

# PERSİSTANS ve İLAÇ TOLERANSI

---

DR. OYA Ö. EREN KUTSOYLU  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ AD.  
İZMİR

# Tüberküloz (TB)

---

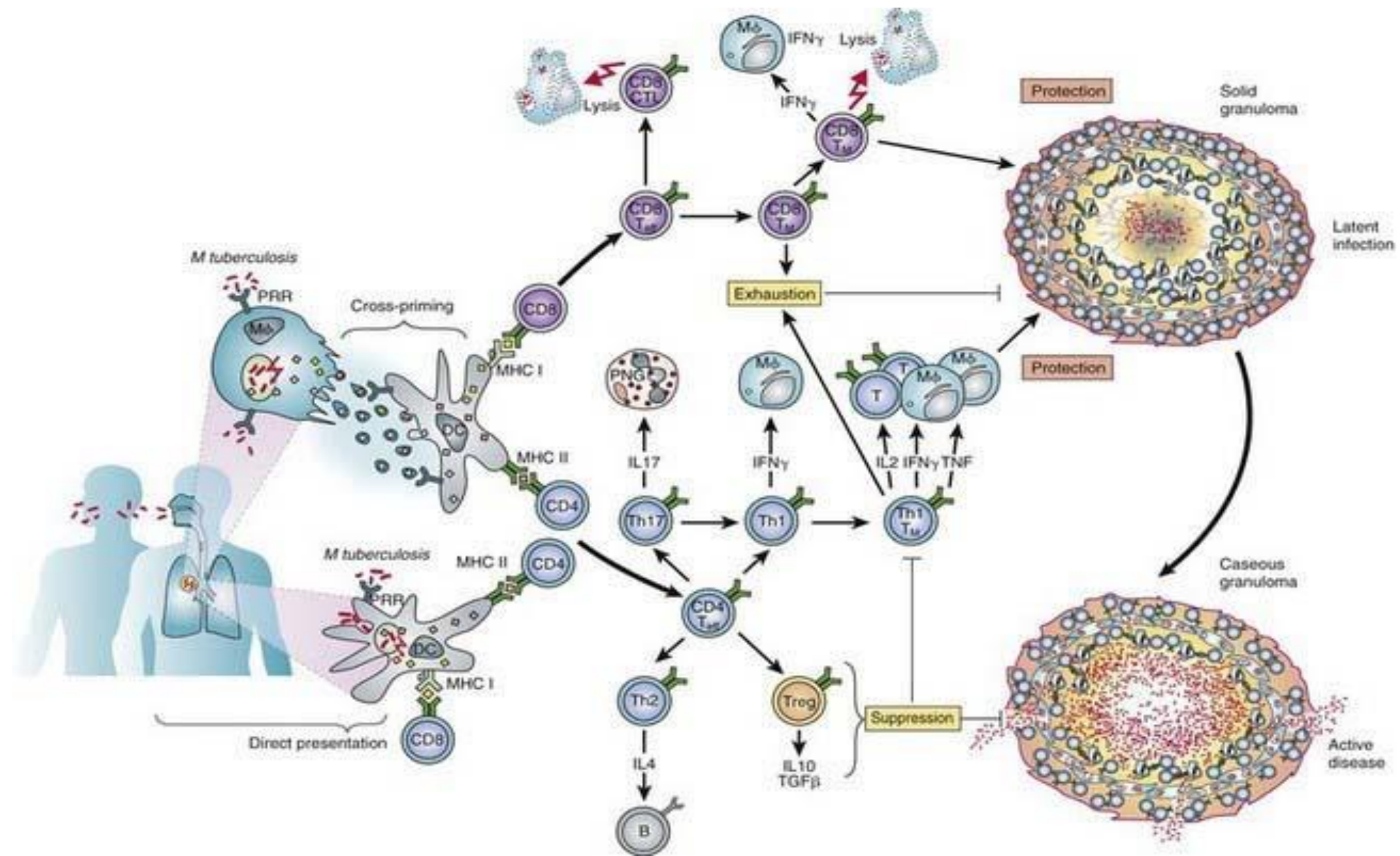


- Bilinen en eski hastalıklardan
- Halk sağlığı için tehdit
- Her yıl 8-10 milyon yeni olgu
- 2 milyar kişi latent olarak tüberküloz basilini taşımakta

---

□ Tedavi başarısızlığı ??

□ PERSİSTANS



# Persistans

---

- *M. tuberculosis*'in çeşitli stres durumlarında konak dokuda bulunması ya da hayatta kalması
- İlaça duyarlı bir bakterinin, ilaç tedavisi altında bir vücutta YAŞAYABİLMESİ  
*McDermott W. 1958. Yale J. Biol. Med. 30:257-91.*
- *M. tuberculosis* persistansı konak immun yanıtı ve mikrobiyal özellikler

# Konak Faktörleri

---

# CD4 T lenfositler

---

- LTBI olan hastalar arasında hastalığın reaktivasyonu için en güçlü risk faktörü
- HIV infeksiyonu
  - ✓ CD4 T lenfosit sayısında ↓
  - ✓ Yetersiz T hücre proliferasyonu
  - ✓ ↓ sitolitik T hücre yanıtı
  - ✓ Bozulmuş hücre içi öldürme
  - ✓ Mikobakteri antijen uyarımına karşı ↓ sitokin yanıtı

# CD4 T lenfositler

---

- CD4 T lenfositlerin anti-TB etkinliği en sık farelerde çalışılmış
- Timektomi yapılmış C57BL/6 farelerde dalaktaki basil # >10 kat
- MHC sınıf II-defektli farelerde akciğerde hızlı progresif basil üremesi izlenirken, defekt olmayan farelerde bu durum gözlenmemekte
- CD4 ilişkili bağışıklığın önemi

*Mogues T et al. J. Exp. Med. 193:271-280.*



# CD4 T lenfositler

---

- CD4 T lenfosit bazlı bağışıklık *M. tuberculosis* enfeksiyonuna karşı önemli bir konak savunması

# CD8 T lenfositler

---

- *M. tuberculosis* enfeksiyonu CD8 T lenfosit hücre yanıtını da uyarır
- CD8 T lenfositlerin insanda LTBI 'da konak savunması ?
- $10^6$  *M. tuberculosis* ile infekte edilen MHC sınıf I parçası olan  $\beta_2$  mikroglobulin defektli fareler
  - Fonksiyonel CD8 T lenfosit gelişimi  $\emptyset$
  - AC'de kazeöz nekrotizan granülom oluşumu
  - AC'de çok yüksek basil yükü
  - Azalmış yaşam süresi

# CD8 T lenfositler

---

□ İnsan CD8 T lenfositlerden salınan **granülosin**

intraselüler mikobakteri ölümüne öncülük etmekte

*Stenger S et al. J. Exp. Med. 2001:1979-1989.*

□ Granülosin yokluğu??

□ Proinflammatuar sitokin (IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ ) salınımını uyarır

# TNF- $\alpha$

---

□ RA ve inflammatuar hastalıklarda TNF- $\alpha$  antagonist kullanımı



Granülomatöz hastalık gelişimi ↑

□ Monoklonal antikor (infliksimumab/adalimumab) TB gelişme riski ↑

□ İnsanlarda *M. tuberculosis* enfeksiyonun kontrolünde önemli

# TNF- $\alpha$

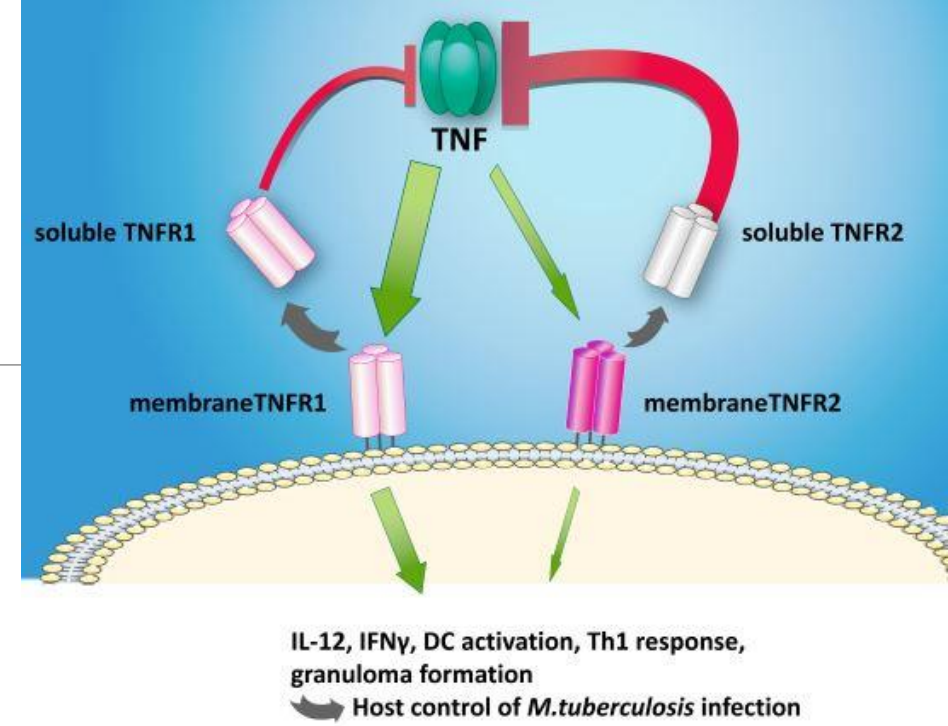
- Makrofaj, dendritik hücreler, T hücreler
- Transmembran protein

↳ TNFR1 ve TNFR2  
bağlanır

↳ Antiapoptotik ve proinflamatuar yolak

- Kemokin sekresyonu
- Adezyon moleküllerinin upregülasyonu
- Makrofaj apoptozunu indüklenmesi

↳ TB'a karşı bağışık yanıt



# TNF- $\alpha$

---

## □ Anti-TNF- $\alpha$ tedavisi

□ IFN- $\gamma$  ile aktive olmuş makrofajlarda *M. tuberculosis* içeren fagozomların maturasyonunu

□ CD4 T hücre aktivasyonu

□ IFN- $\gamma$  üretimi

inhibe eder

*Harris J et al. J. Infect.Dis. 194:486-492.*

□ Monosit

□ CD4 T helper hücre

□ *M. tuberculosis* reaktif CD8 T lenfosit

apoptozunu uyarır

*Harris J. Clin. Exp. Immunol. 161:1-9.*

# IFN- $\gamma$

---

- IFN- $\gamma$  reseptör 1'de gen mutasyonu hücre yüzeyinde reseptör  $\emptyset$
- IFN- $\gamma$ ' ya yanıt olarak makrofajların TNF- $\alpha$  upregülasyonu sağlanamaz
- Patojen olmayan mikobakterilerin neden olduğu ciddi enfeksiyon
  
- LTBI olan kişilerde > 15 kat IFN- $\gamma$  ve IL-2 düzeyi
  
- LTBI'da IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> CD4 T lenfositlerin;  
efektör ve santral bellek fenotipler ön planda

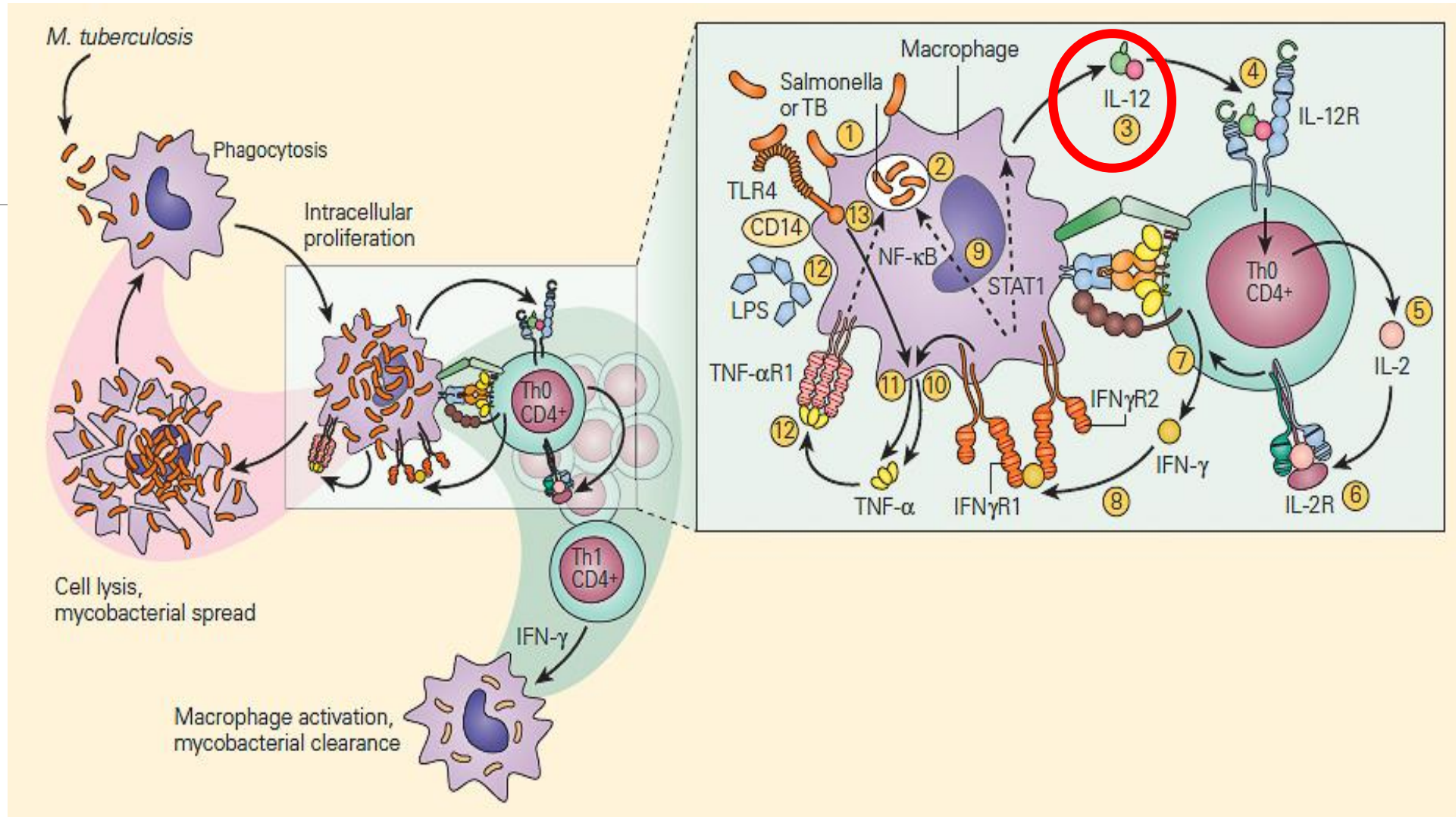
# IFN- $\gamma$

---

- Farelerde de *M. tuberculosis* enfeksiyonuna karşı koruyucu sitokin
- IFN- $\gamma$  yanıtı bulunmayan farelerde ciddi doku destrüksiyonu, nekroz
- Fulminan tablo



# IL-12



# IL-12

---

- p35 ve p40
- IL12p35<sup>-/-</sup> ve IL12p40<sup>+/+</sup> fareler
- IL12p35<sup>-/-</sup> ve IL12p40<sup>-/-</sup> fareler

# Th17 ve Düzenleyici T (Treg) hücreleri

---

- Th17 hücreleri *M. tuberculosis* ile karşılaşmış ve TB enfeksiyonu olan bireylerde kazanılmış bağışıklığa dahil
- LTBI olan kişilerde Treg hücreleri Th17 yanıtını düzenler



# Mikrobiyal faktörler

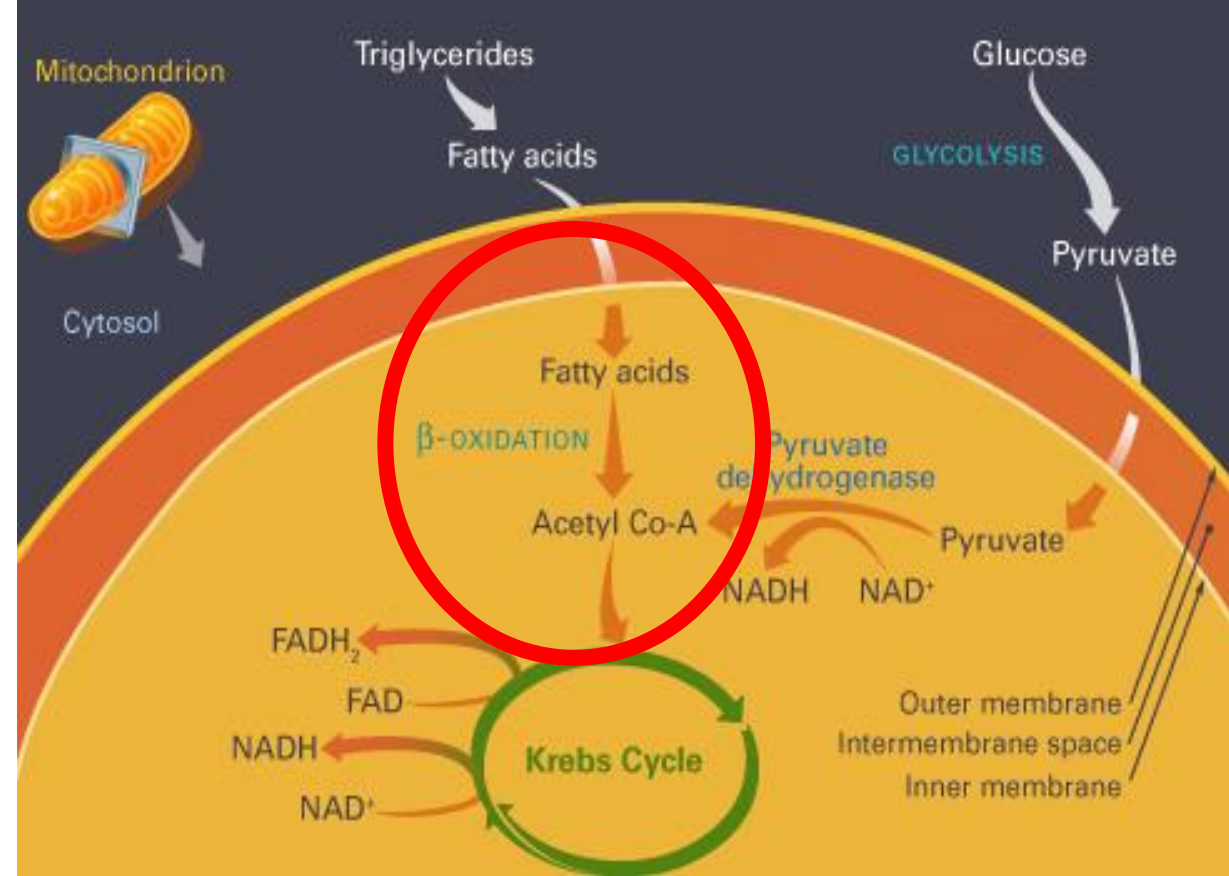
---

# Lipid ve Enerji Metabolizması

□ *M. tuberculosis*

yağ asitlerini  enerji ve karbon kaynağı

□ *M. tuberculosis* genomunda yağ asitlerini katabolize etmek için  $\beta$  oksidayonda kullanılacak enzimleri kodlayan genler içerir



# Lipid ve Enerji Metabolizması

---

## □ Lipid birikimi



- *M. tuberculosis* konakta varlığını sürdürme
- Antibiyotiklere fenotipik tolerans

# Lipid ve Enerji Metabolizması

---

- *M. tuberculosis* 3 farklı mikolik asid sentezler
- Siklopropillenmiş mikolik asid
  - Patojen mikobakterinin hücre duvarının ana bileşeni
- Mikobakterinin oksidatif strese karşı R ↑
- Hücre duvar geçirgenlik ve akışını ↓



# Lipid ve Enerji Metabolizması

---

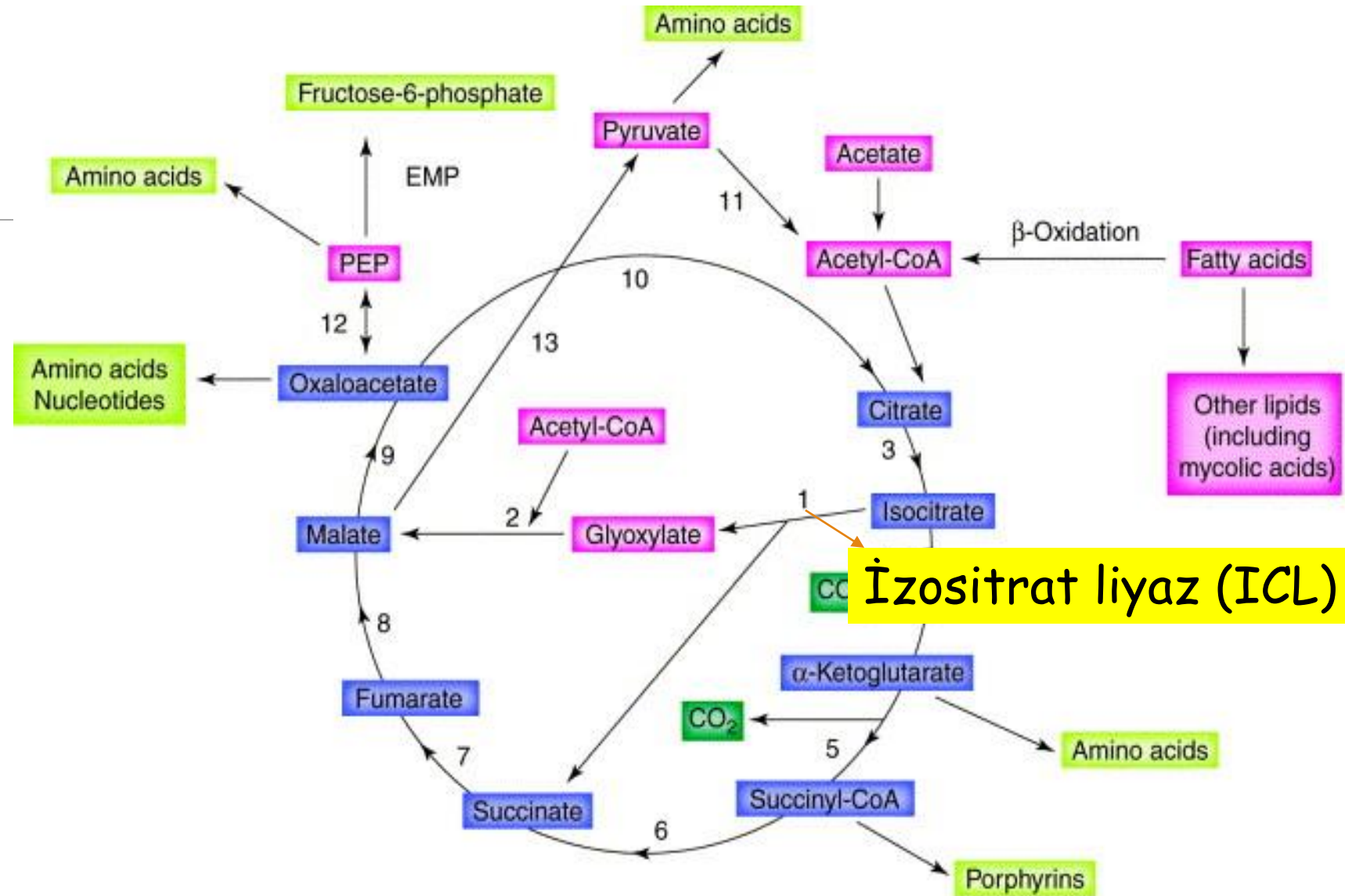
## □ *pcaA* geni

Siklopropan sentazı kodlar

□ TB persistans fazına karşı yeni inhibitörler???

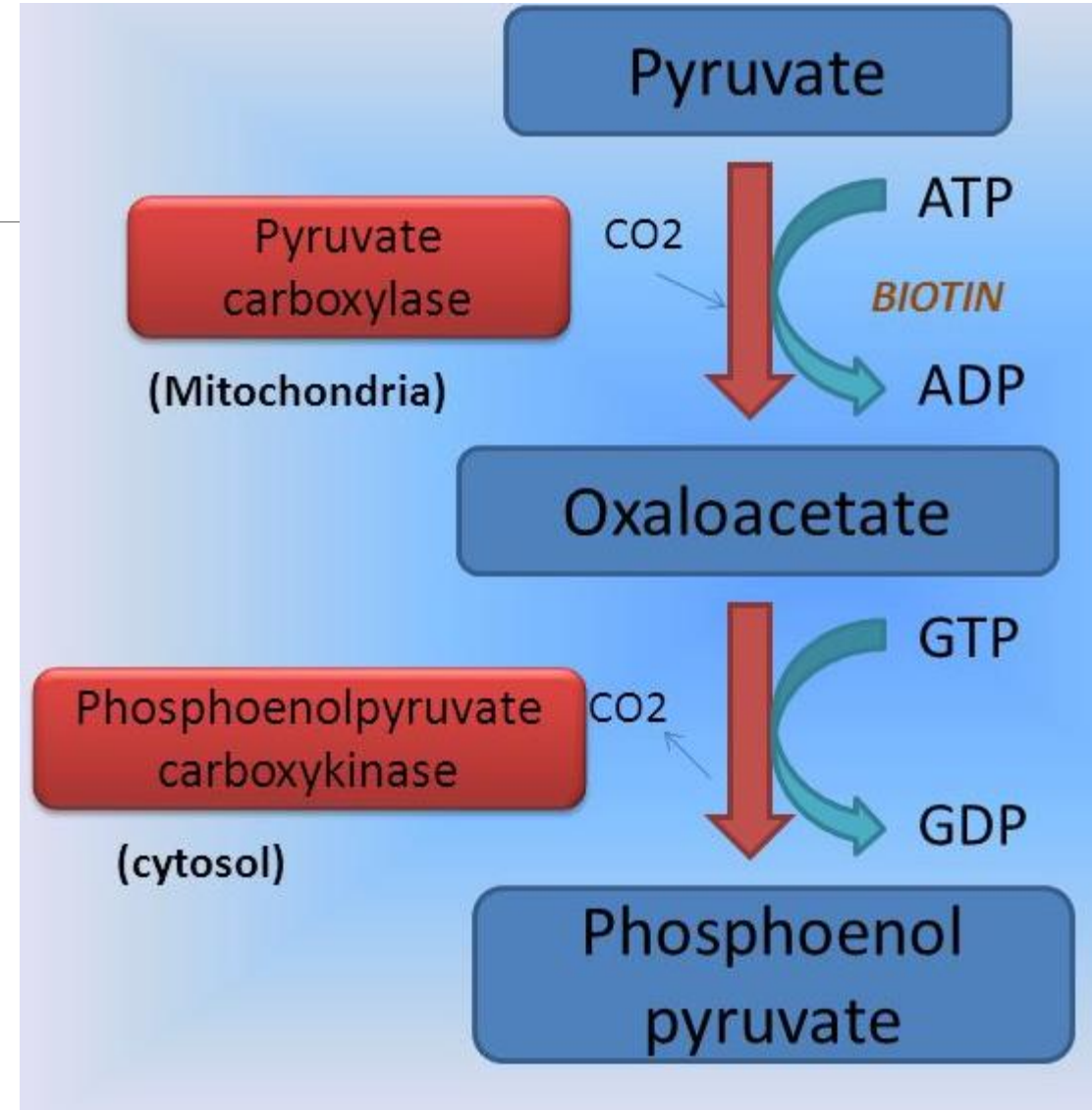
# Glikozilat şantı ve glikoneogenez

□ icl geni



# Glikozilat şantı ve glikoneogenez

□ pckA geni



# FadE28 ekspresyonu ve hipervirulans

---

- fadE28 geni

↳ Açıl koenzim A dehidrogenazi kodlar

- FadE28 gen upregülasyonu

- $\beta$ -oksidasyonun artmış etkinliği bakterinin makrofaj fagolizozomunda canlı kalmasını sağlar

- Yağ asitleri karbon kaynağı olarak kullanılır

# whiB-benzer genler

---

□ WhiB3 intrasellüler redoks sensörler

□ Redoks dengesini

O<sub>2</sub> ve NO ve diğer ekzojen/endojen metabolik sinyaller ile etkileşir

□ Lipid anabolizmasında fizyolojik düzenleyici

# whiB-benzer genler

---

## □ WhiB5 geni

□ *M. tuberculosis*'in besinsiz kaldığı dönemde bakterinin normal yaşamını ve canlılığını sürdürmek için metabolik adaptasyon sağlar

□ İmmunomodülasyonda (defektli farelerde büyük granülomlar, IFN<sup>↑</sup> ve IL-10<sup>↓</sup>)

# Hipoksiye uyarlanabilir yanıt

---

- dosR-dosS-dosT
- dosR-dosS regülatör mekanizmalar
- DosR düzenleyici gen grubu
- *M. tuberculosis*'in
  - hipoksik strese adaptasyonunda
  - alternatif karbon kaynağı bulmada önemli

# Hipoksiye uyarlanabilir yanıt

---

- DosR gen grubu
  - Isı şok proteini geni **hspX**
  - Nitrat akümülayonu ve alternatif elektron transport **narX, narK2, fdxA**
  - Triglicerid sentaz **tgs1**
  - DNA hasarına dirençten sorumlu **stres protein ailesi**
  - Büyüme kısıtlayan durumlar (NO, CO, askorbik asid, makrofaj enfeksiyonu)



# Zorunlu yanıt

---

✓ Sınırlı besin



✓ Stress

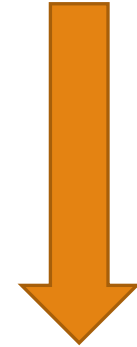
▪ Yavaş büyüme fazı

▪ rRNA

▪ tRNA

▪ Protein sentezi

▪ KH, amino asid, fosfolipid metabolizması



□ RelA enzimi

□ Hiperfosforile guanin nükleotidler (ppGpp)

# MprAB

---

□ Besin

□ Na dodesil sülfat konsantrasyonu





# Sigma faktörleri

---

- ❑ Gen ekspresyonunda transkripsiyonel faktörler
- ❑ SigE( $\sigma^E$ )
- ❑ Makrofajlar tarafından alınma
- ❑ Hidrojen peroksit tedavisi
- ❑ SigB, mprA, mprB, transkripsiyon genleri

SigE( $\sigma^E$ )



# Sigma faktörleri

---

□ SigH( $\sigma^H$ ) mutant

□ Fare ve maymunlarda yaşam süresini



□ SigB( $\sigma^B$ )

□ Hücre zarı hasarına karşı anahtar rol

# Toksin-Antitoksin(TA) modülleri

---

- 8 TA modül
- İnfeksiyon sırasında basilin stres koşullarına uyum sağlaması ve uygun koşullar gelişene kadar antibiyotiklere yanıt vermeyen
- Kronik enfeksiyon
- Antibiyotiklere karşı tolerans gelişiminde (in vitro)  
rol almakta

# trans-Translasyon:prazinamid etki mekanizması

---

- Replike olmayan basilleri karşı sterilizan etki
- Rifampisin ile beraber LTBI tedavisi
- trans-Translasyon replike olmayan organizmalardaki ribozomların serbestleşmesi için gerekli
- İnhibisyonu, prazinamidin dorman basillere etkisini açıklayabilir

# trans-Translasyon:prazinamid etki mekanizması

---

- **RpsA** (mikobakteriyel ribozomal protein)  
bakteriyel transfer-mRNA'ya bağlanır
- Aktif prazinamide yapışma özelliği
- Prazinamid dirençli izolat  
tmRNA'ya bağlanmayan RpsA proteini  
Persistans için önemli!

# Biyofilm formasyonu

---

- Lipidden zengin ekstrasellüler matriks
- Serbest metoksi mikolik asit
- Çinko ve demir
  
- Piruvat açıl-CoA sentaz

Mikobakteriyel biyofilm formasyonu



# Antimikrobiyal efluks pompası ve ilaç toleransı

---

## □LTBI

Replike olmayan /çok yavaş replike olan metabolizması yavaşlamış bir topluluk

□Rv0342/IniA      izoniyazid +etambutol R

□Rv1258c              rifampisin R

# Sonuç

---

- LTBI hastalardan konak ve mikrobiyolojik örneklem zor
- Kısıtlı bilgi
- LTBI gelişiminde tek mekanizma etkili değil
- Yeni çalışmalar
- Deneysel modellemelerin klinik çalışmalara uyarlanması gerekli

*Teşekkürler...*