سیستم های افلوکس پمپ در باکتری ها

• فاطمه ولدخانی
دانشجوی کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

• دکتر حبیب ضیغمی
استادیار میکروب شناسی، مدیر گروه میکروب شناسی و ویروس شناسی دانشگاه علوم پزشکی زنجان
zeighami@zums.ac.ir

چکیده

یکی از مهم ترین مکانیسم های مقاومت باکتریایی بیان سیستم های افلوکس پمپ است. در سلسله پروکاریوت ها ۵ خانواده از سیستم های افلوکس پمپ وجود دارد. سیستم های افلوکس پمپ با خروج ترکیبات خارج سلولی از جمله آنتی بیوتیک ها، بیوسایدها، فلزات سنگین، مولکول های سیگنال سیستم کوارم سنسینگ و یا متابولیت های باکتریایی از ایجاد غلظت کشنده ترکیبات سمی برای سلول جلوگیری نموده و موجب بقاء باکتری می شوند. چالش پیش روی محققان یافتن راهی برای مهار مکانیسم های مقاومت باکتریایی از جمله بیان سیستم های افلوکس پمپ است.

کلمات کلیدی: آنتی بیوتیک، مکانیسم مقاومت، سیستم های افلوکس پمپ

مقدمه

بیش از ۷۰ سال از ظهور اولین آنتی بیوتیک علیه عفونت های میکروبی می گذرد و در این مدت باکتری ها به عنوان موجودات زنده و هوشمند از مکانیسم های جدیدی برای بقاء خود استفاده کردند و این امر ناشی از تدابیر شگفت انگیز باکتری ها در جدال با محیط برای بقاء می‌باشد.

اما متاسفانه مسئله نگران کننده، جان باختن بسیاری از انسان ها در اثر ابتلا به عفونت های مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی است. آنچه که طی بررسی ها مشخص شده است؛ یکی از مهم ترین مکانیسم های مقاومت آنتی‌بیوتیک ها بیان سیستم های افلوکس پمپ در باکتری ها است.

به طور کلی مقاومت به آنتی بیوتیک ها از طریق جهش در ژن های کد کننده جایگاه اثر آنتی بیوتیک و یا کاهش غلظت فعال آنتی بیوتیک رخ می دهد. موانع مختلفی در باکتری مانع ورود آنتی بیوتیک ها و ترکیبات سمی می شوند.

LPS در باکتری های گرم منفی به عنوان یک سد عمل نموده و مانع ورود آنتی بیوتیک ها به داخل سلول می شود به طوری که بیشتر داروها از طریق پورین وارد سلول باکتری می گردند.

اختلال در جذب دارو ممکن است در اثر تغییر در ساختار کانال های پورینی به واسطه جهش در ژن کدکننده پورین و یا کاهش تعداد پورین ها به ترتیب موجب مقاومت به کاربانم و سفالوسپورین ها در انتروباکتر آئروژینوزا شود. سلول باکتری از سه طریق غلظت آنتی بیوتیک داخل

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

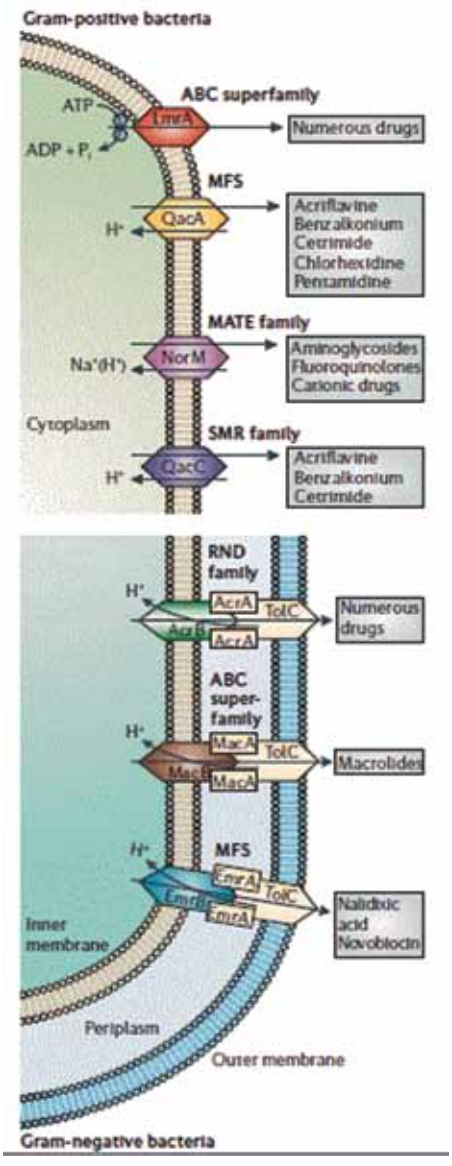
سـلولی را کاهش می دهد: ۱- محدودیت جذب دارو، ۲- غیرفعال سازی دارو، ۳- فعال سازی سیستم های افلوکس پمپ. غیرفعال سازی داروها ممکن است از راه های تجزیه دارو و یـا انتقال یک گروه شـیمیایی به دارو ایجاد شـود کـه از بزرگترین آنزیم های تغییر دهنـده دارو می توان به بتالاکتامازها اشاره کرد.

افلوکـس پمپ های آنتـی بیوتیکی اولین بار در سـال ۱۹۷۸ توسط levy در E-coli شناسایی شد. سیستم های افلوکـس پمپ علاوه بـر پروکاریوت ها در سـلول های یوکاریوتـی نیز وجـود دارد. افلوکس فرآیندی اسـت که طی آن باکتری، ترکیبات خارج سـلولی سمی مانند داروها، مواد شـیمیایی را به خارج سـلول دفـع و از ایجاد غلظت کشـنده برای باکتـری جلوگیری می نماید. سیسـتم های افلوکس پمپ در پروکاریوت ها دارای ۵ خانواده هسـتند کـه به دلیـل تنـوع سوبسـترایی در ایجـاد مقاومت چند دارویـی از اهمیت بالایی برخوردارند. افلوکس پمپ ها نه تنهـا باعث افزایش MIC آنتی بیوتیـک ها بلکه با کاهش غلظـت دارو در داخل سـلول منجر به ایجاد سـویه های موتانت مقـاوم در باکتری ها می گردند. بـرای تحقیق در زمینه مهـار سیسـتم های افلوکس پمپ لازم اسـت ابتدا با سـاختار و عملکردشـان بیشتر آشنا شـویم. در سلسله پروکاریـوت ها ۵ خانواده efflux transporters وجود دارد:

۱- Major Facilitator Superfamily (MFS)
۲- Small Multidrug Resistant (SMR)
۳- Resistance Nodulation Division (RND)
۴- Multidrug And Toxic Efflux (MATE)
۵- ATP Binding Cassette (ABC)

سیسـتم های افلوکس پمپ ها به صورت یک قسمتی یا سـه قسمتی هستند. افلوکس پمپ های یک قسمتی پس از جذب دارو با کمک پورین ها یا کانال های پروتئینی آن را به بیرون از سـلول باکتری هدایـت می نمایند در حالی که افلوکس پمپ های سه قسمتی پس از جذب دارو مستقیما آن را بـه بیرون از باکتری دفـع می کنند. حداقل ۳ مرحله جهت انتقال سوبسـترا توسط ترانسپورترها از طریق غشای سیتوپلاسمی وجود دارد:

شکل(۱): شماتیک سیستم های افلوکس پمپ (۱)



۱- اتصـال یـک سوبسـترا به ناحیـه سیتوپلاسـمی یا پری پلاسمی غشا

۲- تغییر سـاختاری در ترانسپورترها که منجر به اتصال دوباره سوبسترا به محل اتصال می شود. این مرحله وابسته به انـرژی بوده که از ATP در ترانسـپورترهای ABC و پمپ پروتون یا سـدیم در دیگر افلوکس پمپ ها اسـتفاده می شود.

۳- آزاد سازی سوبسترا به بیرون از سلول باکتری (۳-۱).

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

خانواده بزرگRND

خانواده RND بـه طور ویژه در باکتری های گرم منفی یافت می شوند. خانواده RND با توجه به ساختار سوبسترا آن را مستقیما به محیط بیرون پمپ مـی نماید. برخلاف سایر خانواده های ناقل، تمامی اعضای خانواده RND در ترشح و دفع لیگاند (دارو و یون های فلزی سمی) دخالت دارند و با ناقل های قبلی در سـاختار اولیه متفاوت هستند. ایـن خانواده قادر به افلوکس انواعـی از ترکیبات از جمله مواد باردار و آمفی فیلیک مانند تتراسـایکلین، کینولون ها، کلرامفنیـکل و بتالاکتام می باشـد. سـاختار افلوکس پمپ RND شـامل ۱۲ آلفاهلیکس TM بـا دو لوپ بزرگ و ۹۰۰ آمینو اسـید اسـت که به صورت یک کمپلکس سـه قسـمتی با دومین های پری پلاسـمی و کانال های غشای خارجی و پروتئین های آداپتور پری پلاسـمی را تشـکیل می دهد. پمـپ AcrAB-TolC در این گروه از باکتری E.coli بسیار مورد مطالعه قرارگرفته است.

بیان افلوکـس پمپ های چند دارویی تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار دارد.

۱- تعدادی از سیسـتم های افلوکس پمپ در باکتری ها بـه طور ذاتی بیان می شـوند مانند MexAB-OprN در سودوموناس آئروژینوزا و AcrAB در Ecoli

۲- ممکن است ژن های کد کننده سیستم افلوکس پمپ تحت تاثیر القا کننده های خاص بیان شود.

۳- جهش در پروتئین های تنظیمی موجب سرکوب بیان ژن های کد کننده سیستم افلوکس پمپ می شود (۴،۵).

خانواده بزرگ MFS

ترانسپورتر MFS توسـط Henderson و همکارانش کشف شد که شامل انواع Symporter ,Antiporter, Uniporter می باشـد. یکـی از انـواع آنتـی پورترهـا، افلوکس پمپ چند دارویی است. ژن های کدکننده MFS بیشـتر کروموزومی هسـتند. ابر خانواده MFS دربردارنده ۷۴ خانـواده اسـت و در تمامی موجـودات زنده از جمله پروکاریـوت ها و یوکاریـوت ها وجـود دارد که یکی از مهم‌تریـن افلوکس پمپ هـا در باکتری هـای گرم مثبت می باشـد و حدود ۱۰ درصـد از پروتئین های E.coli را تشکیل می دهد. ترانسپورترهای MFS ساختار و عملکرد بسـیار حفاظت شده دارند و دارای ۴۰۰ تا ۶۰۰ اسید آمینه هستند. براساس ساختمان نواحی بین غشاء به دو گروه ۱۲ و ۱۴ ناحیه بین غشایی (TM) تقسیم می شوند. خانواده دوم از ابر خانواده MFS دارای سـاختار (14-SPANNER) آنتـی پورتـر H^+ / دارو و خانواده سـوم از ابـر خانواده MFS دارای سـاختار (12-SPANNER) آنتـی پورتر H^+ / دارو اسـت. بیشتر خانواده های این نوع از افلوکس پمـپ تنها داروها را ازسـیتوزول به فضای پری پلاسـمی انتقال می دهند و فاقد ترانسپورتر موجود در غشای داخلی برای خروج دارو به بیرون از باکتری هستند (۹-۶).

خانواده SMR

ترانسـپورتر SMR جـزء گـروه انتقـال دهنـده دارو/متابولیـت اسـت. پمـپSMR فقـط در باکتری ها یافت شـده اسـت و توسط کروموزوم، پلاسـمید و عناصر قابـل انتقـال بیان می شـود. در باکتری های گـرم مثبت و منفی ۲ سـاختار هومولـوگ SMR وجـود دارد در حالی کـه در آرکی هـا تنها یـک هومولوگ SMR وجـود دارد. پمـپ SMR یک پروتئین حـدودا ۱۲ کیلودالتونی اسـت کـه در غشـای داخلـی دارد. پروتئین هـای ایـن خانواده کوچک‌ترین انتقال دهنده‌های چند دارویی شـناخته شـده می‌باشـند و اندازه ای بین ۶۰۰-۴۰۰ آمینو اسید دارد. از نظر توپولوژیکی دارای چهار ناحیه TMF بصورت هوموترامر فعال است که به دلیل سـاختار اسیدهای آمینه لوپ ماهیت هیدروفیلیک دارد. پروتئین های این گروه براسـاس فنوتیپ بـه دو دسـته Small Multidrug Pump(SMP) و Suppressor of groEL mutation protrins(SUG) تقسیم می‌شوند (۱۳-۱۰). ترکیبات منتقله توسط این خانواده دارای ماهیـت لیپوفیلیـک و کاتیونیک مانند تتراسـایکلین، اریترومایسـین و سـولفادیازین است. سوبسـترای SMR وابسـته به انرژی pmf اسـت. مکانیسـمSMR اولین بار بـر روی sau-smr توسـط Grinius وGoldberg بررسـی شـد. برای این کار آن هـا sau-smr را بر روی پروتئولیپوزوم بازسـازی نمودند که پمپ بازسـازی شـده قـادر بـود TPP را با کمک بـا گرادیانت الکتروشـیمیایی

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

پروتون به بیرون پمپ نماید. براساس مطالعاتی که بر روی Eco-EmrE انجام گرفته است میزان انرژی لازم برای پمپ سوبسترا بستگی به ماهیت ترکیب دارد، وضعیت انرژی سلول و گرادیانت پروتون غشا دارد (۱۵، ۱٤، ۱۲، ۲).

خانواده MATE

MATE برای اولین بار در سال ۱۹۹۸ به عنوان یک خانواده انتقال دهنده پروتئین ها شناخته شد. این ترانسپورترها در حیوانات پیشرفته و گیاهان و باکتری ها گسترش یافته‌اند. اعضای خانواده MATE دارای ۱۲دومین بین غشایی می باشند. MATE طیف متنوعی از آنتی بیوتیک ها از جمله نوروفلوکساسین، کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، کانامایسین، آمپی سیلین و استرپتومایسین را به بیرون از باکتری پمپ می نماید. MATE در سلول های انسانی در خروج عوامل سمی شیمی درمانی دخالت دارد. بیشتر ترانسپورترهای این گروه با استفاده از گرادیانت H^+ یا Na^+ ترکیبات مختلف از جمله داروها، فلوروکینولون ها، آمینوگلیکوزیدها و رنگ های کاتیونی را به فضای پری پلاسمی پمپ می نمایند. اولین مدل این گروه، افلوکس پمپ NorM یک آنتی پورتر Na^+/دارو است که در سال ۱۹۹۸ در ویبریوپاراهمولایتیکوس شناسایی شد (۱۷، ۱٦، ۸).

انتقال دهنده های ABC

انتقال دهنده های ABC شامل انواع مختلفی از جمله Importer ها و Exporter ها در پروکاریوت ها و یوکاریوت ها است. ABC ترانسپورترها در خروج دارو در باکتری ها و نیز در مقاومت به آنتی بیوتیک ها در سلول های سرطانی نقش دارند. تنها تعداد کمی از اعضای این خانواده به عنوان multidrug exporter شناخته شده است. برخلاف دیگر افلوکس پمپ ها، این گروه از انرژی حاصل از هیدرولیز ATP برای انتقال فعال دارو بر خلاف شیب غلظت استفاده می نمایند. خانواده ABC ترانسپورتر علاوه بر افلوکس متابولیت های طبیعی و مقاومت دارویی، در تقسیم سلولی و نگهداری حجم سلول نیز نقش دارد. ABC ترانسپورترها دارای ۲۰۰ آمینواسید هستند. همگی دارای ۲ دومین (TMD) یا (MSD) متشکل از ٦ آلفا هلیکس، مسئول انتقال سوبسترا و ۲ دومین متصل شونده به نوکلئوتید (NBD) هستند. برخلاف TMD، ساختار NBDها بسیار حفاظت شده و دارای چندین موتیف مشخص است. نواحی والکر B،A و سکانس LSGGQ عامل اختصاصیت دومین ها هستند. نواحی WalkerA و WalkerB در تمامی خانواده های ترانسپورتر ABC وجود دارند. طی فرآیند افلوکس TMDها در سمت سیتوپلاسم به دو مولکول کوچک یا یک مولکول بزرگ از سوبستراها متصل می شوند. هیدرولیز ATP موجب تغییر شکل TMD می شود به طوری که سطح اتصال به سوبسترا به سمت سیتوپلاسم جابجا می شود. دومین های متصل شونده به ATP به سمت خارج سیتوپلاسم به یکدیگر متصل شده و در سمت داخل سیتوپلاسم از یکدیگر جدا هستند. شایع ترین مثال ABC ترانسپورترها پمپ sav1866 در استافیلوکوکوس اورئوس است که به صورت یک هوموداِیمر می باشد (۱۸، ۱٦، ۱٤).

نقش افلوکس پمپ های چند دارویی در بیوفیلم باکتریایی

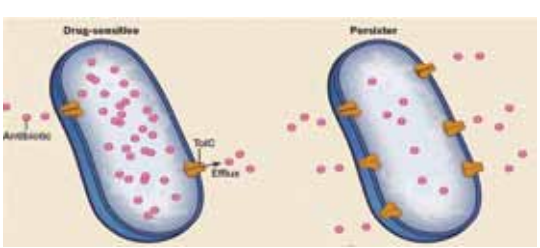
بیوفیلم مجموعه ای از یک یا چند گونه از باکتری ها است که در ارتباط با یکدیگر به سطوح زنده یا غیر زنده متصل می باشند تمامی سلول ها در حصاری از ماتریکس خارج سلولی قرار گرفته و با یکدیگر و محیط اطراف خود مرتبط هستند. بیشتر بیماری های عفونی باکتریایی در رابطه با تشکیل بیوفیلم است. سیستم های افلوکس پمپ با خروج مولکول های کوارم سنسینگ در تشکیل بیوفیلم نقش دارند. چندین مکانیسم در مقاومت آنتی بیوتیکی بیوفیلم موثر است. ۱- انتشار ضعیف آنتی بیوتیک از طریق ماتریکس پلی ساکاریدی، ۲- پاسخ های قحطی و سرعت پایین رشد، ۳- کوارم سنسینگ، ٤- بیان افلوکس پمپ و ۵- ظهور سلول های مقاوم. سیستم افلوکس پمپ MexAB-OprM باکتری سودوموناس آئروژینوزا علاوه بر حالت پلانکتونی در بقاء این باکتری به فرم بیوفیلم نیز دخالت دارد. MexAB-OprM در سلول های سطح خارجی بیوفیلم نسبت به نواحی مرکزی بیان بیشتر دارد. سیستم های افلوکس پمپ علاوه بر اثر ضد میکروبی از لحاظ ساختاری نیز در تشکیل ساختار بیوفیلم مؤثرند. به طور مثال از نظر ساختاری TOLC از AcrAB- TolC علاوه بر راه خروج آنتی بیوتیک ها،

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

جهـت اتصال و تشـکیل بیوفیلم در سـویه EAEC مورد نیاز است. در باکتری سـالمونلا تیفی ۹ افلوکس پمپ چند دارویی وجود دارد که جهت تشـکیل ساختار بیوفیلم ضروری هستند. ترکیبات مهارکننده افلوکس پمپ بـه همراه برخی از ترکیبات ضـد میکروبی موجـب اثر مهاری بـر روی تشـکیل بیوفیلم می شـوند. به طور مثال ترکیـب caffeoylquinic(CQA) بـه همراه ترکیباتی از جملـهmoxifloxacin و ethidium bromide موجب مهار تشـکیل بیوفیلم در اسـتافیلوکوکوس اورئوس و انتروکوکوس فکالیس می شوند (۲۰، ۱۹، ۱۰).

سلول های مقاوم [1]

سـلول های مقاوم گروه کوچکی از باکتری ها هستند که نسـبت به آنتی بیوتیک ها تحمل نشـان می دهند و در طی درمان با آنتی بیوتیک زنده می مانند. آن ها از نظر فنوتیپی از سلول های مقاوم به آنتی بیوتیک متفاوت هستند. سلول های مقاوم از نظر متابولیکی غیرفعال هستند همچنین در مطالعات جدید ثابت شـده کـه افزایش فعالیـت افلوکس پمپ ها با تشکیل سـلول های مقاوم مرتبط اسـت. در تعریف جدید این سـلول ها را latent ولـی active می نامند. مقاومت آنتی بیوتیکی در سـلول های مقاوم علاوه بر تولید افلوکس پمپ ها بـه دلیل بیان کمتر پورین هـای ompf , ompc اسـت. امروزه با توجه به ویژگی های سـلول های مقاوم و احتمـال حضور آن ها به خصـوص در عفونت های مزمن، از اسـتراتژی های جدید درمانی جهت درمان عفونت های مزمن اسـتفاده می شـود که شـامل تجویز مهارکننده های افلوکس پمپ به همراه آنتی بیوتیک ها می باشد (۲۲، ۲۱).



شکل (۲): تفاوت بین سلول سالم و مقاوم (۲۲)

نقش افلوکس پمپ ها در مقاومت به بیوسایدها

بیوسایدها گروهی از عوامل ضد میکروبی هستند که جهت ضدعفونی، گندزدایی و نگهداری مواد اسـتفاده می شوند. برخـی از آن هـا ماننـد کلروهگزین بـرای آلودگی‌زدایی پوسـت و تعدادی نیز برای جلوگیری از عفونت اسـتفاده می شـوند. ایـن ترکیبـات در کارخانجات مـواد غذایی، ترکیبات شـوینده خانگی، دهان شویه ها استفاده می شود ولی در درمان عفونت ها باکتریایی کاربرد ندارد. بیوسایدها دارای چندین سایت هدف هستند به همین علت مقاومت به بیوسـایدها معمولا به سختی حاصل می شود. از بهترین نمونه های مـورد مطالعه می توان بـه افلوکس پمپ های MexCD-OprJ, MexAB-OprM و MexEF-OprN از سودوموناس آئروژینوزا و AcrEF-TolC, AcrAB-TolC EmrE در E.coli اشاره نمود. استفاده بی رویه و نامناسب از ترکیبات بیوساید و پایدار بودن آن ها در اکوسیستم می تواند علاوه بر مقاومت به بیوسایدها باعث مقاومت به آنتی بیوتیک ها شود. علاوه بر بیوسـایدها، افلوکس پمپ ها با دفع فلزات سـنگین موجود در اطراف باکتری در رشد باکتری موثرند (۲۴، ۲۳).

فاژتراپی و ارتباط با افلوکس پمپ

فاژتراپـی به عنـوان یـک روش درمانی بـرای درمان عفونت های باکتریایی استفاده می شود. در روش فاژتراپی با استفاده از فاژهای لایتیک متابولیسم باکتری مختل شده و در نهایت باکتری لیز می شـود. فاژهای لایتیک برای ورود به داخل سـلول باکتری به یک یا چندین رسپتور در سطح سلول باکتری متصل می شوند. بعد از ورود به داخل سلول باکتـری فاژهای لایتیک تکثیر می یابند و در نهایت موجب لیز سـلول باکتـری می شـوند. یکـی از محدودیت های فاژتراپی مقاومـت باکتری ها به عفونت فاژهاسـت که از طریق تغییر یا کاهش بیان رسـپتورهای باکتریوفاژ صورت می گیرد. یکی از اهداف فاژتراپی نوین اختلال در مکانیسم افلوکـس پمپ ها اسـت. در فاژتراپی مـدرن از فاژهایی

1-Persister cells

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

استفاده می شود که رسپتور آن ها یکی از اجزای ساختار افلوکس پمپ و معمولا کانال خروج دارو در سطح باکتری است که فاژها پس از اتصال و ورود به باکتری موجب لیز آن می شوند. بروز مقاومت سلول باکتری به فاژ، در اثر کاهش بیان کانال های افلوکس پمپ، موجب اختلال در عملکرد افلوکس می شود که منجر به فعالیت آنتی بیوتیک ها و مرگ سلول باکتری می شود (۲۵).

مهارکننده های افلوکس پمپ (EPIs)

Efflux Pump Inhibitors(EPIs) به طور گسترده برای تعیین مقاومت دارویی به واسط افلوکس پمپ در ایزوله های کلینیکی استفاده می شود. عوامل نفوذ کننده غشا یا EPIها حساسیت به آنتی بیوتیک ها را افزایش می دهند. برخی از مهارکننده ها می توانند آنتی بیوتیک های غیرفعال را دوباره به فرم فعال تبدیل نماید. تعدادی از ویژگی مهارکننده های افلوکس پمپ عبارتند از:

۱- توانایی تقویت عملکرد آنتی بیوتیک هایی که باکتری با بیان افلوکس پمپ نسبت به آن ها مقاوم شده اند.

۲- برروی گونه های باکتری که فاقد سیستم افلوکس پمپ می باشند بی تاثیر است.

۳- MIC آنتی بیوتیک هایی که افلوکس نمی شوند را کاهش نمی دهد.

٤- موجب افزایش تجمع سوبستراهای افلوکس پمپ در داخل باکتری می شود.

۵- نسبت به غشای خارجی نفوذپذیر نمی باشد.

٦- تاثیری بر روی شیب پروتون در غشای داخلی ندارد.

روش های مهار افلوکس دارو عبارتند از:

۱- مورد هدف قرار دادن فعال کننده ها و مهارکننده ها

۲- تغییر در طراحی ساختار آنتی بیوتیک ها

۳- جلوگیری از اسمبلی ساختار کامل افلوکس پمپ

٤- تولید سوبستراهایی با افینیتی بالاتر برای اتصال به پروتئین های غشای داخلی

۵- اختلال در کانال خروج دارو

٦- حذف انرژی مورد نیاز برای آنتی پورت دارو/پروتون

ترکیبات بسیاری جهت مهار افلوکس پمپ ها استفاده شده است که عبارتند از:

PAβN

PAβN به عنوان یک EPI کلاسیک برای مهار پمپ های RND استفاده می شود که اغلب با غلظت $>20\mu g/ml$ در ترکیب با آنتی بیوتیک استفاده می شود. PAβN یک ترکیب دی پپتید آمید با ۲ بار مثبت در pH فیزیولوژی است که در میزان بالای غلظت Mg^{++} نفوذ پذیر می باشد. میزان PAβN MIC علیه افلوکس پمپRND در باکتری های E.coli و سودوموناس آئروژینوزا بین 32 تا $512\mu g/ml$ است. در بورخولدریا غلظت بالای $200\mu g/ml$ استفاده می شود. در حالی که این غلظت موجب القا پمپ های AmrAB-OprA و BpeAB-OprB در B.thailan densis می شود. PAβN به عنوان مهارکننده پمپ‌های MexAB-OprM,MexCD-OprJ,MexEF-OprN در سودوموناس آئروژینوزا است که جهت افلوکس فلوروکینولون ها و مهار پمپ AcrAB-TolC استفاده می شود در غلظت$20\mu g/ml$ از PAβN میزان MIC آنتی بیوتیک ها با بیان بالای MexAB-OprM در سودوموناس آئروژینوزا کاهش می یابد. البته کاهشMIC در تمام آنتی بیوتیک ها یکسان نیست. به طور مثال برای کلرامفنیکل و اسپارفلوکساسین و اریترومایسین و لووفلوکساسین این میزان کاهش به ترتیب ۱۲۸-۱۲۸-۳۲- و ۳۲ برابر است به عبارت دیگر میزان کاهش به میزان زیادی به نوع آنتی بیوتیک بستگی دارد. داروها و مهارکننده ها دارای محل اتصال مشترکی بر روی ترانسپورترها هستند. اخیرا طی بررسی ها مشخص شده که برخی از سوبستراهای AcrB از جمله کلرامفنیکل، بنزن، سیکلوهگزان، افلوکس ترکیبات نیتروسفین و سفامندول را تحریک می نمایند که این نوع مهار رقابتی می تواند مربوط به حضور جایگاه های اتصال و پیچیدگی های مسیر خروج می باشد. PAβN در غلظت بالا از غشای داخلی سودوموناس آئروژینوزا عبور می نماید. برای کاهش سمیت بالای PAβN تا حد قابل تحمل ساختار این ترکیب تغییر یافته است. حضور ۲ گروه کاتیونی منجر به تجمع این ترکیب در سلول باکتری می شود که به طور موقت در وزیکول های اسیدی تجمع می یابند. این ترکیب برای کلیه سمی است و محققان در تلاشند با بررسی بیشتر مهارکننده با سمیت کمتر را تولید نمایند.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

NMP

NMP، دومیـن ترکیـب مهارکننده که در آزمایشـگاه به طور گسترده اسـتفاده می شـود. دارای وزن مولکولی ۲۲۶ کیلودالتون اسـت و طی بررسـی های Bohnert و Kern کشـف شـد. فعالیت این ترکیب کمتر از PAβN است و نیـاز به50µg/ml برای کاهشMIC لووفلوکساسـین در بیـان بـالای AcrB در E.coli دارد. از نظر اختصاصیت به سوبسـترا NMP کاملا از PAβN متفاوت اسـت. به طور مثال در حضور غلظت مناسـب PAβN موجب حساسیت باکتـری E.coli بـه اتیدیـوم برمایـد می شـود در حالی PAβN تاثیـری بر روی میزان مقاومـت باکتری به اتیدیوم برماید نـدارد همچنین برخـلاف NMP, PAβN تاثیری بر میزان حساسـیت نسـبت به ریفامپین یا کلاریترومایسین ندارد به جهت عملکرد NMP بر ضد سـروتونین در درمان کلینیکی استفاده نمی شود.

D13-9001

آزمایشـگاهDaiichi-Micricide بعد از تولید PAβN اقـدام به تولیـد مهارکننده های خـاص MexB نمود که از جدیدتریـن تولیدات این آزمایشـگاه ترکیب D13-9001 اسـت. این ترکیب دارای وزن مولکولی ٦٦٩ دالتون است و ترکیب آن بر پایه پیرودپیریمیدین است. این ترکیب بر روی مهار افلوکس پمپ در سودوموناس آئروژینوزا مؤثر است.

MBX2391

این ترکیب از مشـتقات پیرانوپیریدین اسـت که توسـط Microbiotix به عنـوان مهارکننـده پمـپAcrB در انتروباکتریاسیه ساخته شد. این ترکیب نسبتا کوچک است و وزن مولکولـی ٤١٠ دالتون دارد. MBX2391 یک ترکیب طبیعی اسـت که در غلظـت پایین فعال اسـت. این ترکیب بـه دلیل نفـوذ ضعیف به غشـای داخلی بـر روی افلوکس پمپ های سودوموناس آئروژینوزا مؤثر نیست همچنین این ترکیب فاقد گروه های با بار الکتریکی اسـت و قادر به عبور از کانال های خاص بر روی غشا نیست. تمامی این ترکیبات با اختلال در اتصال به ترانسپورتر از اتصال سوبستراها به آن جلوگیری می نمایند.

بـا پیشـرفت تکنولـوژی در زمینه بیوشـیمی و سـلولی مولکولی، بررسـی محققان بر روی انتقـال دهنده های دارو نیز تسـهیل شده اسـت. آزمایش های حساسـیت میکروبی Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) و تکنیک RT-Qpcr است برای مطالعه مقاومت به واسطه افلوکـس پمـپ کاربـرد دارد. در روشASTبا اسـتفاده از سـلول های intact یا سالم در حضور و عدم حضور EPI مقاومـت به آنتی بیوتیک به واسـط افلوکس پمپ بررسـی می شود (۲۸- ۲٦، ۸).

نتیجه گیری

در حال حاضر بهترین راه درمان عفونت های باکتریایی استفاده از آنتی بیوتیک است ولی به دلیل مصرف نامناسب، مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیک ها رو به افزایش است بزرگ ترین چالش محققان در این زمینه از بین بردن عوامل مقاومت به آنتی بیوتیک ها است. یکی از پایدارترین راه های مقاومت به آنتی بیوتیک ها بیان افلوکس پمپ ها در میکروارگانیسـم ها بخصوص در باکتری ها است. در این راسـتا محققان ترکیبات مهارکننده افلوکس پمپ ها را تولید کردند و از ترکیب آن ها با آنتی بیوتیک ها در درمان عفونت ها باکتریایی اسـتفاده می کنند؛ اما به دلیل سمیت اکثر این ترکیبات در انسان استفاده گسترده از آن ها ممنوع می باشد از این رو چالش جدید، یافتن ترکیبات مهارکننده با سمیت کمتر یا بدون سمیت است.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

References

1- Piddock LJ. Multidrug-resistance efflux pumps? not just for resistance. Nature Reviews Microbiology. 2006;4(8):629-36.

2- Zgurskaya HI, Weeks JW, Ntreh AT, Nickels LM, Wolloscheck D. Mechanism of coupling drug transport reactions located in two different membranes. Frontiers in microbiology. 2015;6:100.

3- Köhler T, Pechère J-C, Plesiat P. Bacterial antibiotic efflux systems of medical importance. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS. 1999;56(9-10):771-8.

4- Nikaido H, Takatsuka Y. Mechanisms of RND multidrug efflux pumps. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. 2009;1794(5):769-81.

5- Anes J, McCusker MP, Fanning S, Martins M. The ins and outs of RND efflux pumps in Escherichia coli. Frontiers in microbiology. 2015;6.

6- Kumar S, Mukherjee MM, Varela MF. Modulation of bacterial multidrug resistance efflux pumps of the major facilitator superfamily. International journal of bacteriology. 2013;2013.

7- Schindler BD, Kaatz GW. Multidrug efflux pumps of Gram-positive bacteria. Drug Resistance Updates. 2016;27:1-13.

8- Li X-Z, Plésiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. Clinical microbiology reviews. 2015;28(2):337-418.

9- Du D, van Veen HW, Murakami S, Pos KM, Luisi BF. Structure, mechanism and cooperation of bacterial multidrug transporters. Current opinion in structural biology. 2015;33:76-91.

10- Sun J, Deng Z, Yan A. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. Biochemical and biophysical research communications. 2014;453(2):254-67.

11- Higgins CF. Multiple molecular mechanisms for multidrug resistance transporters. Nature. 2007;446(7137):749-57.

12- Pule C. Defining the role of efflux pump inhibitors on anti-TB drugs in Rifampicin resistant clinical Mycobacterium Tuberculosis isolates: Stellenbosch: Stellenbosch University; 2014.

13- Reygaert WC. Insights on the Antimicrobial Resistance Mechanisms of Bacteria. Adv Clin Med Microbiol. 2016;2(005).

14- Hernando-Amado S, Blanco P, Alcalde-Rico M, Corona F, Reales-Calderón JA, Sánchez MB, et al. Multidrug efflux pumps as main players in intrinsic and acquired resistance to antimicrobials. Drug Resistance Updates. 2016;28:13-27.

15- Bay DC, Rommens KL, Turner RJ. Small multidrug resistance proteins: a multidrug transporter family that continues to grow. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes. 2008;1778(9):1814-38.

16- Mousa JJ, Bruner SD. Structural and mechanistic diversity of multidrug transporters. Natural Product Reports. 2016.

17- Kuroda T, Tsuchiya T. Multidrug efflux transporters in the MATE family. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics. 2009;1794(5):763-8.

18- Mehmood S, Domene C, Forest E, Jault J-M. Dynamics of a bacterial multidrug ABC transporter in the inward-and outward-facing conformations. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2012;109(27):10832-6.

19- Andersen JL, He G-X, Kakarla P, KC R, Kumar S, Lakra WS, et al. Multidrug efflux pumps from Enterobacteriaceae, Vibrio cholerae and Staphylococcus aureus bacterial food pathogens. International journal of environmental research and public health. 2015;12(2):1487-547.

20- Soto SM. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. Virulence. 2013;4(3):223-9.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]

21- Wu Y, Vulić M, Keren I, Lewis K. Role of oxidative stress in persister tolerance. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2012;56(9):4922-6.

22- Gerdes K, Semsey S. Microbiology: Pumping persisters. Nature. 2016.

23- Blanco P, Hernando-Amado S, Reales-Calderon JA, Corona F, Lira F, Alcalde-Rico M, et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. Microorganisms. 2016;4(1):14.

24- Germendia L, Fajardo A, Alvarez-Ortega C. Functional role of bacterial multidrug efux pumps in microbial natural ecosystems. FEMS Microbiol Rev. 2009;33:430449.

25- Chan BK, Sistrom M, Wertz JE, Kortright KE, Narayan D, Turner PE. Phage selection restores antibiotic sensitivity in MDR Pseudomonas aeruginosa. Scientific reports. 2016;6.

26- Wacher-Rodarte MdC, Trejo-Muñúzuri TP, Montiel-Aguirre JF, Drago-Serrano ME, Gutiérrez-Lucas RL, Castañeda-Sánchez JI, et al. Antibiotic resistance and multidrug-resistant efflux pumps expression in lactic acid bacteria isolated from pozol, a nonalcoholic Mayan maize fermented beverage. Food science & nutrition. 2015.

27- Venter H, Mowla R, Ohene-Agyei T, Ma S. RND-type drug efflux pumps from Gram-negative bacteria: molecular mechanism and inhibition. Frontiers in microbiology. 2015;6:377.

28- Blair JM, Piddock LJ. Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. Current opinion in microbiology. 2009;12(5):512-9.

[Downloaded from labdiagnosis.ir on 2026-10-17]