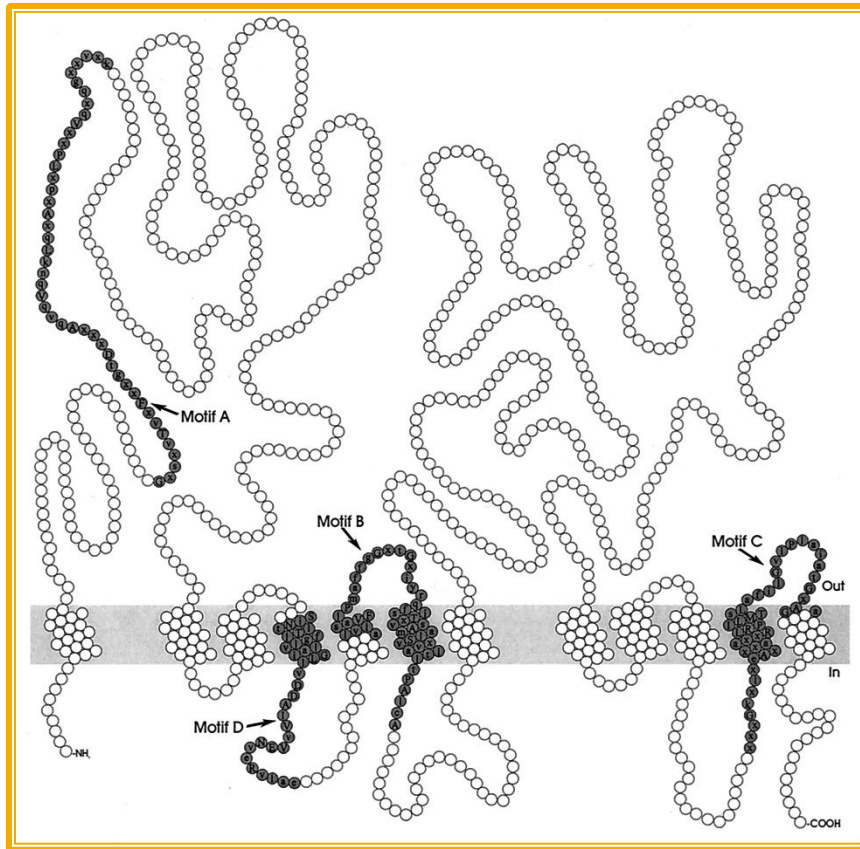
- 12 veya 14 transmembran segmentli protein

SMR dışa atım pompaları



- 4 transmembran segmentli protein

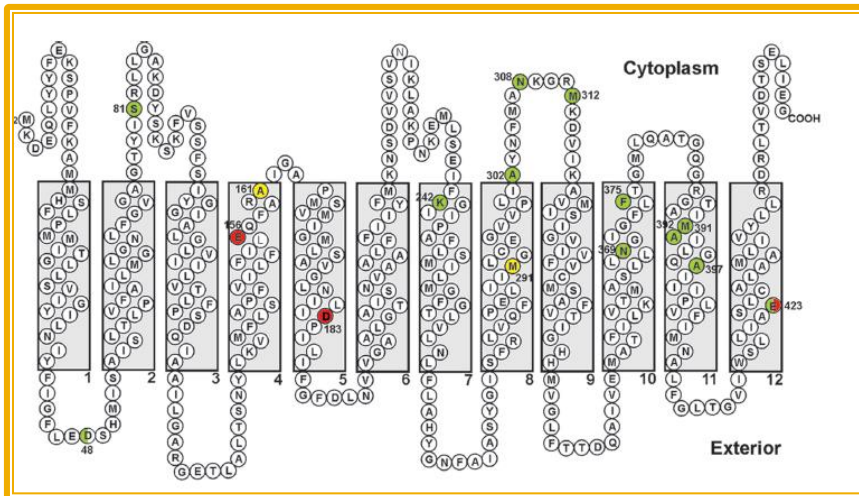
RND dışa atım pompaları



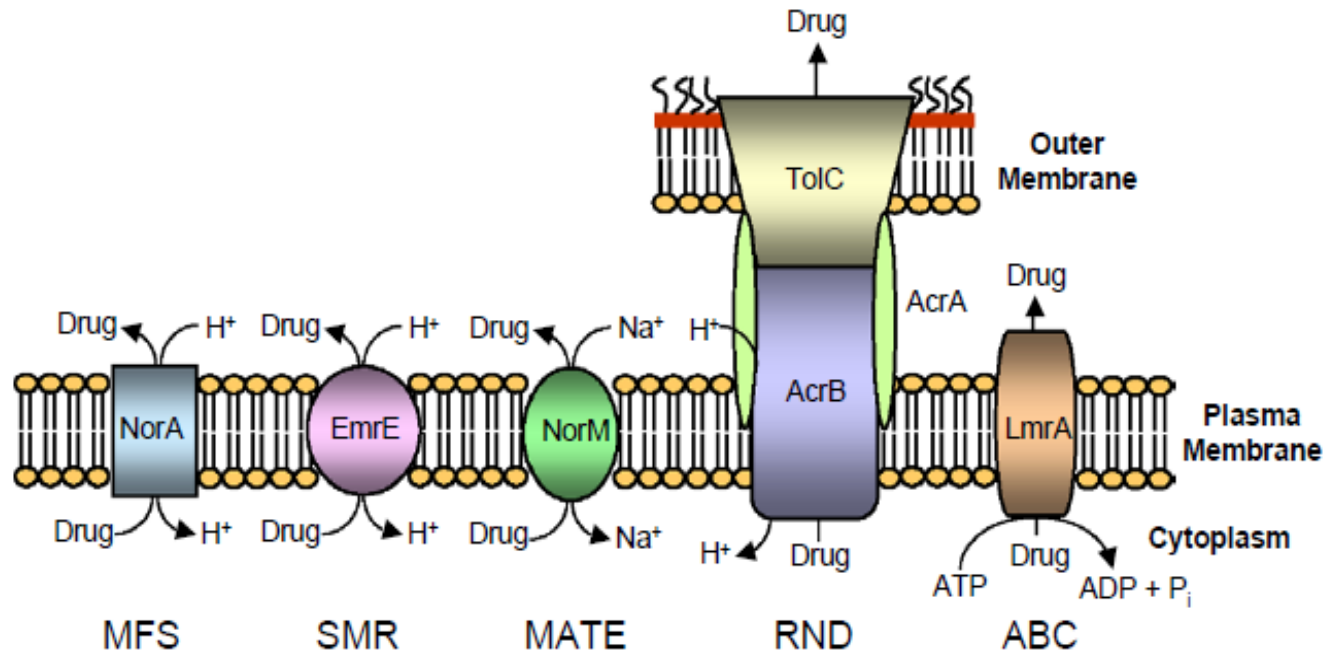
- 12 transmembran segmentli protein

MATE dışa atım pompaları

- 12 transmebran segmentli protein



Dışa atım pompaları



www.membranetransport.org

Mikobakterilerde dışa atım pompaları

Mycobacterium smegmatis'te dışa atım pompaları

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 93, pp. 362–366, January 1996
Microbiology

Efflux pump of the proton antiporter family confers low-level fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium smegmatis*

H. E. TAKIFF*[†], M. CIMINO*, M. C. MUSSO*, T. WEISBROD[‡], R. MARTINEZ*, M. B. DELGADO*, L. SALAZAR*,
B. R. BLOOM[‡], AND W. R. JACOBS, JR.[‡]

*Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela; and [‡]Howard Hughes Institute, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY 10461

LfrA (MFS pompa) ilk mikobakterilerde tanımlanan dışa atım pompası
M. smegmatis'te, LfrA-içeren plasmidle flurokinolonlara düşük düzey direnç

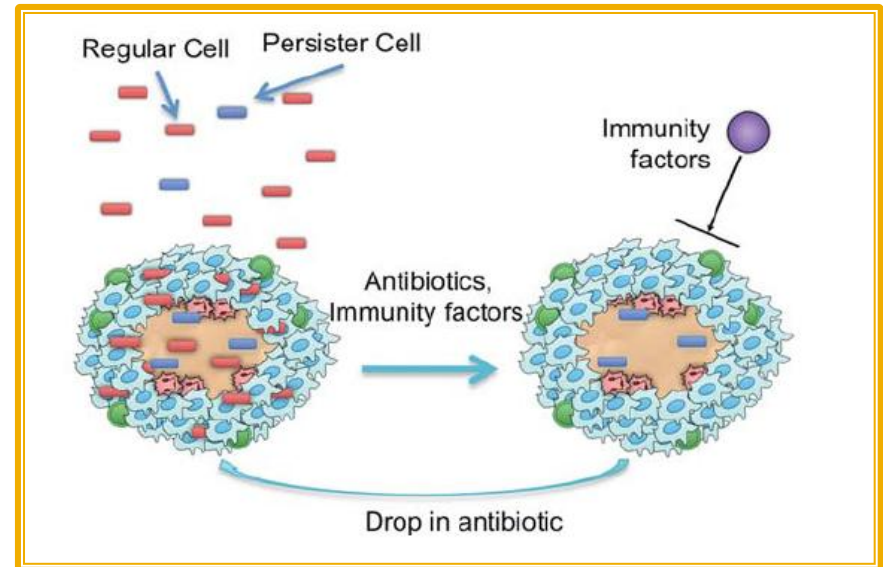
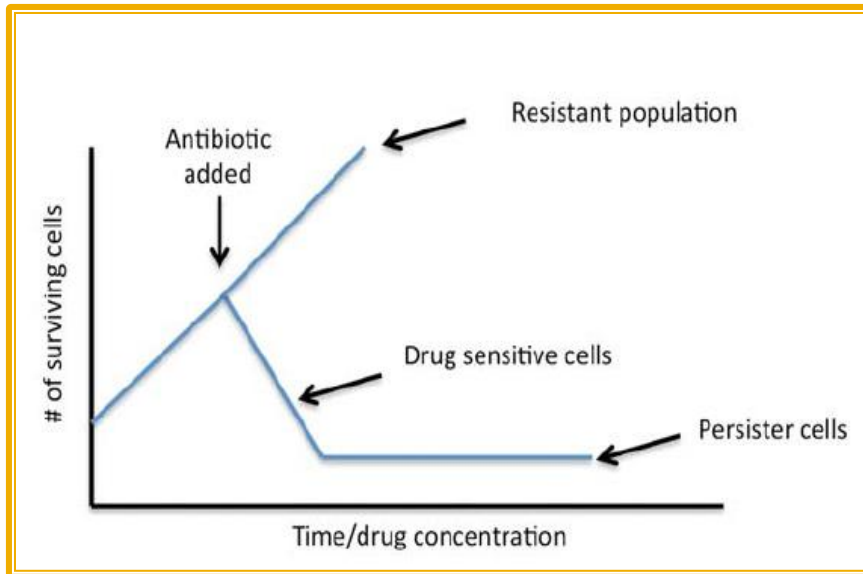
Mycobacterium tuberculosis

- Tüberküloz tedavisi uzun süreli, çok ilaçlı
- Tedavisi niye zor?
- Fizyolojik özellikler (yavaş üreme hızı, geçirgenliği az hücre duvarı)
- Tolerans gelişimi..dışa atım pompaları

MTB'de direnç

- Tanısal laboratuvarlarda duyarlı/dirençli
- İlaç direnci: İlaç hedefinde veya ilacı aktive eden enzimde genetik kodlanmış değişiklik
- Replikasyon devam ediyor
- Genotipik ilaç direnci

Direnç-tolerans



MTB'de tolerans

- Persistan hücreler: MİK'in birkaç kat yüksek ilaç konsantrasyonunda bile sağ kalan; üremeyen hücreler, alt populasyon
- İlaç toleransı: İlaç varlığında bakterinin sağ kalması ancak ürememesi
- Fenotipik ilaç toleransı

MTB'de tolerans

İlaç toleransı:

- Tedavi başarısızlığı
 - Uzun süreli tedavi (pahalı, toksik, hastanın zor uyum sağladığı)
 - İlaç direnci gelişimi
-
- Wallis ve ark. 1999..INH, RIF, EMB
İlaca özgül mekanizma olmayabilir

MTB'de tolerans

- Adams ve ark. 2011:
- *M. marinum*, *M. tuberculosis*
- Makrofajla indüklenen tolerans
- Makrofaja girince dışa atım pompalarının indüklenmesi
- Granuloma oluşmadan

MTB'de tolerans

- Makrofajdan çıkınca 5 güne kadar toleran fenotip devam ediyor
- Makrofajla indüklenen toleransta:
M. marinum'da verapamil INH ve RIF toleransını azaltıyor
M. tuberculosis'de verapamil RIF toleransını azaltıyor (Rv1258c); verapamil INH toleransına etkisiz

MTB'de tolerans

- Makrofajdaki dışa atım pompalarını indükleyen mekanizmalar
- İlaç toleransının ne kadarı makrofajla indüklenen toleransa bağlı olabilir?
- Dışa atım pompa inhibitörleri yeni tedavi seçeneği mi?

MTB'de dışa atım pompaları

- Colangeli ve ark. 2005: MTB'de, INH'le indüklenme..*iniA* geni dışa atım... INH , EMB toleransı
- *iniA*: transmembran protein, dışa atım pompa komponenti

MTB'de dışa atım pompaları

Machado ve ark. 2012:

- H37Rv ve INH duyarlı klinik izolat
- INH..toleran... MİK
- Tiyoridazin, klorpromazin, verapamil
- *mmpL7, mmr, efpA, p55, rv1258c, rv2459*
- INH...katG mutasyonu...direnç, dışa atım aktivitesi devam ediyor

MTB'de dışa atım pompaları

Li ve ark. 2015:

- 9 ÇİD, 10 duyarlı MTB klinik izolatu
- ÇİD TB'de, INH'la 9, RIF'le 3 pompa geni aktive oluyor
- CCCP ve rezerpinle INH ve RIF MİK değerinde azalma

MTB'de dışa atım pompaları

Louw ve ark. 2011:

- RIF monoresistan izolatlar $2\mu\text{g/ml}$ RIF'le 7 gün inkube edildiğinde ofloksasin direnci ($\text{MİK} > 2\mu\text{g/ml}$) gelişiyor
- Verapamil ve rezerpinle ofloksasin $\text{MİK}'i$ düşüyor

MTB'de dışa atım pompaları

GEN-	İLAÇ	POMPA	POMPA İNH
<i>rv2686c-rv2687c-rv2688c</i>	Flurokinolonlar	ABC	Verapamil, rezerpin, CCCP
<i>rv1258c</i>	RIF, INH, EMB, OFL	MFS	Piperin
<i>rv2459</i>	INH, EMB, STR	MFS	Verapamil, CCCP
<i>mmpL7</i>	INH	RND	Rezerpin, CCCP
<i>mmr</i>	Eritromisin	SMR	CCCP
<i>iniA</i>	INH, EMB	-	Rezerpin

H37Rv'de pompalar

- **ATP bağımlı.. 63 (42.6%)**
ABC..44 (69.8%)
- **Sekonder.. 78 (52.7%)**
- **MFS..28 (35.9%)**
- **RND..15 (19.2%)**

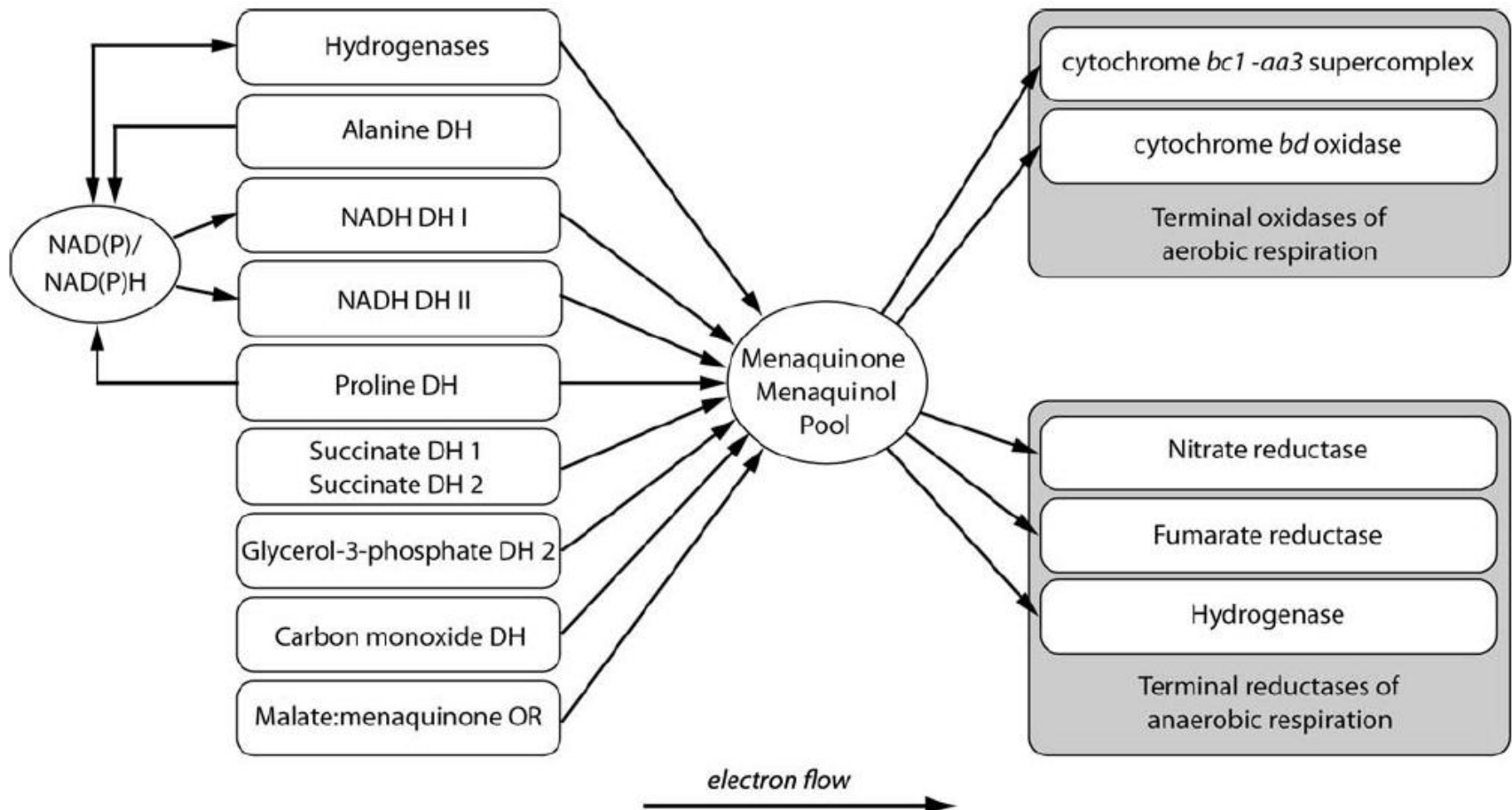
M.smegmatis'te MATE pompa

Characterization of the MSMEG_2631 Gene (*mmp*) Encoding a Multidrug and Toxic Compound Extrusion (MATE) Family Protein in *Mycobacterium smegmatis* and Exploration of Its Polyspecific Nature Using Biolog Phenotype MicroArray

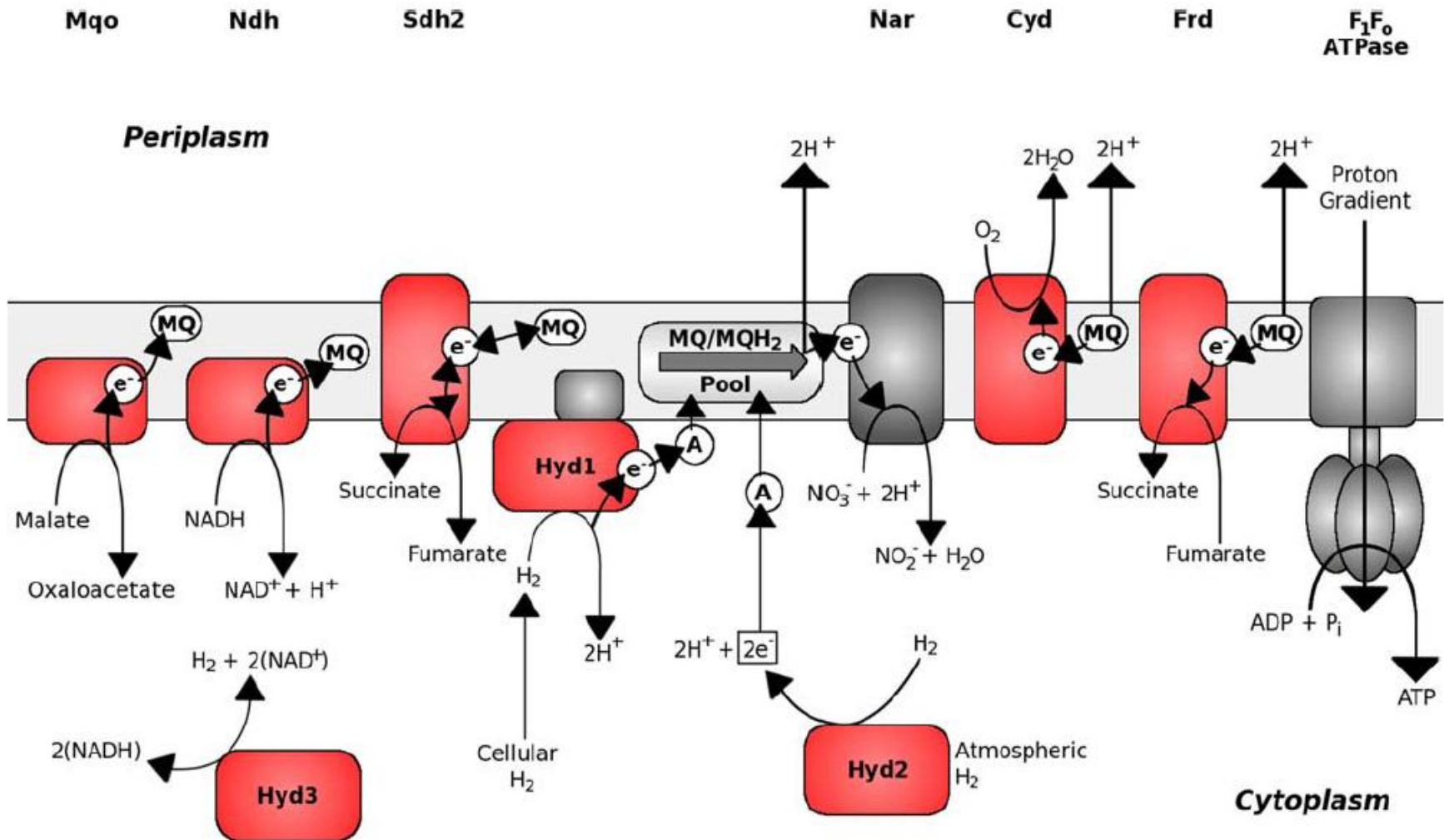
Mukti Nath Mishra, Lacy Daniels

Journal of Bacteriology p. 1610–1621
April 2013 Volume 195 Number 7

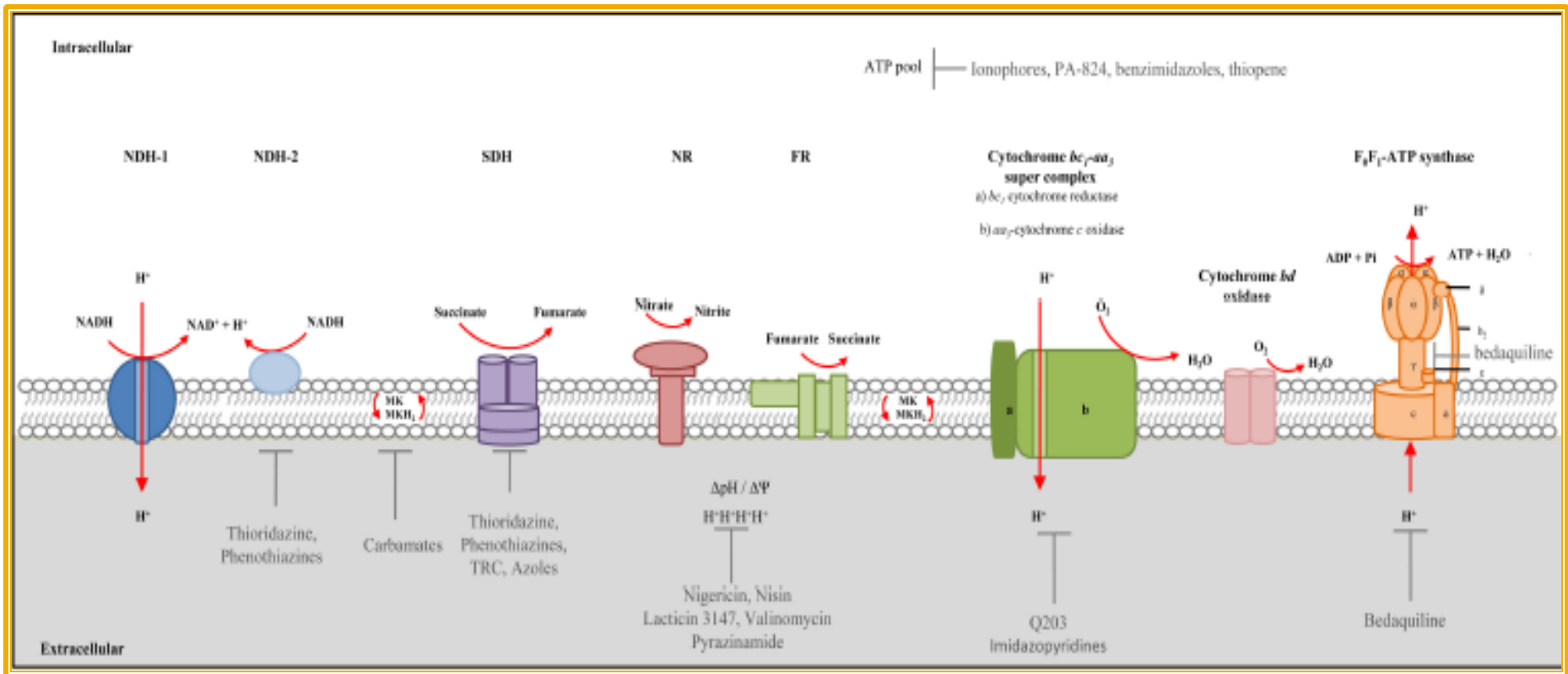
MTB'de ETZ



MTB'de ETZ



MTB'de ETZ



Dışa Atım Pompa İnhibitörleri- Verapamil

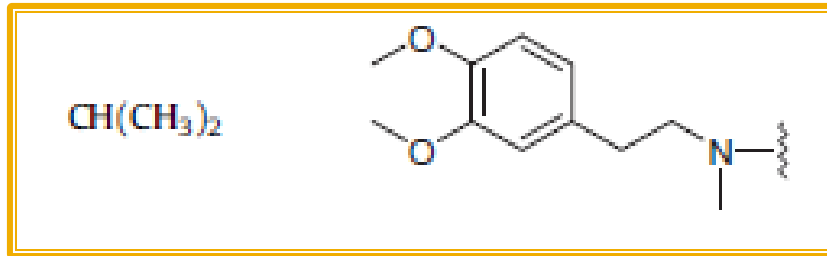
Verapamil: Ca kanal blokörü

- Anjina, hipertansiyon, kardiyak aritmi
- P-glikoprotein inhibitörü
- Gupta ve ark. 2013: Fare..H37Rv..standart tedaviye eklendiğinde bakteriyel klerensi hızlandırıyor, relaps azalıyor

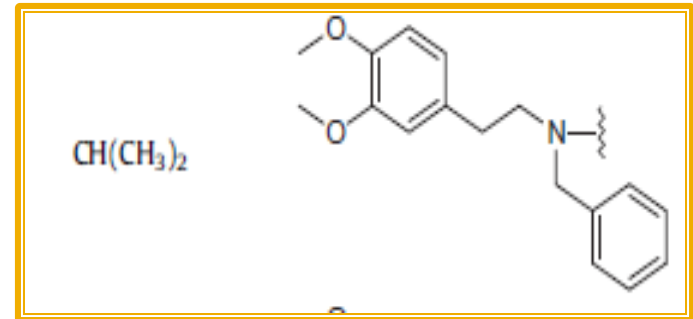
Verapamil

- İnsanda, RIF, hepatik sitokrom p450 enzimini (CYP_{3A4}) indükleyerek verapamil düzeyini %90 düşürüyor.
- Rifabutin

Verapamil



Verapamil



Verapamil analoğu

Singh ve ark. 2014: Yeni verapamil deriveleri..Rv1258c...RIF'le sinerjik etki

Fenotiyazinler

- Fenotiyazinler:

Klorpromazin

Tiyoridazin

Flufenazin

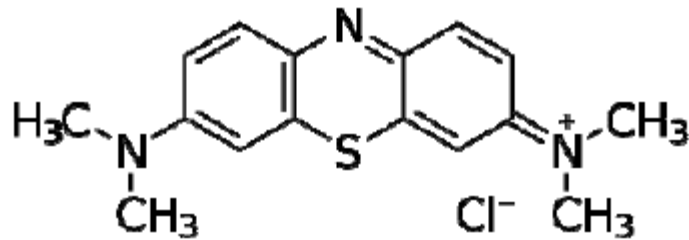
Fenotiyazinlar:NDH₂ inhibitörü

Fenotiyazinler

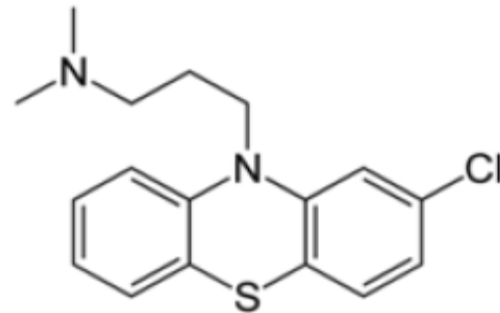
Metilen mavisi

1890: Paul Erhlich

anti-malaryal, antibakteriyel



1950: Klorpromazin



Fenotiyazinler

- Klorpromazin: Antipsikotik, yan etkileri fazla
Pulmoner TB'li kişide iyileşme gözlenmiş
Tb'da etkin olması için çok yüksek düzey gerekli
(15-25mg/L gerekli...>0.5mg/L olmamalı)

Fenotiyazinler

- Tiyoridazin:

Psikozda 1000mg/gün,
TB'de 200mg/gün

Buenos Aires, 12 XDR-TB linezolid,
moksifloksasin, tiyoridazin..11'inde iyileşme

mmpL7, p55, efpA, mmr, Rv1258c, Rv 2459
pompalarını inhibe ediyor

Dışa Atım Pompa İnhibitörleri

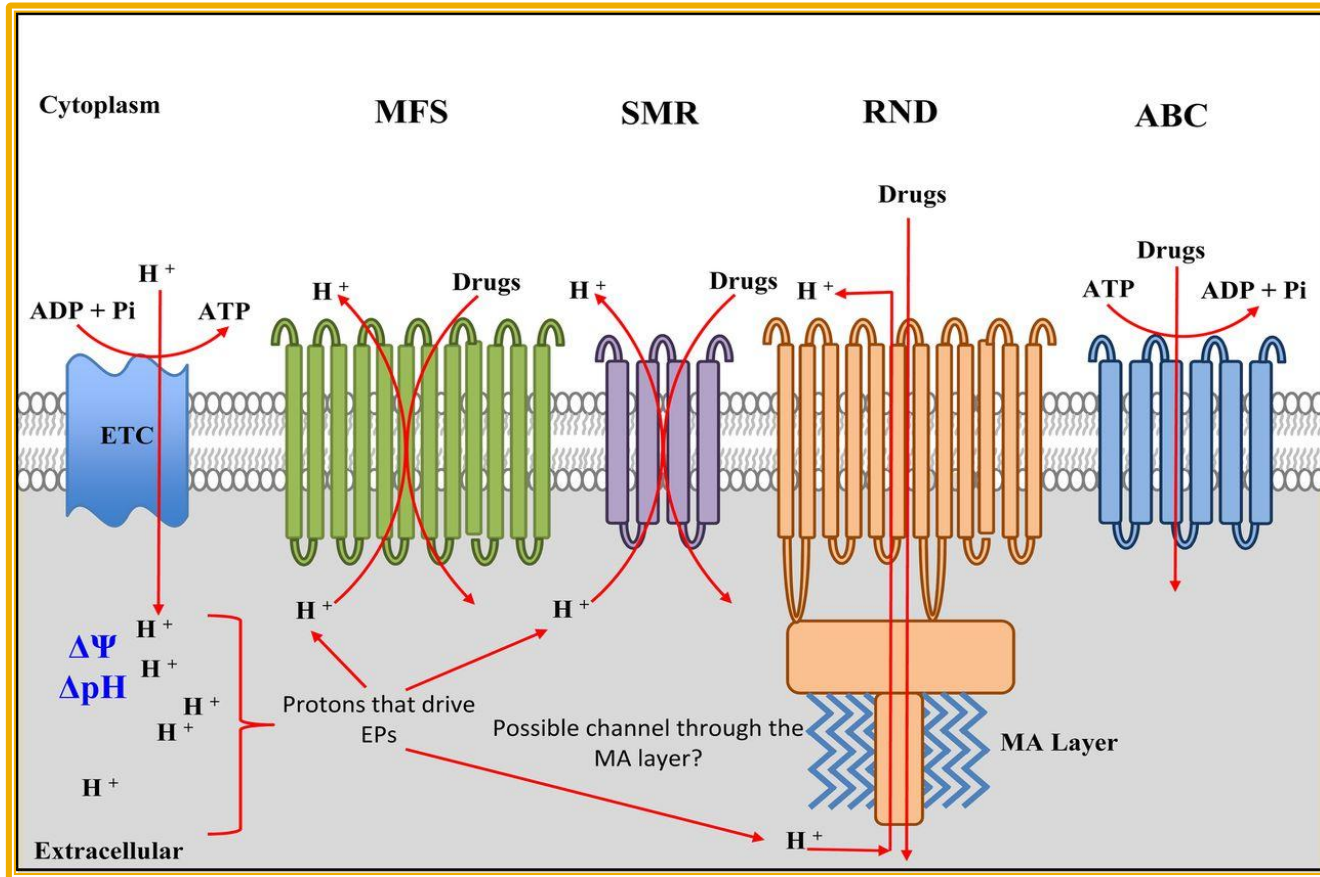
- Imidazoller..QcrB inhibitörü
- Rezerpin:Alkaloid. Ca kanal blokörü, pirazinoik asit pompa inhibitörü
- TK-PZA besiyeri

Bedaquiline

Ruben ve ark. 2014:

Cross-Resistance between Clofazimine and Bedaquiline through Upregulation of MmpL5 in *Mycobacterium tuberculosis*

M.tuberculosis'te dışa atım pompaları



M.tuberculosis'te dışa atım pompaları

- Dışa atım pompaları türe/genotipe özgü mü?
- Pompalar ilaç kullanımına bağlı artıyor mu?
- Substrat özgüllüğü genişliyor mu?
- Pompa inhibitörleri tedavide yer bulacak mı?