

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS'TE ANTİBİYOTİK DİRENÇ MEKANİZMALARI

Ayşe YÜCE

Drug resistance mechanisms of Mycobacterium tuberculosis.

Son kırk yıldır tüberküloz tedavisinde kullanılmakta olan ilaçlar, aktif tüberkülozu hastaların прогнозunu kesin olarak düzeltmiş, hatta 1980'lerin başında kısa süreli kemoterapinin devreye girmesi ile hastalığın tamamen ortadan kaldırılabileceği ümit edilmeye başlanmıştır(6,21). Ne yazık ki tüberküloz olgularındaki bu düşme eğilimi Amerika'da 1984'lerde duraklamış ve 1985'ten 1990'a kadar bildirilen tüberküloz olguları artmaya başlamıştır(21). Tüberküloz insidansındaki bu artma, evsizlik ve intravenöz ilaç kullanımı gibi sosyal ve medikal problemlerin yanısıra HIV (Human Immunodeficiency Virus) epidemisi ile paralellik göstermektedir(7,14,15). Bilindiği gibi HIV infeksiyonu, tüberküloz savaşında öncelikle gereklili olan gecikmiş tip aşırı duyarlılık başta olmak üzere konak defansını ciddi şekilde bozan bir hastalıktır. HIV infeksiyonlu hastalarda görülen tüberküloz, bir yandan iyi uygulanmayan tedavi rejimi sonucu iyileşmemekte, öte yandan dirençli tüberküloz basilleri ile oluşan infeksiyonlar hızla yayılmakta ve tüm dünyada sorun olmaya devam etmektedir(20,21).

Son yıllarda CDC (Centers for Diseases Control) özellikle New York'ta multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) olgularında patlamalar olduğunu, bu patlamalarda olguların % 80'inden çوغunu HIV ile infekte hastaların oluşturduğunu ve tüberküloz tedavisinde kullanılan en etkili ilaçlar olan isoniazid ile rifampisine karşı direnç gözlemini bildirmektedir(4,5,7,9,11,17). Ayrıca izolatların çoğu diğer antitüberküloz ilaçlara da dirençli bulunmuştur(20). İşte son üç yılda özellikle HIV infeksiyonlu hastalarda giderek artan sıklıkta MDR-TB olgularının görülmesi ve bunların da % 40 kadar ölüme sebep olması(11), *M.tuberculosis*'te ilaç etkisinin ve direncinin moleküller mekanizmasına yönelik araştırmaları hızlandırmıştır(1,2,19).

Mikroorganizmaların antibiyotiklere direnç kazanması aşağıdaki yollardan biri veya birkaçı ile gerçekleşir(22).

1. Ilacın bağlanma yeri veya reseptörün modifikasiyonu
2. Membran geçirgenliğinin azaltılması ile ilaçın içeriye alınması veya hızlı atılımı,
3. Ilacın enzimatik inaktivasyonu,
4. Dirençli alternatif bir metabolik yolun veya enzimin sentezlenmesi,
5. Kombine mekanizmalar.

M.tuberculosis'te klinik açıdan ilaç direnci primer ya da sekonder olarak gelişir.

Hiç bir tüberküloz ilacı ile karşılaşmadığı halde tüberküloz basılı toplulukları içinde doğal olarak her 10^5 - 10^8 basilde bir oranında tek bir ilaca dirençli mutantlar bulunur(6). Tüberküloz basılıının kromozomunda oluşan mutasyonlar sonucu gelişen bu dirence mutasyonel direnç denir.

Mutasyonel ilaç direncinin ilaç kullanımı ile ilgisi yoktur, çünkü ilaçlarla karşılaşmak mutasyona yol açmaz. Eksik ya da uygunsuz ilaç kullanıldığından duyarlı basillerin ortadan kalkarak, dirençli mutantların sayıca artmasına bağlı olarak gelişen direnç sekonder ya da kazanılmış dirençtir. Bu şekilde dirençli hastanın basilleri ile infekte olmuş ve hiç ilaç kullanmamış kişilerde görülen direnç ise primer direnç olarak bilinir. MDR-TB olguları primer ya da sekonder direnç sonucu gelişir(16).

Geçtiğimiz üç yılda ilaç direnci üzerine büyük bir ilginin yoğunlaşmasının nedeni, MDR-TB olgularının giderek artması yanısıra, bu dirençli mikobakterilerle infekte hastalarda tedavinin başarısızlığı olmuştur(12,16). İlk kez 1992'de Londra'daki Hammersmith Hastanesi ile Paris Pasteur Enstitüsü'nden bir grup araştırmacı tarafından *M.tuberculosis*'in isoniazide dirençli mutasyonu tanımlanmış ve böylece tüberkülozun ilaç direncine genetik bir temel bulunmuştur(2).

Antitüberküloz ilaçlarda etki ve direncin moleküller mekanizması

Tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar iki büyük gruba ayrılarak incelenirler.

I. kuşak antitüberküloz ilaçlar isoniazid, rifampisin pirazinamid, etambutol ve streptomisin olup tedavide en etkili olanlardır.

II. kuşak antitüberküloz ilaçlar ise aminosalisilik asid, sikloserin, etionamid, kanamisin, viomisin, kapreomisin, amikasin, tioasetazon olup daha seyrek olarak ve dirençli olgularda kullanılırlar. Bunlardan başka henüz yeterli uygulama yapılmamış olan fluorokinolon türevleri, beta-lactam antibiyotikler, bazı semisentetik rifampisin türevleri de bulunmaktadır(3).

İsoniazid (isonikotinik asid hidrazid, INH)

1952 yıldan beri tüberküloz tedavisi ve profilaksisinde son derece başarı ile kullanılan, bakterisidal etkili, kolay uygulanabilen mükemmel bir ilaçtır. Etki mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte mikobakteri hücre duvarının önemli bir komponenti olan mikolik asit sentezini inhibe etmek ve piridoksal fosfat metabolizmasını bozmak sureti ile etki etiği düşünülmektedir(6,21,23).

M.tuberculosis dışındaki bakterilere etkisiz olup, uzun süre kullanıldığından hepatit, periferal nöropati, deri döküntüleri ve nörolojik bozukluklara neden olabilir.

İlk kez 1950'lerde isoniazid direnci ile *M.tuberculosis*'in azalmış katalaz aktivitesi arasında bir ilişki olduğu dikkat çekmiş, daha sonra bu ilişkinin moleküller temeli konusunda araştırmalar yapılarak *M.tuberculosis*'te katalaz-peroksidad enzimini kodlayan Kat G geni klonlanmış ve INH'a dirençli suşlarında bu genin yokluğu saptanmıştır(10,17,23). Zhang ve ark.(23) INH dirençli *M.tuberculosis* suşlarında katalaz aktivitesinin azaldığını, bu suşların kobaylarda virulan olmadığını, Kat G geninin, INH dirençli *M.smegmatis* mutant suşlar ile bazı *E.coli* suşlarına INH duyarlığını geri verebildiğini göstermiş ve bu enzimin INH etkisinde önemli olabileceğini vurgulamışlardır. Stoeckle ve ark.(17) New York City'de INH dirençli suşların % 76'sında, INH duyarlı suşların ise % 90'ında Kat G geni saptadıklarını, INH direnci için Kat G geninin tam yokluğu yanısıra başka mekanizmaların da etkili olduğunu bildirmiştir. Heym ve ark.(10) *M.tuberculosis*'te INH duyarlığının katalaz-peroksidad enzimini kodlayan Kat G geni tarafından sağlandığını, bu enzimin diğer mikobakteriler ve *E.coli* katalaz-peroksidaslarına benzer yapısı olduğunu, *E.coli* Kat G gen ekspresyonunun, INH dirençli *M.tuberculosis* mutantlarına, INH duyarlığını kısmen geri verebileceğini göstermiştir.

Günümüzde bazı gelişmiş ülkelerde primer INH direncinin % 30 veya daha yukarılarda olduğu, giderek artan INH ve rifampisin direncinin ciddi bir problem oluşturduğu bildirilmektedir(6). Bu enzimden başka Inh A genindeki mutasyonların da INH dirençli fenotiplerden sorumlu olabileceğini belirtilmektedir(1).

Rifampisin

S.mediterranei tarafından üretilen rifamisin B'den elde edilmiş semisentetik, bakterisidal etkili bir ilaçtır. 1970'lerin başlarından beri tüberküloz tedavisinde kullanılmakta olup INH ile birlikte çok etkilidir. DNA'ya bağımlı RNA polimerazın β subünitine (rpoB) bağlanmak sureti ile RNA elongasyon ve transkripsiyonunu önleyerek etki eder(6,18,21). *M.tuberculosis*'ten başka bir çok Gram olumlu ve olumsuz bakterilere etkilidir.

Kusma, ateş, döküntü, hepatomegali gibi yan etkileri bulunur. Önceden antibiyotik ile karşılaşmayan basil topluluğunda 10^7 - 10^8 oranında rifampisin dirençli spontan mutantlar bulunduğu, rpoB genindeki değişikliklerin de rifampisine karşı dirençte rol oynadığı anlaşılmıştır. Telenti ve ark.(18,19) farklı coğrafik bölgelerden elde ettikleri 66 rifampisin dirençli izolatin 64'ünde 23 aminoasitlik bir bölgede (511-533) kümelenmiş mutasyonlar gözlediklerini, 56 rifampisin duyarlı izolatin hicbirinde mutasyon gözlemediğlerini bildirmiştir. rpoB geni tarafından kodlanan bu ileri derecede korunmuş aminoasitler arasındaki yer değiştirme, *M.tuberculosis*'te rifampisine direncin sorumlu moleküller basamağı olarak görülmektedir. Telenti ve arkadaşları rifampisin dirençli *M.tuberculosis*'te en sık 526 pozisyonundaki C→T (his-tyr) ile 531 pozisyonundaki C→T (ser-leu) lokalizasyonlarında mutasyonlar gözlediklerini, *E.coli* de de rifampisin direncinin rpoB kodlayan gende spesifik nükleik asitlerin yer değiştirmesi ile ilgili olduğunu, bu mutasyon yerlerinin *M.tuberculosis*, *M.leprae*, *E.coli*, *S.typhimurium*, *P.putida* arasında saklanmış aminoasitlere uyduğunu bildirmiştir. Yine aynı araştırmacılar farklı coğrafik

kaynakların *M.tuberculosis* izolatlarında özel mutasyonlar görülebileceğini, bu bulguların rifampisin direncine yol açan sürekli mutasyon kavramı ile tutarlılık gösterdiğini vurgulamaktadırlar.

Streptomisin

1946 yılından beri tüberküloz tedavisinde kullanılan düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik, yüksek konsantrasyonlarda bakterisit etkili bir aminoglikozittir. *M.tuberculosis*'in yanısıra birçok Gram olumlu ve olumsuz bakterilere de etkilidir. 30 S ribozomal subünlite bağlanarak protein sentizini inhibe etmek sureti ile etke eder. Basil toplulukları içinde 1×10^{-6} oranında dirençli mutantlar bulunur. Ototoksite, nefrotoksite, nöromuskuler blokaj, hipersensitivite gibi yan etkileri bulunur.

Douglas ve Steyn(8) streptomisin direnci konusunda yaptıkları çalışmada, *E.coli*'de 16 S ribozomal RNA (16 S 1 rRNA) 909-915 arası bazlarının streptomisin bağlanmasıyla önemini olduğunu, bu bölgedeki mutasyonların streptomisini etkisiz hale getirdiğini, streptomisine dirençli *M.tuberculosis* izolatlarında 16 S rRNA'da 866 pozisyonundaki A-G mutasyonu saptadıklarını bildirmiştirlerdir. *M.tuberculosis*'teki 866 pozisyonu, *E.coli*'de 16 S rRNA'nın 913 pozisyonuna uygun gelmekte olup, mikrobakteriyel 16 S rRNA, *E.coli*'ninkinden daha kısalıdır. 866 A-G mutasyonu, *M.tuberculosis* direnci için ikinci genetik sorumlu olup, yazar ve arkadaşları streptomisin bağlayan bu bölgede başka mutasyonların olabileceğini de umuyorlar.

M.tuberculosis'te ilaçlara karşı direncin moleküler mekanizması konusundaki araştırmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Bakteri genetikçileri yeterli fon olmaması ve kültürde yavaş üremesi nedeni ile önceleri bu bakteri ile çalışmayı pek istememişler, ancak özellikle 1980'lerden sonra HIV epidemisi ile birlikte, MDR-TB olgularının hızla yayılması, ölümlerin artması, sağaltımın başarısızlığı ve nozokomiyal bulaşların olması gibi tüm dünyayı tehdit eden sorunlar karşısında direncin moleküler temelini araştırmak üzere yoğun yoğun çalışmalar başlamışlardır(13). Bill Jacobs şimdiden INH direncinde rol oynayan ikinci bir genin harıtmasını çıkarmıştır(1). Tüberküloz savaşında başarı yeni tanı yöntemlerinin hızla devreye girmesi, yeni ve kısa sürede antibiyotik duyarlılık yöntemlerinin geliştirilmesi, yeni antimikrobakteriyel ajanların bulunması ile olanaklıdır(11,20).

KAYNAKLAR

- 1- Ahern H: Insights into molecular mechanisms of drug-resistant TB, *Am Soc Microbiol News* 59:593 (1993).
- 2- Aldhous D: Genetic basis found for resistance to TB drug, *Science* 257:1038 (1992).
- 3- Alford RH: Antimycobacterial agents, "Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (eds): *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 3rd ed." p.350, Churchill Livingstone, New York (1990).
- 4- Busillo CP, Lessnau KD, Sanjana V, Sovmakis S, Davidson M, Mullen MP, Talavera W: Multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with human immunodeficiency virus infection, *Chest* 102:797 (1992).
- 5- Coronado VG, Beck-saguc CM, Hutton MD, Davis BJ, Nicholas P, Villareal C, Woodley CL, Kilburn JO, Crawford JT, Frieden TR, Sinkowitz RL, Jarvis WR: Transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* among persons with human immunodeficiency virus infection in an urban hospital: Epidemiologic and restriction fragment length polymorphism analysis, *J Infect Dis* 168:1052 (1993).
- 6- Davidson PT, Le HQ: Drug treatment of tuberculosis-1992, *Drugs* 43:651 (1992).
- 7- Dooley SW, Jarvis WR, Martone WJ, Snider DE Jr: Multidrug-resistant tuberculosis, *Ann Intern Med* 117:257 (1992).
- 8- Douglas J, Steyn LM: A ribosomal gene mutation in streptomycin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates, *J Infect Dis* 167:1505 (1993).
- 9- Frieden TR, Sterling T, Mendez AP, Kilburn JO, Cauthen GM, Dooley SW: The emergency of drug -resistant tuberculosis in New York City, *N Engl J Med* 328:523 (1993).

- 10- Heym B, Zhang V, Poulet S, Young D, Cole ST: Characterization of the kat G gene encoding a catalase-peroxidase required for the isoniazid susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*, *J Bacteriol* 175:4255 (1993).
- 11- Jacobs WR, Barletta RG, Udani R, Chan J, Kalkut G, Sosne G, Kieser T, Sarkis GJ, Hatfull GF, Bloom BR: Rapid assessment of susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* by means of luciferase reporter phages, *Science* 260:819 (1993).
- 12- Kim SJ, Hong YP: Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Korea, *Tubercul Lung Dis* 73:219 (1992).
- 13- Levy SB: Detecting multidrug resistant tuberculosis early, *Lancet* 341:664 (1993).
- 14- Morris JT, McAllister CK: Homeless individuals and drug-resistant tuberculosis in South Texas, *Chest* 102:802 (1992).
- 15- Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, Crawford TR, Davis BJ, Dooley SW, Jarvis WR: Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*, *Ann Intern Med* 117:191 (1992).
- 16- Small PM, Shafer RW, Hopewell PC, Singh SP, Murphy MJ, Desmond E, Sierra MF, Schoolnik GK: Exogenous reinfection with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in patients with advanced HIV infection, *N Eng J Med* 328:1137 (1993).
- 17- Stockle MY, Guan L, Rieger N, Weitzman I, Kreiswirth B, Kornblum J, Laramque F, Riley LW: Catalase-peroxidase gene sequences in isoniazid sensitive and - resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* from New York City, *J Infect Dis* 168:1063 (1993).
- 18- Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, Matter L, Schopfer K, Bodmer T: Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*, *Lancet* 341:647 (1993).
- 19- Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Schmidlein T, Bodmer T: Direct, automated detection of rifampin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by polymerase chain reaction and single - strand confirmation polymorphism analysis, *Antimicrob Agents Chemoter* 37:2054 (1993).
- 20- Utley AH, Poznick A: Resurgence of tuberculosis, *J Hosp Infect* 23:249 (1993).
- 21- Van Scoy RE, Wilkowske CJ: Antituberculous agents, *Mayo Clin Proc* 67:179 (1992).
- 22- Willett HP: Antimicrobial agents, "Joklik WK, Willett HP, Amos DB, Wilfert CM (eds): Zinsser Microbiology, 20.baskı" kitabında s.153, Appleton and Lange, New York (1992).
- 23- Zhang Y, Heym B, Allen B, Young D, Cole S: The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*, *Nature* 358:591 (1992).