

Inhibitory pomp efflux

Inhibitory pomp efflux ograniczają zdolność bakterii do aktywnego usuwania antybiotyków i biocydów z komórki, przez co przywracają lub zwiększają wrażliwość drobnoustrojów na leki. Dzięki temu stanowią jeden z kluczowych, badanych obecnie kierunków walki z wielolekową opornością bakterii.

Czym są pompy efflux

Pompy efflux to błonowe transportery, które zużywając energię (ATP lub gradient protonowy), aktywnie wypompowują z komórki liczne ksenobiotyki, w tym antybiotyki i środki dezynfekcyjne. Nadekspresja genów kodujących te białka istotnie obniża wewnątrzkomórkowe stężenie leku, często poniżej poziomu wymaganego do jego skutecznego działania.

Znaczenie kliniczne pomp efflux

Zwiększona aktywność pomp efflux jest jednym z głównych mechanizmów wielolekowej oporności (MDR) u wielu patogenów Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Pompy te mogą mieć szeroką swoistość substratową, przez co pojedynczy system efflux potrafi obniżyć skuteczność wielu niepowiązanych strukturalnie antybiotyków oraz związków dezynfekcyjnych.

Rola inhibitorów pomp efflux

Inhibitory pomp efflux blokują transportery, co podnosi stężenie antybiotyku wewnątrz komórki bakteryjnej i może przywrócić skuteczność leków już „utraconych” klinicznie. Stosowane z antybiotykami w skojarzeniu działają jak „wzmocniacze” terapii, obniżając minimalne stężenia hamujące (MIC) oraz zmniejszając ryzyko selekcji wysoko opornych szczepów.

Znaczenie w strategii antybiotykooporności

Badania nad inhibitorami pomp efflux są ważnym kierunkiem poszukiwania nowych strategii terapeutycznych wobec MDR, XDR i PDR drobnoustrojów. Łączenie klasycznych antybiotyków z inhibitorami efflux wpisuje się w koncepcję terapii skojarzonej, która ma na celu spowolnienie narastania oporności oraz poprawę wyników leczenia ciężkich zakażeń szpitalnych.

Farmakologia molekularna

Laboratoria

Phenylalanine-arginine beta-naphtylamide (PAβN)

Phenylalanine-arginine β-naftylamid (PAβN, PAβetaN) to klasyczny, szerokospektralny inhibitor pomp efflux stosowany głównie w badaniach nad opornością Gram-ujemnych bakterii.

Charakter i mechanizm działania

PAβN jest peptydomimetykiem (dipeptyd z rdzeniem β-naftylamidu), który wiąże się z pompami efflux typu RND, konkurując o miejsce wiązania z antybiotykami i ograniczając ich usuwanie z komórki. Obniża to aktywność systemów efflux, takich jak MexAB-OprM u *Pseudomonas aeruginosa* czy AdeABC u *Acinetobacter baumannii*, co zwiększa wewnątrzkomórkowe stężenie leków.

Effekt na wrażliwość bakterii

W obecności PAβN obserwuje się spadek wartości MIC wielu antybiotyków (m.in. fluorochinolonów, niektórych β-laktamów i aminoglikozydów) wobec szczepów wielolekoopornych. Związek ten działa więc jako „wzmacniacz” antybiotyków, zwiększając ich skuteczność, mimo że sam w typowych stężeniach nie jest klasycznym środkiem przeciwbakteryjnym.

Badania wykazały, że PAβN zwiększa przepuszczalność błon zewnętrznych Gram-ujemnych, co sprzyja napływowi innych związków, ale jednocześnie oznacza, że jego działanie nie jest czysto „selektywnie” anty-effluxowe. Toksyczność, brak selektywności i działanie zależne od stężenia ograniczają jego zastosowanie kliniczne, dlatego PAβN pozostaje głównie narzędziem eksperymentalnym i punktem odniesienia przy projektowaniu nowszych inhibitorów pomp efflux.

Farmakologia molekularna

Laboratoria

Za pomocą narzędzi bioinformatycznych wyjaśnij mechanizm molekularny działania PAβN.

1. Zidentyfikuj receptor PAβN u wybranego szczepu bakteryjnego.
 - a. W bazie danych UniProt odnajdź informacje na temat inhibitorów pompy efflux:
 - wymień szczepy bakteryjne.
2. Scharakteryzuj wybrany receptor.
 - a. Zidentyfikuj i scharakteryzuj dwa potencjalne receptory:
 - kod UniProt,
 - rozmiar, masa, sekwencja, struktura,
 - zidentyfikuj miejsce aktywne:
<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum/>
<https://mole.upol.cz/>
<https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/fpocket/>
3. Przygotuj dane do dokowania.
 - a. Receptor:
 - kod PDB (przygotuj model),
 - wskaż i zilustruj miejsce aktywne,
 - b. Ligand:
 - PAβN (kod SMILES lub plik PDB)
 - wybrany antybiotyk (kod SMILES lub plik PDB)
4. Przeprowadź dokowanie.
 - a. Receptor-PAβN
 - b. Receptor-wybrany antybiotyk
<https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/SeamDock/>
<https://dockthor.lncc.br/v2/>
5. Wykonaj analizę uzyskanych danych.
 - a. Czy ligandy wiążą się w tym samym miejscu?
 - b. Czy oddziaływania w miejscu aktywnym są porównywalne?
 - c. ...