

The association between sterilizing activity and drug distribution into tuberculosis lesions

Brendan Prideaux¹, Laura E Via², Matthew D Zimmerman¹, Seokyoung Eum³, Jansy Sarathy¹, Paul O'Brien¹, Chao Chen¹, Firat Kaya¹, Danielle M Weiner², Pei-Yu Chen¹, Taeksun Song³, Myungsun Lee³, Tae Sun Shim⁴, Jeong Su Cho⁵, Wooshik Kim⁶, Sang Nae Cho⁷, Kenneth N Olivier⁸, Clifton E Barry III^{2,9} & Véronique Dartois¹

Nature medicine 21, 1223-1227 (2015)

Einleitung

- Aktuelle Standardtherapie für drug-susceptible Tb beträgt 6 Monate: Kombinationstherapie mit : INH, RIF, PZA
- Verkürzte Behandlungszeit durch : RIF & PZA („sterilizing“ drugs: beseitigen schwer zu behandelnde Pathogene)

Aktuelle Hauptziele der Tb-Medikamentenentwicklung:

- Neue Antibiotika, welche die Behandlungsdauer verkürzen und die Heilungsrate verbessern
- Drosselung des alarmierenden Aufkommens von Resistenzen

Unterschiedliche Verteilung der Antibiotika im Gewebe

- zeitl. und räumliche Monotherapie in gewissen, schlecht zugänglichen Nischen
- **damit allmähliche Entwicklung von multi-resistenter TB**

Methoden

- Kohorte von 15 Tb-infizierten Pat., welche bei Medikamenten-resistenter Tb eine Lungenresektion erhalten sollen (alle vorbehandelt)
- Single dose Cocktail aus INH 300mg, RIF 600mg, PZA 1500mg, MXF 400mg zu unterschiedlichen Zeiten vor OP (2-24h prä-op)
- Bei Resektion, durchschnittlich 12 Biopsien je Pat. entnommen: *für Histologie, Bestimmung der Medikamentenkonzentration, MALDI*

Ergebnisse

- **Figure 1: Quantitative Medikamenten-Verteilung in pulmonalen Läsionen:**
INH Konzentrationen waren über der MIC in den meisten Läsionen (65%), erreichten aber nie die MAC, weil INH in anaeroben, nicht-replizierenden Bact. nicht aktiv ist
RIF-Konzentrationen waren in beinahe allen Läsionen über der MIC und in oder über der MAC in 64% der Läsionen
PZA inhibiert Wachstum nur bei saurem pH → innerhalb saurem MIC-Range
MXF –Konzentrationen waren über der MIC in allen Läsionen und auf o. über MAC in 38% der Läsionen.
- **Figure 2: Unterschiede in der Penetration der einzelnen Medikamente in verkäsende Läsionen und Zellschichten:**
PZA und acetyl-INH diffundieren schnell u. bevorzugt in die nekrot. Zentren, wo sich die persistierenden Bakterien in den sauren Phagosomen befinden.
→ PZA's sterilizing activity könnte vom schnellen und effektiven Verteilen in die verkäsenden Läsionen und die umgebende Zellschicht der Granulome resultieren.
→ Dort werden extrazelluläre und intraphagosomale Bakterien getötet.
→ Insgesamt zeigten INH, PZA eine homogene Verteilung in den Geweben, **mit gleicher Konzentration in der Kaverne und verkäsenden Läsion**
→ **MXF:** Kumulation in zellreichen Gebieten, keine gute Diffusion in verkäsende Bereiche. Mit MALDI: Zellanteil in verkäsenden Läsionen variabel, bessere Anreicherung bei mehr vorhandenen Zellen (**Fig. 2c**)
→ **Fehlendes Ansprechen auf MXF ist auf Unfähigkeit zum Erreichen adäquater Konzentrationen in kritischen Nischen zurückzuführen.**

- **Figure S5a: Medikamenten-Akkumulation in Geweben im steady-state**
 Pat. welche zuvor schon INH, PZA o. MFX tgl. über Monate vor OP erhalten hatten.
 →Keines der Medikamente akkumulierte in höheren Konzentrationen in den Läsionen, auch nicht nach wiederholter Gabe
 → Dies spricht für eine schnellere Clearance aus dem Gewebe, als im Plasma.

- **Figure 3: Penetration von RIF in Tb-Läsionen**
 RIF akkumuliert in verkäs. Läsionen nach mehreren Dosen und verblieb nachweisbar in nekrot. Strukturen auch bei dann fehlendem Nachweis bei nicht-involviertem Lungengewebe u. Plasma Fig. 3b/c
 RIF akkumuliert in nekrot. Läs. , besondere Potenz gg. nicht-replizierende Bact.
 → **erklärt exzellente sterilizing activity**

Clofazimine (CFZ)

- Eingesetzt bei Lepra, aktuell in klin. Studien als Therapie gg. Tb
- Im Tiermodell erfolgreich bei zellulären Granulomen, nicht bei nekrotischen Läsionen
 → Starke Anreicherung in zellulären Schichten um die Kavernenwand, *nicht* in die nekrot. Läsionen hinein

- **Figure 4: Welche Mechanismen sind für die Verteilung der Medikamente in die avaskulären, verkäsenden Läsionen verantwortlich?**
 Arzneimittel-Moleküle im Interstitium zw. zellulärem Randwall und nekrotischem Kern gelangen über
 - aktiven Transport in Makrophagen u. andere Immunzellen
 - Bindung an extrazelluläre Makromoleküle o. Proteine
 - Freie Diffusion
 in die verkäsende Läsion

Fazit

- Unterschiedliche Penetration in pulmonalen Läsionen beeinflusst Behandlungsergebnis, dies hat weitreichende Bedeutung für Tb-Therapie
 → Hilft bei der Auswahl von neuen Medikamenten-Regimen
 - Weder gute Penetration noch Aktivität allein ist ausreichend
 - Die wichtigsten „sterilizing drugs“ sind RIF&PZA:
PZA: gleich gute Verteilung in verkäsendem und zellulärem Kompartiment: extrazell., anaerobe Bakt. u. intrazell. Bakterien
RIF: anhaltende Akkumulation in nekrot. Läsionen
MFX: Konzentration zum Abtöten nicht-replizierender Bakt. zu gering
- zeitliche und räumliche Phasen von Monotherapie begünstigen Multiplikation von single-drug resistenten Mutanten
 → Folge: **multiresistente Tb**