

Tüberkülozda İlaç Direnci ve Dirençli Tüberkülozda Yeni Alternatifler: Eflüks Pompa İnhibitörleri

Hamide Kaya¹

Özet

Tüberküloz (TB) insanlar için tüm dünyada ciddi bir halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Tedavi sürecinde kullanılan ilaç sayısının fazla olması ve tedavinin uzun süreli olması hastaların tedaviye uyumunu zorlaştırmaktadır. Tedavi uyumsuzluklarının da bir sonucu olarak ilaç direnci hızla yayılmaktadır. Hem tedavi sürecini kısaltacak hem de ilaç direncini azaltacak yeni protokollerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu sebeple yapılan birçok çalışmada anti-TB ilaç direncinin sebeplerinden birinin de eflüks pompa sistemleri olduğu gözlenmiştir. Direncin azaltılması için bu eflüks pompalarının inhibisyonu için kullanılacak moleküller tedavi protokollerinde kullanılmaya başlanmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır. İn vitro çalışmalarda verapamilin ve diğer eflüks pompa inhibitörlerinin anti-TB ilaç duyarlılıklarında direnci azalttığı gözlenmiştir. Verapamil, rezepin, karbonil siyanid m-klorofenil hidrazon gibi moleküllerin ilk seçenек anti-TB ilaçlar ile beraber alınımında umut vadeden sonuçlar bildirilmektedir.

1. Giriş

Tüberküloz (TB), tüm dünyada tek bir enfeksiyöz etkenden kaynaklanan ölümlerin önde gelen nedenlerinden olan, bulaşıcı bir hastalıktır. Hastalığın etkeni *Mycobacterium tuberculosis* komplekstir (MTBC). Antik bir hastalık olan TB günümüzde de halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir. Her yıl yaklaşık olarak on milyon insan TB tanısı almaktadır. 2020 yılında 5,8 milyon TB olgusu bildirilmiştir. Dünya genelinde yaklaşık 1,7 milyar insanın enfekte olduğu ve bu nedenle hastalığı geliştirme riski taşıdığı tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (2021) küresel TB raporunda 2020 yılında HIV negatif olan TB'li olgularda 1,3 milyon kişinin öldüğü vurgulanmıştır. HIV pozitif vakalar arasında 214.000 olgunun ölüm sebebinin TB olduğu bildirilmiştir. TB tedavisi mümkün olan enfeksiyöz bir hastalıktır.

1 Doktor Araştırma Görevlisi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, hamidekirac@gmail.com, Orcid: 0000-0002-2956-8762

Türkiye’de TB ile mücadele amacıyla 1932 yılından bu yana tanı ve tedavi için rehberler yayınlanmaktadır. Tedavi sürecinde aynı anda birden çok ilacın alınması zorunludur. Bu sebeple tedaviye uyumu desteklemek amacıyla ve tedavinin etkin olabilmesi için doğrudan gözetimli tedavi stratejisi benimsenmiştir (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 2011). Hastalığın kontrolünde en önemli sorunlardan biri ilaç direncidir. Hastalığın yönetimi; çok ilaca dirençli TB (ÇİD-TB) ve yaygın ilaç dirençli TB (YİD-TB) olgularının ortaya çıkışı sebebiyle son derece karmaşıktır. Nüks etmeden tamamen iyileşme sağlamak için günümüzde uygulanan mevcut anti-TB tedavi protokollerinin süresi uzundur. Ayrıca sık görülen ilaç yan etkileri, tedaviye uyumsuzluk, tedavi maliyetinin fazlalığı gibi nedenlerle TB kontrolü baltalanmaktadır (Lange ve ark., 2014).

2. Tüberkülozda İlaç Direnç Mekanizmaları

Yıllar içerisinde TB yayılımının artması ile aktif TB’li hastaların tamamen tedavi edilmesi amaçlanmış ve bu durum tedavi protokollerini etkilemiştir. Antitüberküloz tedavi 1947 yılında streptomisin (SM) ilacının keşfi ile başlayarak yıllar içerisinde başka yeni ajanlar eklenerek güncellenmiştir. Tedavide kullanılan ilaçlar; birincil ve ikincil ilaçlar olarak sınıflandırılmıştır. Birincil seçenek antitüberküloz ilaçlar; izoniazid (INH), rifampisin (RIF), etambutol (EMB), pirazinamid (PZA) ve SM’dir. İkincil seçenek antitüberküloz ilaçlar ise; amikasin, kanamisin, kapreomisin gibi enjekttable ilaçların yanı sıra siprofloksasin, oflaksasin, etionamid, viomisin, PAS, sikloserin, klofazimin gibi ajanlardır (Strull ve Dym, 1995). Antitüberküloz ilaçlara direnç mekanizmaları; ilacın etki ettiği hedef molekülde oluşan değişim, hücre içine alınımında azalma, artmış eflüks pompa sistemi ve ön ilacı aktive edici enzimin aktivitesinin azalması veya inaktif hale gelmesidir (Zhang ve Yew, 2009).

Bakterilerde ilaç direnç mekanizmaları doğal veya kazanılmış direnç meydana gelebilir. Herhangi bir genetik mutasyon olmaksızın ilaca karşı gelişen dirence doğal direnç denir. Fakat genetik materyalin mutasyonu veya transferi ile gelişen dirençler kazanılmış direnç olarak tanımlanır. *M. tuberculosis*’te yapısal özelliklerine bağlı olarak çok sayıda doğal direnç mekanizması vardır. Ancak genetik materyalin transferine bağlı kazanılmış bir direnç tanımlanmamıştır (Zhang ve Yew, 2009, Koch ve ark., 2018).

3. Mikobakterilerde Eflüks Pompa Sistemleri

MTBC ile yapılan çalışmalarda çeşitli eflüks pompa ailelerine ait gen bölgelerinde ekspresyon varlığı tanımlanmıştır. Şimdiye kadar MTBC izolatla-

rında “ATP-binding cassette” (ABC), “major facilitator superfamily (MFS), “small multidrug resistance” (SMR) ve “resistance-nodulation-division” (RND) eflüks ailelerine ait dışa atım pompalarının varlığı bildirilmiştir (Rossi ve ark., 2006, da Silva ve ark., 2006).

4. Tüberküloz Tedavisinde Kullanılan İlaçlar ve Direnç Mekanizmaları

4.1. İzoniazid

İzoniazid (INH) izonikotinik asitten türetilen bir ilaçtır. Günümüzde en etkili antitüberküloid ilaç olduğu bilinmektedir. Klinik dozlarda dormant basillere bakteriyostatik etki göstermektedir. Hızlı üreyen mikobakteriler üzerinde bakteriyostatik etkisi vardır (Çilli, 2019). INH 1912 yılında Hans Meyer ve Josef Mally tarafından sentezlenmiştir. 1952 yılında Robitzek ve Selikoff tarafından INH'nin antitüberküloz tedavide tek başına etkili bir ilaç olduğunu göstermesi ile TB tedavisinde yer almaya başlamıştır. INH'nin keşfi TB tedavisinin 18-24 aylık periyodu 6 aya kadar kısaltmıştır. INH hidrofilik yapıdadır ve beyaz toz formundadır. Suda çözelti halinde otoklava girdiğinde yapısında bozulma olmamaktadır. Ön ilaç olarak alınan INH'nin aktif hale gelebilmesi için TB bakterisinin katalaz peroksidaz enzimine (KatG enzimi) ihtiyaç duymaktadır (Silva ve Aínsa, 2017; Kerantzias ve Jacobs, 2017). *M. tuberculosis*'e karşı oldukça spesifik bakteriyostatik etkilere sahip bir ilaçtır. Mikobakteriler üzerinde in vivo ve in vitro etkinliği bilinmektedir. Aktif TB'da etkili olduğu kadar latent TB tedavisinde de yer almaktadır. 6-12 ay süre ile latent TB tedavisinde hastalığın aktifleşmesini %60-90 oranında azaltır. Latent TB'de tedavi süresini kısaltmak için rifapentin ile kombine edilerek kullanılabilir. Bu kombinasyon tedavi sürecini 3 aya kadar kısaltacağı bildirilmiştir (Njie ve ark., 2018).

INH'nin etki mekanizmasını anlamaya yönelik ilk çalışma 1970 yılında Winder ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Mikolik asit biyosentez aşamalarında uzun zincirli α -alkil, β -hidroksi-yağ asitlerinin biyosentezini inhibe ettiği ve böylece hücre duvar biyosentezini bozarak etki gösterdiği bildirilmiştir. Ardından, Takayama ve arkadaşları tarafından mikolik asit biyosentez inhibisyonunda INH'nin etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışmada; çok uzun zincirli yağ asitlerinin biyosentezi üzerindeki inhibe edici etkisi gösterilmiştir. Çalışma sonucunda 24 karbonlu yağ asitleri ve 26 karbonlu uzun zincirli yağ asitlerinin birikimi gözlenmiş ve bu moleküllerin mikolik asitlerin öncüleri olduğu belirtilmiştir. INH etki mekanizması hakkında detaylı bilgilere moleküler analiz sistemlerinin geliştirilmesi sonrasında ulaşılmıştır (Vilchèze ve Jacobs, 2019). INH mikolik asitlerin sentezini inhA'yı inhibe

ederek bloke eder (Wright, 2012). Ön ilaç formunda alınan INH KatG enzimi ile aktifleşir. INH direncinde en sık tanımlanan mutasyon KatG geninde oluşmaktadır. Ayrıca *inhA*, *kasA*, *iniABC*, *ndh*, *ahpC* gen bölgelerinde mutasyonlar da INH direnci ile ilişkilendirilmiştir. Son dönemlerde yapılmış çalışmalarda INH direncinde eflüks genlerinin de rol aldığı belirtilmektedir. INH direnci ile ilgili yapılan araştırmalar yeni ilaç stratejilerinin geliştirilebilmesi açısından önem arz etmektedir (Unissa ve ark., 2016). Çalışmalarda INH'nin en önemli yan etkisinin hepatotoksisite olduğu ifade edilmektedir (Njie ve ark., 2018).

4.2. Rifampisin

Rifamisin molekülü 1957 yılında *Nocardia mediterranei*'den elde edilmiştir (Grobbelaar ve ark., 2019). RIF; DNA'ya bağımlı RNA polimerazı hedef alır ve transkripsiyonu inhibe ederek etkisini gösterir. RIF'e direnç tek başına nadiren görülmektedir. Genellikle RIF direnci INH direnci ile beraber RIF dirençli izolatların %96'sından fazlası *rpoB* gen mutasyonu şeklinde gelişmektedir. *rpoB* geni; RNA polimerazın β alt birimini kodlar. Hem aktif hem latent TB tedavisinde etkilidir. PZA ile birlikte kombine kullanımında TB tedavi süresini altı aya kadar kısaltmaktadır (Somoskovi ve ark., 2001).

4.3. Etambutol

1961 yılında EMB'nin MTBC üzerinde etkili olduğu keşfedilmiştir (Keranzas ve Jacobs, 2017). Bakteriyostatik etkilidir. Etki mekanizmasını arabinogalaktan biyosentezi üzerinden çoğalan basilleri durdurarak gösterir. Akciğer TB tedavisinde diğer ilk seçenek antitüberküloz ilaçlar ile birlikte kombine olarak kullanılmaktadır. En sık yan etkisi optik nöropatidir (Lee ve Nguyen, 2020). EMB direnci ile ilgili yapılmış bir çalışmada *embC* bölgesinde arabinosiltransferaz aktivitesinin azalmasına neden olan mutasyonlar, *M. tuberculosis* izolatlarında EMB ilaç duyarlılığının artmasına sebep olmuştur. *M. tuberculosis*'te *embB* geninin aşırı ekspresyonunun da EMB direnci ile sonuçlandığı; ancak *embC*'nin neden olduğundan daha az görüldüğü belirtilmektedir. Ayrıca *embA* bölgesinin aşırı ekspresyonunun EMB direncine hiçbir etkisi olmadığı bildirilmiştir. *embC* gen bölgesinin aşırı ekspresyonu, *M. smegmatis*'te EMB direncine neden olduğu bildirilmiştir (Goude ve ark., 2009).

4.4. Streptomisin

TB hastalığının etkin tedavisi için etken olan basilin gösterilmesinden 60 yıl sonra Selman Waksman tarafından streptomisinin (SM) keşfedilmesiyle

başarılmıştır. 1944 yılında, TB tanılı bir hastanın SM ile başarılı bir şekilde tedavi edildiği duyurulmuştur. Ardından başarılı tedavi olguları bildirilmiştir. İngiliz Tıbbi Araştırma Konseyi tarafından büyük ölçekli bir klinik deney ile SM'nin TB'deki etkinliği gösterilmiştir (Keshavjee ve Farmer, 2012). Keşfedilmesinin ardından TB kemoterapisinde çığır açan SM; dirençli suşların ortaya çıkmasıyla monoterapi yerine INH ve PAS ile kombine tedavi protokollerinde kullanılmıştır. Günümüzde SM, TB tedavisinde az kullanılmaktadır. SM dirençli MTBC suşları dünya genelinde çok fazla görülmektedir. Aminoglikozit grubu antibiyotiklerin bir üyesi olan SM, periplazmik boşluğa girmek için iyonik bağlanma ile bakteri hücre yüzeyi ile etkileşime girerek proton hareket kuvvetleri ile oluşturulan kanallarla hücre sitoplazmasına taşınır. Daha sonra elektron taşıyıcıları gibi proton hareket kuvvetleri tarafından oluşturulan zar kanalları tarafından sitoplazmaya taşınır. 30S ribozom alt birimine bağlanarak protein sentezini bloke eder. Bakterisidal etkinlik gösterir. Direnç mekanizmaları; *rpsL*, *rrs* ve *gid* gen mutasyonları veya *Rv1258*, *Rv01473*, *Rv2416c* gibi eflüks pompa genlerinin aşırı ekspresyonu ile gerçekleşmektedir (Rocha ve ark., 2021).

4.5. Pirazinamid

Pirazinamid (PZA) 1952 yılında keşfedilerek TB tedavisinde birincil seçenek ilaç olarak kullanıma girmiştir. INH ve RIF ile kombinasyonları tedavi sürecini 6 aya kadar düşürmektedir. Etkin bir tedavi seçeneği olmasına rağmen toksisitesi fazladır (Kerantzas ve Jacobs, 2017). PZA, ön ilaç olarak pasif difüzyonla hücre içine alınır ve mikobakterilerdeki pirazinamidaz enzimini kullanarak aktif form olan pirazinoik asite dönüşür. Pirazinoik asiti bakterinin sitoplazmasında birikir. *M. smegmatis*, PZA'ya doğal dirençlidir. Bunun sebebi aktif forma dönüştükten sonra ilacın aktif bir eflüks sistem ile hücre dışına atılabilesidir. *M. tuberculosis* suşlarından PZA duyarlılığının sebebinin yetersiz bir pirazinoik asit eflüksünün olduğu düşünülmektedir (Zhang ve ark., 1999). PZA'nın etki mekanizması araştırıldığında pirazinoik asit birikimi sonucu ATP üretimi ve membran potansiyelini bozulmasına sebep olduğu bildirilmiştir. Ayrıca proton-ATPase, sitokrom c oksidaz ve NADH dehidrogenaz gibi membran potansiyelinin oluşumundan sorumlu enzimlerin rotenon, azid ve N,N'-disikloheksilkarbodiimid tarafından inhibe edilerek PZA aktivitesi ile sinerjik etki oluşturduğu da belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2003). Bir çalışmada PZA dirençli izolatların %72-97'sinin yapısal gende ya da pirazinamidaz enzimini kodlayan *pncA* geninin promotör bölgesinde bir mutasyon taşıdığı bildirilmiştir (Somoskovi ve ark., 2001). Ancak başka bir çalışmada PZA'ya karşı yüksek düzeyde dirençli olup *pncA* geninde mutasyon taşımayan izolatlar tarif edilmiştir. Bu sonuç PZA direncinde baş-

ka mekanizmaların da rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Raynaud ve ark., 1999). Pirazinoik asit 30S ribozomal protein S1'e (*rpsA*) bağlanarak protein sentezi aşamasında transtranslasyonu inhibe eder. *rpsA* gen mutasyonları PZA direncine neden olmaktadır. *pncA* ve *rpsA* gen mutasyonu olmadan PZA direnci olan suşların dizi analizi ile yapılan çalışmalarda, aspartate-alfa-dekarboksilaz enzimini kodlayan *panD* geninde mutasyonlar bulunduğu belirtilmiştir (Njire ve ark., 2016).

5. Eflüks Pompa Sistemleri

Eflüks pompa sistemleri, hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda bulunur ve bazı moleküllerin aktif transport ile hücre dışına atımını sağlar. Eflüks pompalarının direnç ile ilişkisi, 1976 yılında kanser hücrelerindeki P glikoproteininin kemoterapötik ajanlara karşı dirence sebep olduğunun bulunmasıyla ortaya çıkmıştır. Mikroorganizmalardaki eflüks pompaları ile ilgili ilk çalışmalar 1980 yılında *Escherichia coli* izolatında tetrasiklin direncine neden olduğu belirlenen Tet proteininin keşfedilmesiyle başlamıştır. Daha sonra birçok bakteride antibiyotik direnç mekanizmalarında eflüks pompalarının da olduğu tanımlanmıştır. Son dönemlerde eflüks pompaları ilaç direncinin önde gelen nedenlerinden biridir (Aygül, 2015).

Antimikrobiyal intriksik direnç mekanizması genellikle antibiyotiklere maruziyet sonucu hücre duvar geçirgenliği azalması ya da eflüks pompalarının aktivasyonu ile ilişkilidir. Fizyolojik denge ve homeostaz eflüks pompaları ile toksin ya da metabolitlerin hücre dışına taşınarak korunur. Yapılan çalışmalarda, mikobakterilerde de aktif eflüks pompa sistemleri aracılığıyla birçok ilacın hücre dışı ortama atıldığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, çeşitli toksik bileşenlerin dışarı atımının, mikobakteriyel türlerde bazı fizyolojik substratların taşınmasının “fırsatçı” bir yan etkisi olduğu düşünülmektedir. Çalışmaların sonucunda bazı eflüks pompa türlerinin belirli antibiyotiklere özel olduğu belirtilmiştir (Louw ve ark., 2009). Eflüks pompa sistemleri, beş farklı aile grubunda incelenmektedir. Enerji kullanımı ve yapısal özelliklerine göre sınıflandırılan eflüks pompa aileleri ABC, MFS, çoklu ilaç ve toksik bileşiklerin eflüksü (MATE; “Multidrug and Toxic Compound Extrusion”), SMR ve RND olarak gruplandırılmıştır (Şekil 2.2.). ABC üst ailesinde yer alan eflüks pompaları, ATP'yi hidrolize ederek taşıma yaparlar. Diğer eflüks pompa aileleri enerji kaynağı olarak proton gradyanını (MATE ailesinde sodyum) kullanır (Piddock, 2006).

MTBC'de yapılmış çalışmalarda bu güne kadar MFS, SMR, ABC ve RND ailelerine ait eflüks pompa sistemlerinin varlığı gösterilmiştir (Rossi ve ark., 2006). Eflüks pompalarının MTBC'de tanımlanmasının ardından,

direnci ile ilişkili olan eflüks pompaları ile ilişkili çalışmalar hızla artmıştır. MTBC'de pek çok eflüks gen bölgesi tanımlanmıştır. Bunlardan en bilinenleri; ABC eflüks pompa ailesinden *Rv1747*, *pstB* (*Rv0933*), *Rv1819c* INH direnci ile ilişkilendirilmiş olup, birden çok ilacın taşınmasından sorumlu olarak *DrrA-DrrB*, *Rv1217c-1218c*, *Rv1456c-Rv1457c-Rv1458c* ve *Rv2686c-2687c-2688c* tanımlanmıştır. MFS ailesinden *Rv1410c*, *efpA* (*Rv2846c*), *jefA* (*Rv2459*) INH direnciyle ilişkili tanımlanmış, *p55*, *Rv1258c* hem INH hem de RIF direnci ile ilgili olduğu bulunmuştur. RND ailesinden *mmpL7* (*Rv2942*) düşük düzey INH direnci ve SMR ailesinden *iniA* (*Rv0342*), *mmr* (*Rv3065*), *iniB* (*Rv0341*), *iniC* (*Rv0343*) ise azalmış INH duyarlılığı ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (Louw ve ark., 2009, Narang ve ark., 2017, Pasca ve ark., 2005, Black ve ark., 2014). ABC eflüks sistemlerini kodlayan genler, *M. tuberculosis* genomunun yaklaşık %2,5'ini oluşturmaktadır. Çalışmalarda yaklaşık 37 ABC taşıyıcı sistemi tanımlanmıştır (Braibant ve ark., 2000). RND ailesi eflüks pompa sistemleri, sadece gram negatif bakterilerde ilaçların eflüksüne neden olmaktadır. Ağır metaller, aromatik ve alifatik çözücüler, yağ asitleri ve safra tuzları gibi nötr, pozitif veya negatif yüklü birçok molekül ve boya da dahil olmak üzere çok çeşitli maddelerin taşınmasına aracılık etmektedir. Taşıma mekanizması hidrojen antiport aracılığıyla olmaktadır. RND eflüks gen ailesinden *mmpL* genleri *M. tuberculosis*'te ilaç direnci ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca *mmpL7*'nin INH direncine neden olan bir eflüks pompa geni olduğu bildirilmektedir (Pasca ve ark., 2005, Briffotiaux ve ark., 2000).

6. Eflüks Pompa İnhibitörleri

TB uzun süreli tedavi ile kontrol altına alınabilen bir bulaşıcı hastalıktır. TB araştırmalarının birçoğunda amaç; hastalardaki bakteriyel yükü azaltmak, ilaç direncinin yayılımını azaltmak, tedavi uyumunu arttırmak ve tedavi sürecini en kısa süreye indirmektir. İlaç eflüksünün bazı moleküller ile inhibe edilmesi; persistan MTBC de daha etkin ve daha kısa süreli tedavi ihtimalleri açısından umut vaat eden bir strateji olarak savunulmaktadır. (Reem ve ark., 2022).

Doğal veya sentetik moleküllerden geleneksel yöntemlerle rastgele keşfedilen bazı bileşiklerin eflüks pompalarını inhibe etme yeteneği olduğu gösterilmiştir. Bu moleküller bakterilerin ilaç duyarlılıklarında ilaç minimum inhibitör konsantrasyonlarında (MİK) azalmaya neden olmaktadır. Fenil-arjinin beta naftilamid (PAβN) ve 1-(1-naftilmetil) piperazin (NMP) molekülleri gram negatif bakterilerde; omeprazol, INF271 ve INF55 molekülleri gram pozitif bakterilerde tanımlanan eflüks pompa inhibitörleridir. Ayrıca pa-

roksetin, milbemis, birikodlar (VX-710), timkodlar (VX-853) hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerde tanımlanmıştır. Karbonil siyanid m-klorofenil hidrazon (CCCP), rezerpin, verapamil (VR), klorpromazin molekülleri gram pozitif ve negatif bakterilerin yanı sıra mikobakterilerde de eflüks pompalarını inhibe etmektedir (Aygül, 2015). Eflüks pompa inhibitörleri, dirençli TB tedavi rejimlerinde alternatif olabilmesi yönünden önem taşımaktadır. En çok araştırılan anti-TB ilaçlara karşı etkili eflüks pompa inhibitörü VR'dir. VR'nin INH veya RIF ile kombine kullanımında her iki ilacın MİK'ini azalttığı ve böylece her iki ilaca karşı MTBC ilaç direncini tersine çevirdiğini keşfedilmiş ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından antimikobakteriyel tedavi protokollerinde kullanımı için onay almıştır. VR ile kombine kullanımı değerlendirildiğinde levofloksasin MİK'ini 2-8 kat, bedakuilin MİK'ini 8-16 kat azalttığı belirtilmiştir. Norverapamil VR'nin bir izomeridir ve kalsiyum kanallarını daha az inhibe etmesi sebebiyle daha az etki gösterdiği için tercih edilmemektedir. Ayrıca hayvan modellerinde VR'nin MTBC eflüks sistemini inhibe ettiği, böylece hücre içi MTBC'nin büyümesini inhibe ettiği, ilaç dozaj gereksinimini azalttığı, tedavi sürecini kısalttığı ve nüksleri azalttığı bildirilmiştir. VR'nin yanı sıra rezerpin, piperin, CCCP ve klorpromazin ile yapılan çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Song ve Wu, 2016, Gupta ve ark., 2014).

M. tuberculosis'te *Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c* operonu, florokinolonların eflüksünden sorumlu olan ABC eflüks ailesinden bir proteini kodlar. *M. smegmatis* ile yapılan bir çalışmada bu operon aşırı eksprese edildiğinde siprofloksasinin MİK'inin 8 kat arttığı gözlenmiş ve eflüks pompa inhibitörlerinden VR, CCCP, rezerpin varlığında direncin azaldığı bildirilmiştir (Pasca ve ark., 2004). CYP3A4 enzim sistemi RIF ilacı ile indüklenmektedir. VR ise bu enzim sistemi için bir substrat görevi görmektedir. Farelerde VR ve RIF kombine denendiğinde, TB kemoterapisinde RIF ile birlikte bakteriyel klirensi hızlandırdığı gösterilmiştir. Fareler üzerinde yapılan çalışmaların sonuçları insan TB'sinde eflüks pompa inhibitörlerinin in vivo ve in vitro olarak daha fazla araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır (Gupta ve ark., 2013). Bedakuilin, mikobakteriyel proton pompası ATP sentazı inhibe eder. Özellikle ÇİD-TB tedavisinde etkin bir ilaç olması nedeniyle FDA tarafından onay almıştır. Kullanıma girmesiyle beraber ilaç direnci bedakuilin için de sorun teşkil etmektedir. Bedakuilin direncinin nedenleri arasında eflüks pompa sistemleri de yer almaktadır. VR'in bedakuilinin eflüksünü inhibe ederek bedakuilin MİK'lerinde 8-16 kat azalma sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca VR'in klofazaminin MİK değerlerini de azalttığı bildirilmiştir (Gupta ve ark., 2014).

Sonuç olarak hala küresel bir halk sağlığı sorunu olan TB'nin etkin tedavisi için tedavi protokollerine eklenecek yeni alternatifler olması açısından eflüks pompa inhibitörlerinin daha fazla araştırılması, insan TB'sinde in vivo ve invitro etkinliğinin ve ayrıca farmakodinamik ve farmakokinetik etkileşimlerinin değerlendirilmesi için güncel çalışmalara ihtiyaç vardır. Yapılan çalışma sonuçları dirençli TB ile mücadelede umut vaad etmektedir.

Kaynaklar

- Aygül, A. (2015). Antibiyotik Direncinde Dışa Atım Sistemlerinin ve Dirençle Mücadelede Dışa Atım Pompa İnhibitörlerinin Önemi. *Mikrobiyol Bul*, 49(2), 278-291.
- Bakanlığı, T. S., & Müdürlüğü, H. S. G. (2011). Tüberküloz tanı ve tedavi rehberi. Ankara, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd. Şti, 1.
- Black, P. A.; Warren, R. M.; Louw, G. E.; van Helden, P. D.; Victor, T. C.; Kana, B. D. (2014). Energy metabolism and drug efflux in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(5), 2491-2503.
- Braibant, M., Gilot, P., & Content, J. (2000). The ATP binding cassette (ABC) transport systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS microbiology reviews*, 24(4), 449-467.
- Briffotiaux, J., Huang, W., Wang, X., & Gicquel, B. (2017). MmpS5/MmpL5 as an efflux pump in *Mycobacterium* species. *Tuberculosis*, 107, 13-19.
- Çilli, Y. D. D. A. (2019). Antitüberküloz İlaçlar ve Etki Mekanizmaları
- da Silva, P. E. A., Von Groll, A., Martin, A., & Palomino, J. C. (2011). Efflux as a mechanism for drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 63(1), 1-9.
- Goude, R., Amin, A. G., Chatterjee, D., & Parish, T. (2009). The arabinosyl-transferase EmbC is inhibited by ethambutol in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(10), 4138-4146.
- Grobbelaar, M., Louw, G. E., Sampson, S. L., van Helden, P. D., Donald, P. R., & Warren, R. M. (2019). Evolution of rifampicin treatment for tuberculosis. *Infection, Genetics and Evolution*, 74, 103937.
- Gupta, S., Cohen, K. A., Winglee, K., Maiga, M., Diarra, B., & Bishai, W. R. (2014). Efflux inhibition with verapamil potentiates bedaquiline in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(1), 574-576.
- Gupta, S., Cohen, K. A., Winglee, K., Maiga, M., Diarra, B., & Bishai, W. R. (2014). Efflux inhibition with verapamil potentiates bedaquiline in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(1), 574-576.
- Gupta, S., Tyagi, S., Almeida, D. V., Maiga, M. C., Ammerman, N. C., & Bishai, W. R. (2013). Acceleration of tuberculosis treatment by adjunctive therapy with verapamil as an efflux inhibitor. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 188(5), 600-607.
- Kerantzas, C. A., & Jacobs, W. R. (2017). Origins of combination therapy for tuberculosis: lessons for future antimicrobial development and application. *MBio*, 8(2).

- Keshavjee, S., & Farmer, P. E. (2012). Tuberculosis, drug resistance, and the history of modern medicine. *New England Journal of Medicine*, 367(10), 931-936.
- Koch, A., Cox, H., & Mizrahi, V. (2018). Drug-resistant tuberculosis: challenges and opportunities for diagnosis and treatment. *Current Opinion in pharmacology*, 42, 7-15.
- Lange, C., Abubakar, I., Alffenaar, J. W. C., Bothamley, G., Caminero, J. A., Carvalho, A. C. C., ... & Cirillo, D. M. (2014). Management of patients with multidrug-resistant/extensively drug-resistant tuberculosis in Europe: a TBNET consensus statement.
- Lee, N., & Nguyen, H. (2021). Ethambutol. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
- Louw, G. E., Warren, R. M., Gey van Pittius, N. C., McEvoy, C. R. E., Van Helden, P. D., & Victor, T. C. (2009). A balancing act: efflux/influx in mycobacterial drug resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(8), 3181-3189.
- Narang, A.; Giri, A.; Gupta, S.; Garima, K.; Bose, M.; Varma-Basil, M. (2017). Contribution of putative efflux pump genes to isoniazid resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*. *International journal of mycobacteriology*, 6(2), 177.
- Njie, G. J., Morris, S. B., Woodruff, R. Y., Moro, R. N., Vernon, A. A., & Borisov, A. S. (2018). Isoniazid-rifapentine for latent tuberculosis infection: a systematic review and metaanalysis. *American journal of preventive medicine*, 55(2), 244-252.
- Njire, M., Tan, Y., Mugweru, J., Wang, C., Guo, J., Yew, W., ... & Zhang, T. (2016). Pyrazinamide resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Review and update. *Advances in Medical Sciences*, 61(1), 63-71.
- Pasca, M. R., Gugliera, P., Arcesi, F., Bellinzoni, M., De Rossi, E., & Riccardi, G. (2004). Rv2686c-Rv2687c-Rv2688c, an ABC fluoroquinolone efflux pump in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(8), 3175-3178.
- Pasca, M. R.; Gugliera, P.; De Rossi, E.; Zara, F.; Riccardi, G. (2005). mmpL7 gene of *Mycobacterium tuberculosis* is responsible for isoniazid efflux in *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(11), 4775-4777.
- Piddock, L. J. (2006). Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 19(2), 382-402.
- Raynaud, C., Lan elle, M. A., Senaratne, R. H., Draper, P., Lan elle, G., & Daf e, M. (1999). Mechanisms of pyrazinamide resistance in mycobacteria:

- importance of lack of uptake in addition to lack of pyrazinamidase activity. *Microbiology*, 145(6), 1359-1367.
- Remm, S., Earp, J. C., Dick, T., Dartois, V., & Seeger, M. A. (2022). Critical discussion on drug efflux in *Mycobacterium tuberculosis*. *FEMS microbiology reviews*, 46(1), fuab050.
- Rocha, D. M., Viveiros, M., Saraiva, M., & Osório, N. S. (2021). The Neglected Contribution of Streptomycin to the Tuberculosis Drug Resistance Problem. *Genes*, 12(12), 2003.
- Rossi, E. D., Aínsa, J. A., & Riccardi, G. (2006). Role of mycobacterial efflux transporters in drug resistance: an unresolved question. *FEMS microbiology reviews*, 30(1), 36-52.
- Silva, P. E. A., & Aínsa, J. A. (2007). Drugs and drug interactions. *Tuberculosis*, 593-633.
- Somoskovi, A., Parsons, L. M., & Salfinger, M. (2001). The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Respiratory research*, 2(3), 1-5.
- Song, L.; Wu, X. (2016). Development of efflux pump inhibitors in antituberculosis therapy. *International journal of antimicrobial agents*, 47(6), 421-429.
- Strull, G. E., & Dym, H. (1995). Tuberculosis: Diagnosis and treatment of re-surgent disease. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 53(11), 1334-1340. doi:10.1016/0278-2391(95)90597-9.
- Unissa, A. N., Subbian, S., Hanna, L. E., & Selvakumar, N. (2016). Overview on mechanisms of isoniazid action and resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Infection, Genetics and Evolution*, 45, 474-492.
- Vilchèze, C., & Jacobs Jr, W. R. (2019). The isoniazid paradigm of killing, resistance, and persistence in *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3450- 3461.
- World Health Organization. (2021). Global tuberculosis report 2021. World Health Organization.
- Wright, G. D. (2012). Back to the future: a new 'old'lead for tuberculosis. *EMBO molecular medicine*, 4(10), 1029-1031.
- Zhang, Y., & Yew, W. W. (2009). Mechanisms of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* [State of the art series. Drug-resistant tuberculosis. Edited by CY. Chiang. Number 1 in the series]. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 13(11), 1320-1330.
- Zhang, Y., Scorpio, A., Nikaido, H., & Sun, Z. (1999). Role of acid pH and deficient efflux of pyrazinoic acid in unique susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to pyrazinamide. *Journal of bacteriology*, 181(7), 2044-2049.

Zhang, Y., Wade, M. M., Scorpio, A., Zhang, H., & Sun, Z. (2003). Mode of action of pyrazinamide: disruption of *Mycobacterium tuberculosis* membrane transport and energetics by pyrazinoic acid. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 52(5), 790-795.

