

ЕФЛЮКСНІ ПОМПИ ЯК ФАРМАКОЛОГІЧНА МІШЕНЬ ДЛЯ ПРОТИДІЇ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ

Хайтович М.В. <https://orcid.org/0000-0001-6412-3243>

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

nik3061@gmail.com

Актуальність. Антибіотикорезистентність – стійкість бактерій до антимікробних препаратів, до яких раніше вони були чутливими. Особлива небезпека полягає у поширенні мультирезистентної інфекції, пов'язаної із наданням медичної допомоги, з групи «ESKAPE». Серед механізмів антибіотикорезистентності даних бактерій особливу увагу викликає активація ефлюксних помп.

Ціль: розглянути сучасні дані щодо можливості використання ефлюксних помп, як мішеней для фармакологічного впливу для подолання антибіотикорезистентності.

Матеріали та методи. Аналіз даних, представлених в PubMed, за ключовими словами «антимікробна резистентність», «ефлюксні помпи», «інгібітори ефлюксних помп».

Результати. Мультилікарські ефлюксні помпи є трансмембранними білками-транспортерами, які розташовані в мембрані бактеріальної клітини та периплазмі, вони природним чином експресуються, видаляючи більшість клінічно значимого антибіотика із внутрішнього середовища клітини у зовнішнє середовище, зменшуючи внутрішньоклітинну його концентрацію. Перспективним є комбінування окремих антибіотиків із інгібіторами ефлюксних помп, це дозволяє зменшити терапевтичну дозу антибіотиків, попередити формування бактеріальних біоплівки. Представлено результати вивчення ефективності в якості інгібіторів ефлюксних помп деяких лікарських засобів: сертраліну, триметоприму, тіоридазину, диклофенаку натрію, ібупрофену, нітрогліцерину, метформіну, верапамілу. Перспективним є використання сполук, отриманих з рослин (так берберин, артезунат і куркумін пригнічують активність ефлюксної помпи грамнегативних бактерій *E. coli* і *P. aeruginosa*), овочів (зокрема, *Momordica balsamina*), насіння розторопші, перця, кмину, ефірних олій тощо.

Висновок. Таким чином, інгібування ефлюксних помп може бути потенційним способом покращення активності антибіотиків. Перевагою інгібіторів ефлюксних помп є складність розвитку у бактерій резистентності проти них. Доцільно проводити дослідження *in vivo* для підтвердження їх активності та клінічної ефективності.

Ключові слова: антимікробна резистентність, ефлюксні помпи, інгібітори ефлюксних помп.

Актуальність. Резистентність до антимікробних препаратів (АМР) стала серйозною проблемою в охороні здоров'я, так лише у 2019 році АМР спричинила приблизно 4,95 мільйонів смертей [1].

АМР виникає, коли такі мікроорганізми, як бактерії, віруси, паразити або грибки, стають стійкими до антимікробних препаратів, до яких вони раніше були чутливі. АМР може бути внутрішньою та набутою. Внутрішня АМР –

це природне явище, обумовлене генетично або хромосомно, яке не залежить від попереднього впливу антибіотиків. Набута резистентність є еволюційною реакцією мікроорганізмів через мутацію або, у випадку бактерій, шляхом отримання ДНК від різних мікроорганізмів через горизонтальний перенос генів або мобільних генетичних елементів. Збільшення вживання антимікробних препаратів або дія інших факторів (важких металів та інших забруднюючих

речовин) створює сприятливі умови для розвитку набутої резистентності мікроорганізмів. Це може відбуватись в шлунково-кишковому тракці людей і тварин або в навколишньому середовищі (наприклад, воді та ґрунті) [2]. Група всіх внутрішніх і набутих генів АМР, які разом переносяться мікроорганізмами, що населяють певну екологічну нішу, формує резистом цього середовища [3].

Мультирезистентні бактерії мають набути нечутливість принаймні до 1 лікарського засобу з 3 або більше класів антимікробних препаратів. Дані бактерії становлять особливо складну проблему через брак нових активних антибіотиків [4]. Зокрема це обумовлено тим, що більшість антибіотиків, які зараз використовуються, були розроблені понад півстоліття тому або є похідними «старих» препаратів – так звані «покоління» цефалоспоринов, фторхінолонів, макролідів тощо [5].

Як відомо поширеними патогенами, відповідальними за інфекції, пов'язані із наданням медичної допомоги, та розвиток резистентності до більшості протимікробних препаратів є група патогенів «ESKAPE» (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter spp.*) [6]. Основними механізмами їх резистентності у протистоянні впливу антимікробних засобів є непроникність зовнішньої мембрани; продукція ферментів, що знешкоджують антимікробні засоби; модифікація мішеней; ефлюксні помпи [7]. Останнього часу резистентність, опосередкована ефлюксною помпою, вважається провідною стратегією, розробленою бактеріями для протидії впливу антибіотиків [8].

Ціль: розглянути сучасні дані щодо можливості використання ефлюксних помп, як мішеней для фармакологічного впливу, для подолання антибіотикорезистентності.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Аналіз даних, представлених в PubMed, за ключовими словами «антимікробна резистентність», «ефлюксні помпи», «інгібітори ефлюксних помп».

Механізм дії ефлюксної помпи. Мультикарські ефлюксні помпи є трансмембранними білками-транспортерами, які розташовані в мембрані бактеріальної клітини та периплазмі [1], вони природним чином експресуються, видаляючи більшість клінічно значимого антибіотика із внутрішнього середовища клітини у зовнішнє середовище [4], зменшуючи внутрішньоклітинну його концентрацію [9].

Описано п'ять різних функціональних родин ефлюксних помп: родина незначної множинної резистентності (small multidrug resistance, SMR) (зараз – частина суперродини транспортера лікарських засобів/метаболітів, drug/metabolite transporter, DMT); родина АТФ-зв'язаного касетного транспортера (ATP-binding cassette, ABC); родина транспортних протеїнів resistance/nodulation/division, RND; родина білків, які здійснюють викидання багатьох лікарських засобів та токсичних сполук (multidrug and toxic compound extrusion, MATE). Доведено, що резистентність *Staphylococcus aureus* обумовлена дією таких помп, як QacA-D, Smr, QacG та QacH; *Pseudomonas aeruginosa* – MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN та MexJK; *Escherichia coli* – AcrAB-TolC, AcrEF-TolC та EmrE [10]. Так, наприклад, труднощі в лікуванні *Pseudomonas aeruginosa* виникають через наявність активних ефлюксних помп сімейства RND. Ці помпи можуть також видаляти миючі засоби та інші метаболічні інгібітори [11]. Із резистентністю *Acinetobacter baumannii* до карбапенемів пов'язують активність помп SHV-12, PER-1, TEM-1, OXA-23 і AdeABC [12].

Субстрати різних ефлюксних помп представлено в таблиці 1. Всі ефлюксні помпи можуть викидати тетрацикліни, макроліди, більшість – фторхінолони, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди [13].

Добре досліджено ефлюксну помпу грамнегативних бактерій, яка являє собою трикомпонентний комплекс MacAB-TolC, що складається з зовнішнього мембранного білка TolC, внутрішнього мембранного білка MacB, периплазматичного білка MacA (рис. 1), який активно видаляє субстрати, включаючи макроліди та поліпептидні фактори вірулентності. Білок внутрішньої мембрани MacB працює як

Бактеріальні ефлюксні помпи та їх основні субстрати [13]

Помпи	Субстрати	Антибіотики
SMR	Гідрофільні, мультикатійонні	Тетрацикліни, еритроміцин, сульфадіазин
RND	Амфipатичні заряджені	Тетрацикліни, фторхінолони, еритроміцин, рифампіцин, фузидинова кислота, бета-лактами, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MFS	Амфipатичні, монокатійонні, дикатійонні	Тетрацикліни, фторхінолони, еритроміцин, рифампіцин, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MDR	Амфipатичні нейтральні	Тетрацикліни, фторхінолони, макроліди, рифампіцин, лінкозаміди, хлорамфенікол, аміноглікозиди
MRP	Органічні аніонічні	Тетрацикліни, фторхінолони, макроліди

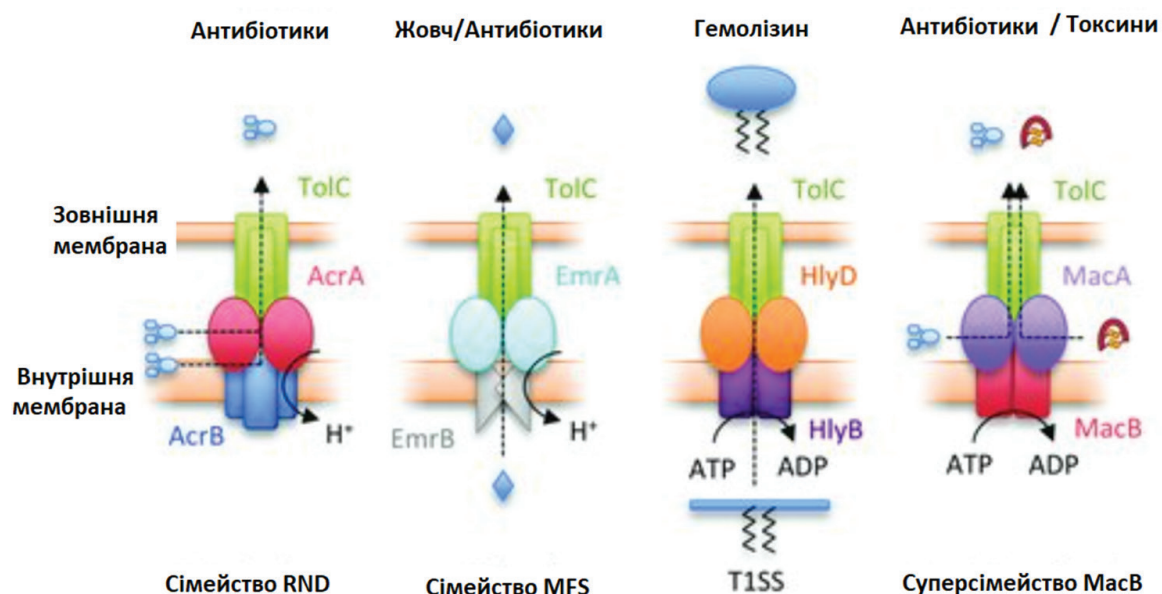


Рис. 1. Класи трикомпонентних ефлюксічних помп. RND - Resistance-Nodulation-Cell Division AcrAB-TolC, MFS - Major Facilitator Superfamily EmrAB-TolC; T1SS - Type I secretion system HlyBD-TolC; MacAB-TolC - MacB superfamily pump [14].

гомодимерний комплекс, який містить N-кінцевий нуклеотидзв'язуючий домен, що зв'язує АТФ і С-кінцевий цитоплазматичний хвіст. Мембранний злитий білок MacA специфічно зв'язує ядро ліпополісахариду та активується АТФ-азою [14].

На рис. 2 схематично представлено робота ефлюксічної помпи AcrAB-TolC [15].

AcrB сприяє рушійній силі протонів, як джерелу енергії для викидання антибіотиків із периплазми або внутрішньої мембрани назовні клітини. Препарати транспортуються послідовно від мономеру Вхідження до мономеру Зв'язування, а потім до мономеру Витіснення (виведення). Виявлено кишеньку для розпізнавання лікарських засобів біля входу, яка на-

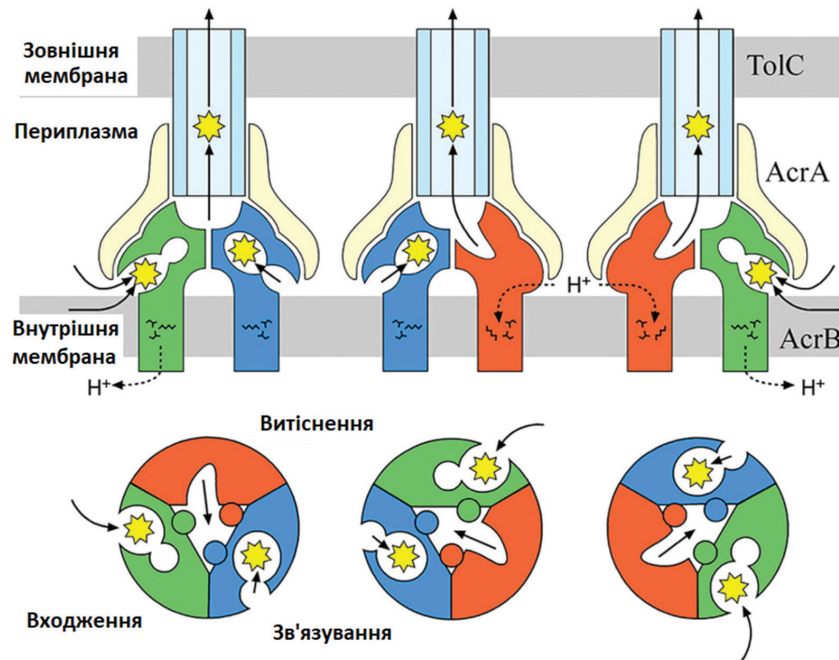


Рис. 2. Транспортування ліків через систему відтоку кількох лікарських засобів AcrAB-TolC [15].

зивається проксимальною зв'язуючою кишенню (PBP, розширена в мономері Входування), і дистальну зв'язувальну кишенню (DBP) біля виходу (розширена в мономері Зв'язування). Так, наприклад, еритроміцин (молекулярна маса: 734 г моль⁻¹) і рифампіцин (молекулярна маса: 823 г моль⁻¹), два препарати з відносно великою молекулярною масою, тимчасово зв'язуються з PBP, потім вони надсилаються до DBP через перистальтичний помповий механізм [16].

Вважається, що ефлюксні помпи значною мірою сприяють також утворенню біоплівки, відчуттю кворуму бактерій, їх виживанню та патогенності [9].

Активация ефлюксісних помп. Центральну роль в АМР відіграє надмірна експресія ефлюксісних помп кількох лікарських засобів [17]. Так, було доведено, що карбапенем-резистентна *Acinetobacter baumannii*, яка виділена у відділенні дитячої реанімації та інтенсивної терапії, характеризувалась вищою експресією генів ефлюксісних помп AdeABC і AdeFGH [18].

Надмірна експресія ефлюксісної помпи MexAB-OprM, що є наслідком амінокислотних мутацій у регуляторах MexR, NalC або NalD, була основним фактором, що сприяла перехресній антибіотикорезистентності [19].

В активації ефлюксісних помп велике значення має попереднє використання антибактеріальних засобів. Так, субінгібуюча концентрація хлоргексидину викликала експресію ефлюксісної помпи MexXY *P. aeruginosa* та перехресну антибіотикорезистентність [20]. Як відомо, фторхінолони є найбільш ефективними антибіотиками проти *P. aeruginosa* [21], але вони підвищують генну експресію ефлюксісних помп, що обумовлює резистентність бактерій проти антибіотиків [22]. Так, доведено, що після вживання фторхінолонів середня експресія генів MexB, MexD, MexF і MexY *P. aeruginosa* зростає відповідно в 1,6, 4,65, 3,4 і 3,68 рази [22].

Можливо це пояснює, чому після зменшення вживання фторхінолонів в клініці через декілька років знижується поширення MRSA та фторхінолон-резистентної *P. aeruginosa* [23].

Високий рівень резистентності до ципрофлоксацину у пацієнтів із інфекцією сечових шляхів виявлений у 97,5% ізолятів *E. faecalis*. Експресія генів ефлюксісних помп efrA, efrB та efrC була продемонстрована у 50%, 40% та 30% резистентних ізолятів відповідно [24].

У ізолятів *K. pneumoniae* був виявлений зв'язок між стійкістю до ципрофлоксацину та геном oqxB, а також між резистентністю

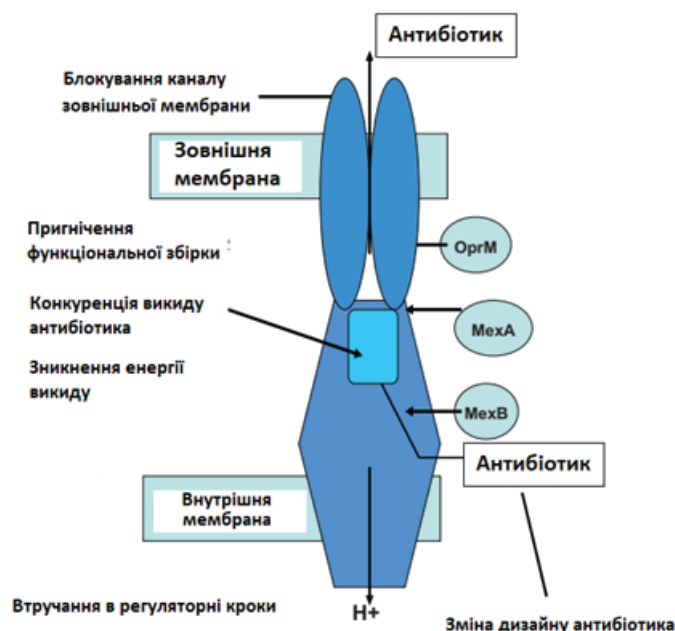


Рис. 3. Схема загальних механізмів пригнічення ефлюксної помпи та цілі, на які можна впливати, використовуючи як приклад ефлюксну помпу MexAB-OprM [11].

до цефтріаксону й хлорамфеніколу та геном *oqxA*. Експресія гена *oqxA* була вищою у ізолятах, резистентних до ципрофлоксацину [25].

Інгібіція ефлюкських помп як метод подолання антимікробної резистентності.

Доведено, що ефлюкські помпи є привабливими мішенями для відновлення сприйнятливості до антибіотиків шляхом погіршення їхньої ефлюксної активності [4]. Так, встановлено, що пригнічення ефлюксної помпи MexAB-OprM ліквідувало перехресну антибіотикорезистентність, що була наслідком амінокислотних мутацій у регуляторах MexR, NalC або NalD [18].

Інгібітори ефлюксної помпи – це молекули (синтетичні або рослинні), які можуть пригнічувати ефлюксну помпу; їх вважають потенційними терапевтичними засобами для омолодження активності антибіотиків, які вже втратили свою дію проти бактерій (наприклад, поліміксинів). Застосування інгібітора ефлюксної помпи скасувало резистентність до хлоргексидину у більшості ізолятів *P. aeruginosa* [20]. Зрозуміло, що ефлюксні насоси можуть бути мішенями також і для нових антимікробних агентів [11].

Описано вісім сімейств інгібіторів ефлюкських помп, активних проти *Escherichia coli* або

Pseudomonas aeruginosa [1]. Розглянемо їх механізми дії. Так, модифікація структури лікарського засобу призводить до дефекту його розпізнавання ефлюксною помпою; пригнічення експресії гена ефлюксної помпи знижує її активність і підвищує внутрішньоклітинну концентрацію антибіотика; останнє також досягається за допомогою засобів, що підвищують мембранну проникність для антибіотика. Деякі інгібітори можуть порушити функціональну збірку ефлюкських помп, тим самим змінюючи механізм відтоку. Оскільки всі ефлюкські помпи енергозалежні, порушення утворення АТФ суттєво вплине на рівень енергозабезпечення та, як наслідок, зменшить виведення антибіотиків з бактеріальної клітини. Також використовуються як конкурентні, так і неконкурентні блокатори помп, блокатори каналів виведення лікарських засобів. Крім того, деякі інгібітори можуть націлюватися на білки зовнішньої та внутрішньої мембран помп RND [14]. На рис.3 представлено деякі із зазначених механізмів впливу ефлюкських помп.

Активність ефлюксної помпи також залежить від метаболізму бактерій, стійких до багатьох лікарських засобів. Уповільнений експорт антибіотиків через ефлюксну помпу може вплинути на метаболізм бактерій. Тому вплив

на гени, які регулюють метаболізм бактерій і генерують активність ефлюксної помпи, може змінити стійкість до антибіотиків [26].

Ці підходи дають можливість створювати інноваційні агенти, які можуть вибірково та ефективно блокувати ефлюксний насос [14].

Інгібування ефлюксних pomp може бути корисною стратегією для покращення ефективності антибіотиків, які впливають на внутрішньоклітинні бактерії, якщо можна підвищити вміст антибіотика в компартменті, де перебувають бактерії [27].

Інгібітори ефлюксних pomp зазвичай активні проти одного або кількох ефлюксних pomp від різних *Enterobacteriaceae* (PaβN, NMP, NCS, D13-9001, MBX, BDM), тоді як деякі також мають розширений спектр дії щодо *P. aeruginosa* та/або *A. baumannii* (PaβN, NMP, D13-9001 та TXA) [1].

Перспективним є комбінування окремих антибіотиків із препаратами інгібіторами ефлюксної помпи [28] для посилення первинного ефекту; це забезпечує гнучкість комбінованої терапії, її синергізм. Встановлено, що при одночасному застосуванні інгібіторів ефлюксної помпи з антибіотиками терапевтичну дозу антибіотиків можна зменшити [29].

Так, кілька сполук підвищили чутливість бактерій до налідиксової кислоти, хлорамфеніколу та спарфлоксацину та були додатково фармакомодульовані для отримання вищої активності проти бактерій, що продукують AcrAB [4].

Доведено роль інгібіторів ефлюксних pomp у попередженні формування бактеріальних біоплівки [30].

Результати дослідження ефективності та безпеки застосування інгібіторів ефлюксних pomp.

Встановлено, що танінова кислота, діючи як інгібітор мультилікарських ефлюксних pomp Tet і Msr та інших *S. aureus*, суттєво значно знижує МІК таких препаратів, як тетрациклін і еритроміцин [31].

Комбінація інгібіторів ефлюксних pomp триметоприму та сертраліну з левофлоксацином у випадку надмірної експресії помпи MexAB-OprM у *P. aeruginosa* продемонструва-

ла більшу ефективність порівняно з монотерапією левофлоксацином [31].

Пептидоміметична сполука фенілаланін аргініл b-нафтиламід (PAbN) є інгібітором ефлюксних pomp у грамнегативних бактерій, таких як комплекс AcrAB-TolC у *E. coli*. PAbN виявляє свою активність як інгібітор ефлюксної помпи при низьких дозах без пермеабілізації зовнішньої мембрани, дозозалежно посилюючи антибактеріальну активність азитроміцину щодо *E. coli* [32]. Взаємозв'язок між структурою та активністю цих сполук указав на інші похідні від PAbN, які є сильнішими за своєю активністю з вищою розчинністю в біологічних рідинах і зниженим рівнем токсичності.

Похідні арилгідантоїну, пригнічуючи експресію помпи AcrAB, посилювали активність антибіотиків, субстратів ефлюксу у *Enterobacter aerogenes* [4].

Доведено, що біосинтезовані наночастинки срібла пригнічують експресію генів *oxqAB* [33].

Ібупрофен знижував вірулентний потенціал *P. aeruginosa* при монотерапії та в комбінації з ципрофлоксацином, через зменшення експресії генів *texB* та *oprM*, досягаючи зменшення на 65% формування біоплівки, на 85% – гемолітичної активності [34].

Верапаміл збільшував клітинне накопичення азитроміцину майже в 2,4 рази, не змінюючи його субклітинний розподіл. Він не покращував його максимальну активність, але дозволив йому досягти подібного ефекту при позаклітинних концентраціях приблизно в сім разів нижчих. Гемфіброзил збільшив активність ципрофлоксацину проти *L. monocytogenes* майже в 2,5 рази, але не проти *S. aureus*. При цьому гемфіброзил збільшив загальне накопичення ципрофлоксацину приблизно в 2,4 рази, але надлишок був виявлений лише в цитозолі [27].

Диклофенак натрію, домперидон і нітригліцерин продемонстрували вищу інгібіторну дію на ефлюкс, порівняно з верапамілом і метформіном [35].

Тіоридазин виявляв ефективність проти *M. tuberculosis*. Він пригнічував його ефлюксні помпи та блокував його дихальний ланцюг [36].

На додаток до хороших протизапальних і антибактеріальних ефектів, сполуки, отрима-

ні з рослин, включаючи берберин, артезунат і куркумін, пригнічують активність ефлюксної помпи грамнегативних бацил *E. coli* і *P. aeruginosa* [37].

Чудовими джерелами інгібіторів ефлюкських помп вважаються овочі (наприклад, *Momordica balsamina*), насіння (наприклад, насіння розторопші), спеції (наприклад, перець і кмин), ефірні олії, отримані з ароматичних рослин (наприклад, транс-коричний альдегід і евгенол) тощо [38].

ВИСНОВОК

Таким чином, інгібування ефлюкських помп може бути потенційно перспективним способом покращення активності антибіотиків, особливо в наш час, коли стає надзвичайно складно відкривати нові антибіотики. Перевагою інгібіторів ефлюкських помп є важкість розвитку у бактерій проти них резистентності. Серед бар'єрів їх широкого впровадження в клінічну практику інгібіторів ефлюкських помп токсичні властивості деяких з них та недостатня кількість випробувань *in vivo*.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

- Compagne N, Vieira Da Cruz A; Müller RT, Hartkoorn RC, Flipo M, Pos KM. Update on the Discovery of Efflux Pump Inhibitors against Critical Priority Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics*. 2023. DOI: 10.3390/antibiotics12010180
- United Nations Environment Programme. Bracing for Superbugs: Strengthening environmental action in the One Health response to antimicrobial resistance. 2023. Geneva. 89 p. Available on: <https://www.unep.org/resources/superbugs/environmental-action>.
- Perry J, Waglechner N, Wright G. The prehistory of antibiotic resistance. Cold Spring Harbor. *Perspectives in Medicine*. 2016. DOI: 10.1101/cshperspect.a025197
- Otrebska-Machaj E, Chevalier J, Handzlik J, Szymanska E, Schabikowski J, Boyer G, et al. Efflux Pump Blockers in Gram-Negative Bacteria: The New Generation of Hydantoin Based-Modulators to Improve Antibiotic Activity. *Front. Microbiol.* 2016. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00622
- Amábile-Cuevas CF. Myths and Misconceptions around Antibiotic Resistance: Time to Get Rid of Them. *Infect Chemother.* 2022. DOI: 10.3947/ic.2022.0060
- Getahun YA, Ali DA, Taye BW, Alemayehu YA. Multidrug-Resistant Microbial Therapy Using Antimicrobial Peptides and the CRISPR/Cas9 System. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2022. DOI: 10.2147/VMRR.S366533
- Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *International Journal of Medical Microbiology*. 2013. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009
- Yu XH, Hao ZH, Liu P, Liu MM, Zhao LL, Zhao X. Increased Expression of Efflux Pump *norA* Drives the Rapid Evolutionary Trajectory from Tolerance to Resistance against Ciprofloxacin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2022. DOI: 10.1128/aac.00594-22.
- Huang L, Wu C, Gao H, Xu C, Dai M, Huang L, et al. Bacterial Multidrug Efflux Pumps at the Frontline of Antimicrobial Resistance: An Overview. *Antibiotics* 2022. DOI: 10.3390/antibiotics11040520.
- Salmanov A.G., Shcheglov D.V., Artyomenko V.V., Mamonova M.Yu., Ushkalov V.O. Containment of Antimicrobial Resistance on the 'One Health' approaches. Kyiv: AgrarMedia-Group; 2022. 380 p. ISBN 978-617-646-517-1 [In Ukrainian].
- Askoura M, Mattawa W, Abujamel T, Taher I. Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa*, *Libyan Journal of Medicine* 2011. DOI: 10.3402/ljm.v6i0.5870.

12. Zhu L-J, Pan Y, Gao C-Y, Hou P-F. Distribution of Carbapenemases and Efflux Pump in Carbapenem-resistance *Acinetobacter baumannii*. *Ann Clin Lab Sci*. 2020. Available on: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32366563>
13. Seukep AJ, Mbuntcha HG, Kuete V, Chu Y, Fan E, Guo M.-Q. What Approaches to Thwart Bacterial Efflux Pumps-Mediated Resistance? *Antibiotics* 2022. DOI: 10.3390/antibiotics1110128
14. Greene NP, Kaplan E, Crow A, Koronakis V. Antibiotic Resistance Mediated by the MacB ABC Transporter Family: A Structural and Functional Perspective. *Front. Microbiol*. 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00950
15. Alenazy R. Drug Efflux Pump Inhibitors: A Promising Approach to Counter Multidrug Resistance in Gram-Negative Pathogens by Targeting AcrB Protein from AcrAB-TolC Multidrug Efflux Pump from *Escherichia coli*. *Biology* 2022. DOI: 10.3390/biology11091328
16. Nishino K, Yamasaki S, Nakashima R, Zwama M, Hayashi-Nishino M. Function and Inhibitory Mechanisms of Multidrug Efflux Pumps. *Front. Microbiol*. 2021. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737288
17. Xiong L, Wang X, Wang Y, Yu W, Zhou Y, Chi X. et al. Molecular mechanisms underlying bacterial resistance to ceftazidime/avibactam. *WIREs Mech Dis*. 2022. DOI: 10.1002/wsbm.1571
18. Xu CF, Xu W. Drug resistance of *Acinetobacter baumannii* in pediatric intensive care unit. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2021. DOI: 10.3760/cma.j.cn112140-20210117-00053
19. Amsalu A, Sapula SA, Lopes M. de B., Hart BJ, Nguyen AH, Drigo B. et al. Efflux Pump-Driven Antibiotic and Biocide Cross-Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Different Ecological Niches: A Case Study in the Development of Multidrug Resistance in Environmental Hotspots. *Microorganisms*. 2020. DOI: 10.3390/microorganisms8111647.
20. ElDein MAT, Yassin AS, El-Tayeb O, Kashef MT. Chlorhexidine leads to the evolution of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021 Nov. doi: 10.1007/s10096-021-04292-5.
21. Al Rashed N, Joji RM, Saeed NK, Bindayna KM. Detection of overexpression of efflux pump expression in fluoroquinolone resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Int J App Basic Med Res* 2020. DOI: 10.4103/ijabmr.IJAB-MR_90_19.
22. van der Heijden Y F, Maruri F, Blackman A, Morrison R, Guo Y, Sterling TR. Mycobacterium tuberculosis gene expression associated with fluoroquinolone resistance and efflux pump inhibition. *J Infect Dis*. 2023 Apr. DOI: 10.1093/infdis/jiad112.
23. Lafaurie M, Porcher R, Donay J-L, Touratier S, Molina J-M. Reduction of fluoroquinolone use is associated with a decrease in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolation rates: a 10 year study. *J Antimicrob Chemother*. 2012. DOI: 10.1093/jac/dkr555.
24. Esfahani S, Ahmadrajab R, Mollaei H, Saffari F. Co-Incidence of Type II Topoisomerase Mutations and Efflux Expression in High Fluoroquinolone Resistant *Enterococcus faecalis* Isolated from Urinary Tract Infections. *Infection and Drug Resistance* 2020. DOI: 10.2147/IDR.S237299. eCollection 2020.
25. Amereh F, Arabestani MR, Shokoohzadeh L. Relationship of OqxAB efflux pump to antibiotic resistance, mainly fluoroquinolones in *Klebsiella pneumoniae*, isolated from hospitalized patients. *Iran J Basic Med Sci* 2023. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.67095.14714
26. Hillman T. Reducing bacterial antibiotic resistance by targeting bacterial metabolic pathways and disrupting RND efflux pump activity. *Iberoamerican Journal of Medicine*. 2022. DOI: 10.53986/ibjm.2022.0008
27. Seral C, Carryn S, Tulkens PM, Van Bambeke F. Influence of P-glycoprotein and MRP efflux pump inhibitors on the intracellular activity of azithromycin and ciprofloxacin in macrophages infected by *Listeria monocytogenes* or *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003. DOI: 10.1093/jac/dkg223

28. Kaynak Onurdağ F, Kayış U, Ökten S. Acinetobacter baumannii izolatlarında fenilalanin-arginin-beta-naftilamidin siprofloksasinin mik değerleri ve dışa atım pompası genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi. Mikrobiyol Bul 2021. DOI: 10.5578/mb.20219801
29. Prasch S, Bucar F. Plant derived inhibitors of bacterial efflux pumps: An update. Phytochem. Rev. 2015. DOI: 10.1007/s11101-015-9436-y
30. AlMatar M, Albarri O, Makky EA, Köksal F. Efflux pump inhibitors: new updates. Pharmacol Rep. 2021 Feb. DOI: 10.1007/s43440-020-00160-9
31. Adamson DH, Krikstopaityte V, Coote PJ. Enhanced efficacy of putative efflux pump inhibitor/antibiotic combination treatments versus MDR strains of Pseudomonas aeruginosa in a Galleria mellonella in vivo infection model. J. Antimicrob. Chemother. 2015. DOI: 10.1093/jac/dkv111
32. Al-Marzooq F, Ghazawi A, Daoud L, Tariq S. Boosting the Antibacterial Activity of Azithromycin on Multidrug-Resistant Escherichia coli by Efflux Pump Inhibition Coupled with Outer Membrane Permeabilization Induced by Phenylalanine-Arginine β -Naphthylamide. Int. J. Mol. Sci. 2023. DOI: 10.3390/ijms24108662
33. Dolatabadi A, Noorbazargan H, Khayam N, Moulavi P, Zamani N, Lalami ZA, Ashrafi F. Ecofriendly Biomolecule-Capped Bifidobacterium bifidum-Manufactured Silver Nanoparticles and Efflux Pump Genes Expression Alteration in Klebsiella pneumoniae. Microb Drug Resist. 2021 Feb. DOI: 10.1089/mdr.2019.0366
34. Khodaparast S, Ghanbari F, Zamani H. Evaluation of the effect of ibuprofen in combination with ciprofloxacin on the virulence-associated traits, and efflux pump genes of Pseudomonas aeruginosa. World J Microbiol Biotechnol. 2022. DOI: 10.1007/s11274-022-03316-2
35. Abdel-Karim SA-AM, El-Ganiny AMA, El-Sayed MA, Abbas HAA. Promising FDA approved drugs with efflux pump inhibitory activities against clinical isolates of Staphylococcus aureus. PLoS ONE. 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0272417
36. Ruth M.M, Pennings LJ, Koeken VACM, Schildkraut JA, Hashemi A, Wertheim HFL. et al. Thioridazine Is an Efflux Pump Inhibitor in Mycobacterium avium Complex but of Limited Clinical Relevance. Antimicrob Agents Chemother. 2020. DOI: 10.1128/AAC.00181-20
37. Laudadio E, Cedraro N, Mangiaterra G, Citterio B, Mobbili G, Minnelli C. et al. Natural Alkaloid Berberine Activity against Pseudomonas aeruginosa MexXY-Mediated Aminoglycoside Resistance: In Silico and in Vitro Studies. J. Nat. Prod. 2019. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.9b00317
38. Muniz DF, Dos Santos Barbosa CR, de Menezes IRA, de Sousa EO, Pereira RLS, Junior JTC. et al. In vitro and in silico inhibitory effects of synthetic and natural eugenol derivatives against the NorA efflux pump in Staphylococcus Aureus. Food Chem. 2021. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.127776

Article history:

Received: 12.07.2023

Revision requested: 16.07.2023

Revision received: 25.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

EFFLUX PUMPS AS A PHARMACOLOGICAL TARGET TO COMBAT ANTIBIOTIC RESISTANCE**Khaitovych M.V.***National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv, Ukraine**nik3061@gmail.com*

Background. Antibiotic resistance is the resistance of bacteria to antimicrobial drugs to which they were previously sensitive. A particular danger is the spread of multidrug-resistant healthcare-associated infections of «ESKAPE» group. Among the mechanisms of antibiotic resistance of these bacteria, the activation of efflux pumps attracts special attention.

Aim: to review the current data on the possibility of using efflux pumps as targets for pharmacological action to overcome antibiotic resistance.

Materials and methods. Analysis of the data presented in PubMed by keywords «antimicrobial resistance», «efflux pumps», «efflux pump inhibitors».

Results. Multidrug efflux pumps are transmembrane transporter proteins that are located in the bacterial cell membrane and periplasm, they are naturally expressed, removing most of the clinically relevant antibiotic from the internal environment of the cell to the external environment, reducing its intracellular concentration. It is promising to combine certain antibiotics with efflux pump inhibitors, this allows to reduce the therapeutic dose of antibiotics and prevent the formation of bacterial biofilms. Data on the study of the effectiveness of well-known drugs sertraline, trimethoprim, thioridazine, diclofenac sodium, ibuprofen, nitroglycerin, metformin, and verapamil as efflux pump inhibitors are presented. The use of compounds obtained from plants (for example, berberine, artesunate and curcumin inhibit the activity of the efflux pump of gram-negative bacilli *E. coli* and *P. aeruginosa*), vegetables (in particular, *Momordica balsamina*), seeds of thistle, pepper, cumin, essential oils, etc. is promising.

Conclusion. Thus, inhibition of efflux pumps may be a potential way to improve antibiotic activity. The advantage of efflux pumps inhibitors is the difficulty of developing resistance against them in bacteria. It is advisable to conduct in vivo studies to confirm their activity and clinical effectiveness.

Key words: antimicrobial resistance, efflux pumps, inhibitors.