

ОБЗОР

УДК 579.22+615.33

Помпы множественной лекарственной устойчивости как краеугольный камень резистентности бактерий

П.А. Назаров^{1,*} , А.М. Кузнецова² , М.В. Каракозова³ 

¹Отдел биоэнергетики, научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 43;

²Кафедра микробиологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;

³Сколковский институт науки и технологий, Россия, 121205, г. Москва, Большой бульвар, д. 30, стр. 1

*e-mail: nazarovpa@gmail.com

Устойчивость к антибиотикам представляет собой глобальную проблему современной медицины. Предвестником наступления постантибиотической эры является сложность и дороговизна разработки новых антибиотиков, а также их неэффективность из-за быстро развивающейся устойчивости бактерий. Краеугольным камнем бактериальной защиты от антибиотиков являются помпы множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), которые участвуют в формировании устойчивости к ксенобиотикам, экспорте токсинов, поддержании клеточного гомеостаза, образовании биопленок и персистентных клеток. Помпы МЛУ — это основа неспецифической защиты бактерий, в то время как модификация мишени лекарственного средства, инактивация лекарственного средства, переключение мишени или секвестрация мишени — вторая, специфическая, линия их защиты. Таким образом, сформированная помпами МЛУ неспецифическая защита бактерий — барьер, препятствующий попаданию антибактериальных веществ внутрь клетки, что является основным фактором, определяющим устойчивость бактерий. Понимание механизмов работы помп МЛУ и взвешенная оценка их вклада в общую устойчивость, а также в чувствительность к антибиотикам позволят либо серьезно отсрочить наступление постантибиотической эры, либо предотвратить ее наступление в обозримом будущем.

Ключевые слова: множественная лекарственная устойчивость (МЛУ), помпы, антибиотики, ксенобиотики, биопленки, персистеры, бактериофаги

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-2022-77-4-215-223

1. Конец золотой эры антибиотиков

Проблема антибиотикорезистентности актуальна в наши дни как никогда. Антибиотики вывели медицину на новый уровень и помогли спасти бесчисленное количество жизней, однако «золотая эра антибиотиков» продлилась недолго. В настоящее время устойчивость к противомикробным препаратам угрожает самым основам современной медицины [1], и в ближайшие десятилетия множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) может стать более частой причиной смерти, чем рак [2].

Особенно остро эта проблема встала в связи с возникшей пандемией коронавируса SARS-CoV-2, когда лечение в стационаре заболеваний с разной и смешанной этиологией может служить триггером ускорения образования антибиотикорезистентных госпитальных штаммов. Результаты многих исследований свидетельствуют в пользу существования прямой зависимости между увеличением потребления антибиотиков и распространением устойчиво-

сти бактерий к их действию [3–5], а в результате глобализации экономики антибиотикорезистентность стремительно распространяется по всему миру.

Между тем поиск новых антибиотиков сильно замедлился. Несмотря на острую потребность в противомикробных средствах, в настоящее время разрабатывается очень мало новых соединений, большинство из которых к тому же принадлежат к классам уже используемых антибиотиков [6]. За последние 15 лет лишь один новый класс антибиотиков против грамположительных бактерий был введен в клиническую практику, а последний класс антибиотиков широкого спектра действия был введен в клинику в 60-х гг. прошлого века [7]. Таким образом, человечество стоит на грани глобального кризиса и может быть отброшено назад в доантибиотическую эпоху.

Тем не менее, явление антибиотикорезистентности не ново. Бактерии конкурировали между собой задолго до появления эукариот, и существуют

доказательства наличия генов, кодирующих устойчивость к бета-лактамам антибиотикам, тетрациклину и гликопептидным антибиотикам в ДНК бактерий, которые находились в древнем пермафросте возрастом 30 тыс. лет [8]. То, как быстро бактериям удастся приспособливаться к новым антибиотикам, свидетельствует о многообразии и сложности их механизмов защиты. Некоторые из них могут быть обусловлены генетическими факторами (случайная мутация, передающаяся в популяции), а некоторые — особыми состояниями (персистенция, нахождение в глубоких слоях биопленки), где клетки являются нечувствительными к действию антибиотиков. Основными механизмами резистентности на данный момент считаются ограничение поглощения лекарственного средства, модификация его мишени, инактивация лекарственного средства и активный его выброс, а также переключение мишеней и удаление мишени [7, 9]. Кроме того, защита бактерий может быть специфической (направленной против конкретного класса антибиотиков или конкретного антибиотика) и неспецифической (направленной против широкого спектра антибактериальных веществ), а также включать формирование метаболических шунтов — обходных путей, позволяющих не задействовать молекулу-мишень антибиотика.

2. Неспецифическая защита

Хотя понятие неспецифической защиты, или иммунитета, присуще сложноорганизованным многоклеточным организмам, на клеточном уровне она осуществляется и у бактерий. У животных — например, млекопитающих — основные системы защиты локализованы на коже и слизистых оболочках и представляют собой секреты слизистых, слюнных или слюнных желез, а также желудочный сок. Клетки иммунной системы способны распознавать и уничтожать патогены, что создает мощный барьер между организмом и внешней средой. Главная задача подобной защиты — не пропустить патогенный организм внутрь, а если это по каким-то причинам не удалось, начать воспалительный ответ. При этом животные имеют в своем арсенале также высокоэффективный специфический иммунитет, что делает их способными противостоять различным инфекциям вирусной, бактериальной и грибковой природы [10].

В отличие от животных, растения полагаются на врожденный иммунитет каждой клетки и системные сигналы, исходящие из очагов инфекции, а не на мобильные защитные клетки и соматическую адаптивную иммунную систему. Однако даже при этом заражение патогенными микроорганизмами не всегда бывает успешным для бактерий из-за структурных изменений клеточной стенки или запрограммированной гибели клеток [11]. Клеточная стенка растений состоит из микрофибрилл целлюлозы и гемицеллюлозы; она

армирована лигнином и содержит значительное количество белков, выполняющих структурные и ферментативные функции [12]. Неоднородность строения клеточной стенки растений вынуждает патогены использовать различные стратегии проникновения через нее.

Несмотря на то, что бактерии представляют собой одноклеточные организмы, им также присущи элементы неспецифической защиты. У бактерий имеется особое состояние псевдомногоклеточности — биопленки, когда клетки популяции находятся в различном метаболическом, экспрессионном и энергетическом состоянии, образуя сложный конгломерат клеток, выполняющих защитную и адаптивную функцию. Состояние биопленки позволяет бактериальной популяции эффективно противостоять антибиотикам, но в то же время делает ее крайне уязвимой для вирусных инфекций, вызванных бактериофагами. При этом роль неспецифической защиты выполняют помпы МЛУ, которые и определяют способность индивидуальных клеток противостоять в войне антибиотиков, длящейся многие миллионы лет [13, 14]: по-видимому, еще со времен возникновения LUCA (Last Universal Common Ancestor), последнего общего предка всех живых существ на Земле [15].

3. Основной компонент неспецифической защиты бактерий — помпы множественной лекарственной устойчивости

Как было сказано выше, немаловажную роль в неспецифической защите играют помпы МЛУ. Они высокоэффективны и широко специфичны, что обеспечивает бактериям защиту от большого разнообразия ксенобиотиков. При этом надо учитывать, что помпы МЛУ присутствуют во всех живых клеточных организмах без исключения и являются важнейшим элементом не только бактериальной неспецифической клеточной защиты.

Вклад помп МЛУ в бактериальную резистентность до настоящего времени не оценен по достоинству. Это можно проиллюстрировать на примере митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1. Еще недавно считалось, что он не является антибиотиком [16]. При обнаружении его антибактериальных свойств решили, что чувствительность бактерий к SkQ1 определяется его способностью к проникновению через сложно устроенную клеточную стенку, поэтому грамположительные *Bacillus subtilis* были чувствительны к SkQ1, тогда как грамотрицательные *Escherichia coli* — нет [17]. Дальнейшие исследования показали [18], что делеция белков помпы AcrAB-TolC приводит к полной потере устойчивости к SkQ1 [19]. AcrAB-TolC является основной помпой оттока множества антибиотиков [20], так что легко может показаться, что устойчивость грамотрицательных бактерий обу-

словлена не сложностью проникновения вещества через две мембраны, а наличием помпы, эффективно откачивающей его. Однако это тоже являлось слишком простым объяснением. Оказалось, что грамотрицательные бактерии *Rhodobacter sphaeroides* и *Photobacterium phosphoreum*, чувствительные к SkQ1, имеют белки-компоненты помпы AcrAB-TolC [18, 19], что сводит на нет гипотезу о наличии ее как необходимого и достаточного условия резистентности. Выяснилось, что аминокислотные последовательности белка AcrB из *E. coli*, *R. sphaeroides* и *P. phosphoreum* сходны на 35–60% и формально являются филогенетическими гомологами (ортологами), но они не гомологичны функционально и должны рассматриваться как паралоги [21, 22]. Это подтверждается тем, что в случае *Klebsiella pneumoniae* при гомологии 91,5% наблюдается филогенетическая и функциональная гомология, свойственная большинству ортологов [19, 21].

Очевидно, что в процессе исследований механизм резистентности к SkQ1 был принят за ограничение его поглощения посредством сложной клеточной стенки, тогда как на самом деле он был основан на активном выбросе лекарственного средства помпой МЛУ.

Проблемы с определением механизмов резистентности в каждом конкретном случае связаны с недостаточным изучением антибиотиков, а также плеiotропией действия помп. Множество помп могут откачивать один и тот же антибиотик, и удаление даже нескольких из них незначительно влияет на общий эффект. Если посмотреть на профиль чувствительности *E. coli* к антибиотикам по их оттоку [23], можно увидеть, что механизм «активный выброс лекарственного средства» приводит к увеличению минимальной ингибирующей концентрации для антибиотиков в 50–100 раз, и этот же порядок величин мы наблюдаем в случае SkQ1 [18]. Даже в том случае, когда проницаемость сквозь наружную мембрану, по-видимому,

затруднена, как в случае с BACE (хлорин еб 13(1)-N-{2-[N-(1-карба-клозо-додекарборан-1-ил)метил]аминоэтил}амид-15(2), 17), конъюгата хлорина еб и карборана [24], действие помп все же можно заметить [25]. Таким образом, помпы МЛУ, по-видимому, играют ключевую, но недооцененную роль в резистентности к антибиотикам.

4. Структура помп

множественной лекарственной устойчивости

К настоящему времени было выявлено шесть семейств помп МЛУ [26]. Одно из них – семейство ABC-транспортеров (ATP-binding cassette), напрямую использующих энергию АТФ для осуществления транспорта. Остальные пять семейств – вторичные активные транспортеры, использующие электрохимическую энергию трансмембранного потенциала, к ним относятся MFS (major facilitator superfamily), MATE (multidrug and toxin extrusion), SMR (small multidrug resistance), RND (resistance-nodulation-cell division) и PACE (proteobacterial antimicrobial compound efflux). На рис. 1 представлена схема работы основных семейств бактериальных транспортеров.

По-видимому, два разных механизма работы транспортеров предназначены для поддержания жизнеспособности клетки в разных физиологических состояниях. При отсутствии потенциала на мембране (например, в состоянии персистенции) будут функционировать только ABC-транспортеры, а при наличии трансмембранного потенциала будут работать все транспортеры. У прокариот преобладают потенциал-зависимые помпы, что объясняется высоким потенциалом на мембране (~140–220 mV для *E. coli* [27]) и отсутствием необходимости конвертации потенциала в АТФ, что дает преимущество по скорости работы.

Одной из наиболее изученных помп МЛУ является помпа AcrAB-TolC (или AcrABZ-TolC) бактерии *E. coli* [28]. Эта помпа состоит из трех

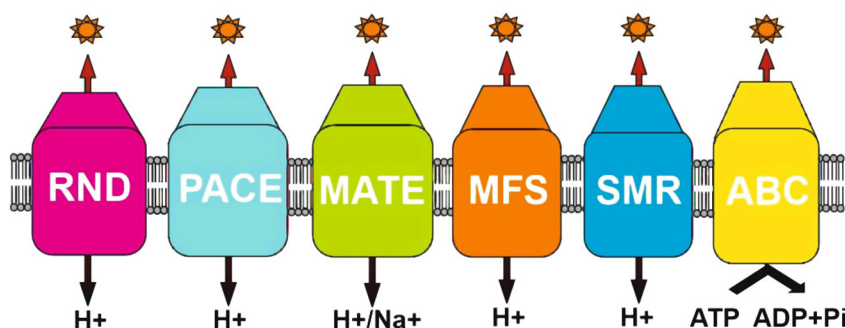


Рис. 1. Схематическое представление принципов работы известных семейств помп МЛУ. К настоящему моменту выявлено шесть семейств помп МЛУ. Из них лишь семейство ABC-транспортеров (ATP-binding cassette) напрямую использует энергию АТФ для осуществления транспорта, остальные пять семейств – вторичные активные транспортеры, которые используют электрохимическую энергию трансмембранного потенциала, к ним относятся суперсемейство MFS (major facilitator superfamily), семейство MATE (multidrug and toxin extrusion), семейство SMR (small multidrug resistance), суперсемейство RND (resistance-nodulation-cell division) и семейство PACE (proteobacterial antimicrobial compound efflux).

основных белков: канала наружной мембраны TolC, транспортера AcrB и соединяющего их адаптерного белка AcrA [29], а также одного небольшого мембранного белка AcrZ (YbhT), состоящего из 49 аминокислотных остатков, и, по-видимому, модулирующего работу белка AcrB в составе помпы AcrAB-TolC [30–32]. Интересно, что канал TolC играет ту же самую роль для еще 7 помп МЛЮ семейств RND, ABC и MFS [15], а адаптерный белок AcrA — для еще одной помпы AcrAD-TolC [33]. Помпа AcrAB-TolC имеет довольно большую субстратную специфичность и откачивает субстраты из внутренней мембраны бактерии и периплазматического пространства [23, 29, 34]. Сам транспортер AcrB находится на внутренней мембране и прокачивает вещества за счет трансмембранного потенциала, однако механизм действия помпы AcrAB-TolC окончательно не установлен, хотя в литературе имеются несколько работ, предполагающих отдельные этапы этого процесса [35–40].

5. Эволюция помп множественной лекарственной устойчивости и горизонтальный перенос генов

Об эволюционной консервативности помп свидетельствует повсеместное распространение помп семейств MFS и RND как среди прокариот (включая бактерий и архей), так и среди эукариот [41, 42], поэтому консервативность помп в пределах одного вида не удивительна [43]. Это также подтверждается тем фактом, что структуры помп выбирались бактериофагами в качестве мишеней для своего связывания [44, 45]. Способность обеспечивать отток лекарств, по-видимому, появлялась всего несколько раз в ходе эволюции и стабильно сохранялась, но при этом модуляция специфичности субстрата этих систем происходила неоднократно [46].

Хотя некоторые семейства помп распространены достаточно широко, существуют проблемы, которые затрудняют горизонтальный перенос генов помп даже между близкими таксонами. Различия в белковом строении внешней мембраны бактерий накладывают определенные ограничения, однако это явление может вносить весьма важный вклад в распространение антибиотикорезистентности. Несмотря на это, различные компоненты помп или даже сами помпы могут передаваться в результате горизонтального переноса генов. Так, гены помпы OqxAB обычно локализованы на хромосоме и/или плаزمиде, окруженных IS26-подобными мобильными генетическими элементами в клинических изолятах *Enterobacteriaceae* и придают устойчивость к хиноксалинам, хинолонам, тигециклину, нитрофурантоину, нескольким детергентам и дезинфицирующим средствам [47, 48]. Было показано [49], что помпа OqxAB придает устойчивость к противомикроб-

ным препаратам или снижает восприимчивость трансформированных бактерий (перенос плазмиды с *E. coli* осуществлялся на *Salmonella typhimurium*, *K. pneumoniae*, *Kluyvera sp.* и *Enterobacter aerogenes*) к различным субстратам. OqxAB — одна из немногих помп, закодированных на конъюгативных плаزمиде. Другим подобным примером является помпа MexCD [50]. Таким образом, помпы МЛЮ и их компоненты могут передаваться горизонтально между близкими группами бактерий, однако способность их к передаче функции помпы может быть сильно ограничена и требовать наличия подходящих белковых компонентов — таких, как, например, белок TolC для помпы OqxAB [51].

6. Роль помп множественной лекарственной устойчивости в антибиотикорезистентности

Помпы МЛЮ являются универсальным инструментом, защищающим саму бактериальную клетку и ее микроокружение от негативного воздействия ксенобиотиков, в том числе от множества самых разнообразных антибиотиков [15]. Более того, бактерии используют различные подходы для повышения ее эффективности. Резистентные фенотипы могут возникать в результате усиления активности помп за счет их сверхэкспрессии, как это наблюдается при добавлении антибиотиков в сублетальных концентрациях, когда за счет каскада взаимодействий индуцируется увеличение экспрессии генов помп МЛЮ, откачивающих эти антибиотики [52].

Другим интересным аспектом является асимметричное расположение помп МЛЮ в ходе клеточного деления. В процессе деления ранее синтезированные помпы в основном находятся на старых полюсах, а новые полюса вновь создаются, и помпы МЛЮ синтезируются *de novo* [53]. Это создает изменчивый профиль резистентности в процессе клеточного цикла, что дает возможность популяции сохранять в своем составе бактерии с разным статусом экспрессии помп МЛЮ. При встрече с антибиотиком наименее устойчивые клетки погибают и задействуют две стратегии: адсорбирование на поверхности умерших клеток антимикробных препаратов, что защищает оставшиеся бактерии [54, 55], и выделение «некросигнала» умершими клетками, вызывающим активацию защитных путей у выживших бактерий [56]. Удивительно, что в качестве «некросигнала» выступает компонент помпы AcrAB-TolC, адаптерный белок AcrA, в результате чего бактериальная популяция приобретает повышенную устойчивость к антибиотикам. Кроме того, под воздействием антибиотиков скорость мутаций определенных генов может увеличиваться [57, 58]. Изменение числа копий гена происходит весьма часто в геномах [59], и удвоение генов помп МЛЮ приводит к повышению шансов выживания бак-

терий при добавлении антибиотиков. Таким образом, удвоение гена приводит к увеличению резистентности и может являться альтернативой изменения уровня экспрессии.

Резюмируя вышеперечисленное, можно заключить, что бактерии в полной мере используют все возможности, представляемые им помпами МЛУ для увеличения резистентности, и это защищает их даже при высоких концентрациях антибиотиков.

7. Роль помп

множественной лекарственной устойчивости в образовании биопленок и клеток-персистеров

Бактериальная популяция обычно существует в виде двух субпопуляций, планктонной и прикрепленной. Между ними существует равновесие, поддерживаемое разными факторами, такими как сигналы чувства кворума [60] или электрические сигналы [61]. Устойчивость бактерий в составе биопленок может на два порядка превышать устойчивость планктонных форм [62]. Биопленки могут формироваться бактериями разных видов, что имеет свои преимущества — как в метаболическом плане, так и в плане защиты [63, 64].

При этом роль помп МЛУ в формировании биопленок довольно значительна. Это транспортировка компонентов внеклеточного матрикса за пределы клетки для формирования защиты, экспорт сигналов чувства кворума, предотвращение или способствование адгезии к другим клеткам и субстратам, а также защита от токсинов, антибиотиков и метаболитов, возникающих в результате совместного нахождения в ограниченном объеме биопленки [15].

Другими механизмами защиты от антибиотиков можно считать абсорбцию антибиотиков бактериальными клетками на границе биопленки, смерть которых является одновременно и защитой [54, 55], и источником питательных ресурсов для популяции внутри биопленки за счет так называемого некротрофического роста [65]. Таким образом, помпы МЛУ не только играют важную роль, откачивая антибиотики из клеток, но и создают определенное микроокружение, влияющее на всю популяцию вокруг [66].

Условия, создаваемые в биопленках, защищают бактерии от воздействий внешней среды, но в то же время это ограничивает доступ к питательным веществам, из-за чего стационарная фаза роста наступает быстрее. Доля метаболически неактивных клеток-персистеров в популяции увеличивается, клетки начинают тормозить свой метаболизм, поэтому недостаток питательных веществ в глубоких слоях биопленки способствует формированию персистенции [67, 68].

Так как одним из механизмов персистенции является деполаризация мембраны под действием токсина TisB [69–71], можно полагать, что имен-

но в этом случае возникает состояние, когда клетка бывает лишена потенциала на мембране и, получив энергию за счет мембранонезависимых энергетических процессов (например, гликолиза), может использовать АТФ-зависимые помпы для откачки вредных веществ, когда остальные помпы отключены из-за отсутствия потенциала на мембране.

Таким образом, помпы МЛУ играют важную роль не только в защите клетки от антибиотиков, но и в процессах образования сложных структур, таких как биопленки, и в реализации особого клеточного состояния персистенции, которое позволяет бактериям повышать на несколько порядков резистентность к антибиотикам и даже избегать их воздействия, не имея генетических детерминант специфической защиты.

8. Заключение

Можно полагать, что помпы МЛУ являются краеугольным камнем резистентности и необходимы для многих клеточных процессов у бактерий. Помпы играют ключевую роль в процессах защиты и нападения за счет участия в экспорте токсинов, участвуют в образовании биопленок и вносят важный вклад в бактериальную персистенцию, поддержание клеточного гомеостаза и даже являются рецепторами, обуславливающими проникновение бактериофагов в клетку (рис. 2).



Помпы множественной лекарственной устойчивости

Рис. 2. Роль помп МЛУ в процессах бактериальной клетки. Помпы могут выполнять как защитную функцию, так и функцию активного нападения, поддерживать гомеостаз клетки и даже быть рецепторами, опосредующими проникновение бактериофагов в клетку.

Даже при отсутствии специализированных систем защиты от антибиотиков само наличие этих сложно регулируемых систем обеспечивает высокий уровень защиты, позволяющий бактериям выживать при концентрациях антибиотика на несколько порядков выше потенциально смертельного. Это дает возможность заключить, что система помп МЛЮ бактерий представляет собой неспецифическую защиту от ксенобиотиков, которая и обуславливает базовую, первичную резистентность, «иммунитет» бактерий к токсинам, антибиотикам и другим веществам, негативно влияющим на бактериальную клетку. Другие механизмы резистентности (модификация мишени лекарственного средства, инактивация лекарственного средства, переключение мишеней и секвестрация мишеней) являются вторичными, специфическими механизмами, которые при совместной работе с первичной системой и опреде-

ляют существование феномена «суперустойчивых» бактерий. Долгосрочную стратегию борьбы с такими бактериями невозможно осуществить только лишь за счет обхождения специфической защиты без уделения должного внимания преодолению неспецифической защиты. Исследование и понимание этих процессов позволит нам либо серьезно отсрочить наступление постантибиотической эры, либо даже не допустить ее наступления в будущем.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00099 «Создание гетерологической системы помп МЛЮ для исследования бактериальной резистентности патогенных грамотрицательных бактерий») и проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Organization. 2015. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763> (дата обращения: 15.06.2022).
2. World Health Organization. 2014. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642> (дата обращения: 15.06.2022).
3. Arason V.A., Gunnlaugsson A., Sigurdsson J.A., Erlendsdottir H., Gudmundsson S., Kristinsson K.G. Clonal spread of resistant pneumococci despite diminished antimicrobial use // *Microb. Drug Resist.* 2002. Vol. 8. N 3. P. 187–192.
4. *Antimicrobial Resistance Collaborators*. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // *Lancet*. 2022. Vol. 399 N 10325. P. 629–655.
5. Turner B. Tackling antimicrobial resistance and climate change // *Lancet*. 2018. Vol. 299. N 10163. P. 2435–2436.
6. Cooper M.A., Shlaes D. Fix the antibiotics pipeline // *Nature*. 2011. Vol. 472. N 7341. P. 32.
7. Lewis K. The science of antibiotic discovery // *Cell*. 2020. Vol. 181. N 1. P. 29–45.
8. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D. Antibiotic resistance is ancient // *Nature*. 2011. Vol. 477. N 7365. P. 457–461.
9. Reygaert W.C. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria // *AIMS Microbiol.* 2018. Vol. 4. N 3. P. 482–501.
10. Chaplin D.D. Overview of the immune response // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010. Vol. 125. N 2. P. 3–23.
11. Nazarov P.A., Baleev D.N., Ivanova M.I., Sokolova L.M., Karakozova M.V. Infectious plant diseases: Etiology, current status, problems and prospects in plant protection // *Acta Naturae*. 2020. Vol. 12 N 3. P. 46–59.
12. Смирнова О.Г., Кочетов А.В. Клеточная стенка растений и механизмы устойчивости к патогенам // *Вавил. журн. ген. селекц.* 2016. Т. 6. № 19. С. 715–723.
13. Nikaido H. RND transporters in the living world // *Res. Microbiol.* 2018. Vol. 169. N 7–8. P. 363–371.
14. Pasqua M., Grossi M., Zennaro A., Fanelli G., Micheli G., Barras F., Colonna B., Prosseda G. The varied role of efflux pumps of the MFS family in the interplay of bacteria with animal and plant cells // *Microorganisms*. 2019. Vol. 7. N 9: 285.
15. Nazarov P.A. MDR Pumps as crossroads of resistance: Antibiotics and Bacteriophages // *Antibiotics*. 2022. Vol. 11. N 6: 734.
16. Anisimov V.N., Egorov M.V., Krasilshchikova M.S., et al. Effects of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on lifespan of rodents // *Aging*. 2011. Vol. 3. N 11. P. 1110–1119.
17. Khailova L.S., Nazarov P.A., Sumbatyan N.V., Korshunova G.A., Rokitskaya T.I., Dedukhova V.I., Antonenko Y.N., Skulachev V.P. Uncoupling and toxic action of alkyltriphenylphosphonium cations on mitochondria and the bacterium *Bacillus subtilis* as a function of alkyl chain length // *Biochemistry (Mosc.)*. 2015. Vol. 80. N 12. P. 1589–1597.
18. Nazarov P.A., Osterman I.A., Tokarchuk A.V., Karakozova M.V., Korshunova G.A., Lyamzaev K.G., Skulachev M.V., Kotova E.A., Skulachev V.P., Antonenko Y.N. Mitochondria-targeted antioxidants as highly effective antibiotics // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. N 1: 1394.
19. Nazarov P.A., Kotova E.A., Skulachev V.P., Antonenko Y.N. Genetic variability of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump underlies SkQ1 resistance in gram-negative bacteria // *Acta Naturae*. 2019. Vol. 11. N 4. P. 93–98.
20. Shi X., Chen M., Yu Z., Bell J.M., Wang H., Forrester I., Villarreal H., Jakana J., Du D., Luisi B.F., Ludtke S.J., Wang Z. In situ structure and assembly of the multidrug efflux pump AcrAB-TolC // *Nat. Commun.* 2019. Vol. 10. N 1: 2635.
21. Nazarov P.A., Sorochkina A.I., Karakozova M.V. New functional criterion for evaluation of homologous MDR pumps // *Front. Microbiol.* 2020. Vol. 11: 592283.
22. García-Contreras R., Martínez-Vázquez M., González-Pedrajo B., Castillo-Juárez I. Editorial: Alternatives to combat bacterial infections // *Front. Microbiol.* 2022. Vol. 13: 909866.

23. Sulavik M.C., Houseweart C., Cramer C., Jiwani N., Murgolo N., Greene J., DiDomenico B., Shaw K.J., Miller G.H., Hare R., Shimer G. Antibiotic susceptibility profiles of *Escherichia coli* strains lacking multidrug efflux pump genes // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001. Vol. 45. N 4. P. 1126–1136.
24. Moisenovich M.M., Ol'shevskaya V.A., Rokitskaya T.I., Ramonova A.A., Nikitina R.G., Savchenko A.N., Tatarskiy V.V. Jr., Kaplan M.A., Kalinin V.N., Kotova E.A., Uvarov O.V., Agapov I.I., Antonenko Y.N., Shtil A.A. Novel photosensitizers trigger rapid death of malignant human cells and rodent tumor transplants via lipid photodamage and membrane permeabilization // *PloS One*. 2010. Vol. 5. N 9: e12717.
25. Omarova E.O., Nazarov P.A., Firsov A.M., Strakhovskaya M.G., Arkhipova A.Y., Moisenovich M.M., Agapov I.I., Ol'shevskaya V.A., Zaitsev A.V., Kalinin V.N., Kotova E.A., Antonenko Y.N. Carboranyl-chlorin e6 as a potent antimicrobial photosensitizer // *PLoS One*. 2015. Vol. 10. N 11: e0141990.
26. Du D., Wang-Kan X., Neuberger A., van Veen H.W., Pos K.M., Piddock L.J.V., Luisi B.F. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation // *Nat. Rev. Microbiol.* 2018. Vol. 16. N 9. P. 523–539.
27. Bot C., Prodan C. Quantifying the membrane potential during *E. coli* growth stages // *Biophys. Chem.* 2010. Vol. 146. P. 133–137.
28. Du D., Wang Z., James N.R., Voss J.E., Klimont E., Ohene-Agyei T., Venter H., Chiu W., Luisi B.F. Structure of the AcrAB-TolC multidrug efflux pump // *Nature*. 2014. Vol. 509. N 7501. P. 512–515.
29. Yu E. W., Aires J.R., Nikaido H. AcrB multidrug efflux pump of *Escherichia coli*: composite substrate-binding cavity of exceptional flexibility generates its extremely wide substrate specificity // *J. Bacteriol.* 2003. Vol. 185. N 19. P. 5657–5664.
30. Hobbs E.C., Yin X., Paul B.J., Astarita J.L., Storz G. Conserved small protein associates with the multidrug efflux pump AcrB and differentially affects antibiotic resistance // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. Vol. 109. N 41. P. 16696–16701.
31. Storz G., Wolf Y.I., Ramamurthi K.S. Small proteins can no longer be ignored // *Annu. Rev. Biochem.* 2014. Vol. 83. P. 753–777.
32. Du D., Neuberger A., Orr M.W., Newman C.E., Hsu P.C., Samsudin F., Szweczek-Harris A., Ramos L.M., Debela M., Khalid S., Storz G., Luisi B.F. Interactions of a bacterial RND transporter with a transmembrane small protein in a lipid environment // *Structure*. 2020. Vol. 28. N 6. P. 625–634.
33. Rosenberg E.Y., Ma D., Nikaido H. AcrD of *Escherichia coli* is an aminoglycoside efflux pump // *J. Bacteriol.* 2000. Vol. 182. N 6. P. 1754–1756.
34. Pos K.M. Drug transport mechanism of the AcrB efflux pump // *Biochim. Biophys. Acta*. 2009. Vol. 1794. N 5. P. 782–793.
35. Seeger M.A., Schiefner A., Eicher T., Verrey F., Diederichs K., Pos K.M. Structural asymmetry of AcrB trimer suggests a peristaltic pump mechanism // *Science*. 2006. Vol. 313. N 5791. P. 1295–1298.
36. Nikaido H., Takatsuka Y. Mechanisms of RND multidrug efflux pumps // *Biochim. Biophys. Acta* 2009. Vol. 1794. N 5. P. 769–781.
37. Eicher T., Cha H.J., Seeger M.A., Brandstätter L., El-Delik J., Bohnert J.A., Kern W.V., Verrey F., Grütter M.G., Diederichs K., Pos K.M. Transport of drugs by the multidrug transporter AcrB involves an access and a deep binding pocket that are separated by a switch-loop // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. Vol. 109. N 15. P. 5687–5692.
38. Husain F., Nikaido H. Substrate path in the AcrB multidrug efflux pump of *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 2010. Vol. 78. N 2. P. 320–330.
39. Tam H.K., Foong W.E., Oswald C., Herrmann A., Zeng H., Pos K.M. Allosteric drug transport mechanism of multidrug transporter AcrB // *Nat. Commun.* 2021. Vol. 12. N 1: 3889.
40. Webber A., Ratnaweera M., Harris A., Luisi B.F., Ntsogo Enguéné V.Y. A model for allosteric communication in drug transport by the AcrAB-TolC tripartite efflux pump // *Antibiotics*. 2022. Vol. 11. N 1: 52.
41. Sandhu P., Akhter Y. Evolution of structural fitness and multifunctional aspects of mycobacterial RND family transporters // *Arch. Microbiol.* 2018. Vol. 200. N 1. P. 19–31.
42. Pasqua M., Bonaccorsi di Patti M.C., Fanelli G., Utsumi R., Eguchi Y., Trirocco R., Prosseda G., Grossi M., Colonna B. Host-bacterial pathogen communication: The wily role of the multidrug efflux pumps of the MFS family // *Front. Mol. Biosci.* 2021. Vol. 8: 723274.
43. Karakozova M., Nazarov P. Conserved sequences of genes coding for the multidrug resistance pump AcrAB-TolC of *Escherichia coli* suggest their involvement into permanent cell “cleaning” // *Bull. Russ. State Med. Univ.* 2018. N. 2. P. 32–36.
44. Tamer Y.T., Gaszek I., Rodrigues M., Coskun F.S., Farid M., Koh A.Y., Russ W., Toprak E. The antibiotic efflux protein TolC is a highly evolvable target under Colicin E1 or TLS phage selection // *Mol. Biol. Evol.* 2021. Vol. 38. N 10. P. 4493–4504.
45. Esteves N.C., Porwollik S., McClelland M., Scharf B.E. The multidrug efflux system AcrABZ-TolC is essential for infection of *Salmonella typhimurium* by the flagellum-dependent bacteriophage Chi // *J. Virol.* 2021. Vol. 95. N 11: e00394-21.
46. Saier M.H. Jr., Paulsen I.T., Sliwinski M.K., Pao S.S., Skurray R.A., Nikaido H. Evolutionary origins of multidrug and drug-specific efflux pumps in bacteria // *FASEB J.* 1998. Vol. 12. N 3. P. 265–274.
47. Hansen L.H., Jensen L.B., Sørensen H.I., Sørensen S.J. Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in *Escherichia coli* and selected enteric bacteria // *J. Antimicrob. Chemother.* 2007. Vol. 60. N 1. P. 145–147.
48. Harmer C.J., Hall R.M. An analysis of the IS6/IS26 family of insertion sequences: is it a single family? // *Microb. Genom.* 2019. Vol. 5. N. 9: e000291.
49. Li J., Zhang H., Ning J., Sajid A., Cheng G., Yuan Z., Hao H. The nature and epidemiology of OqxAB, a multidrug efflux pump // *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2019. Vol. 8: 44.
50. Tauch A., Schlüter A., Bischoff N., Goesmann A., Meyer F., Pühler A. The 79,370-bp conjugative plasmid pB4 consists of an IncP-1 beta backbone loaded with a chromate resistance transposon, the strA-strB streptomycin resistance gene pair, the oxacillinase gene bla(NPS-1), and a tripartite antibiotic efflux system of the resistance-nodulation-division family // *Mol. Genet. Genom.* 2003. Vol. 268. N 5. P. 570–584.
51. Sato T., Yokota S., Uchida I., Okubo T., Usui M., Kusumoto M., Akiba M., Fujii N., Tamura Y. Fluoroquinolone resistance mechanisms in an *Escherichia*

- coli* isolate, HUE1, without quinolone resistance-determining region mutations // *Front. Microbiol.* 2013. Vol. 4: 125.
52. Nichols R.J., Sen S., Choo Y.J., Beltrao P., Zietek M., Chaba R., Lee S., Kazmierczak K.M., Lee K.J., Wong A., Shales M., Lovett S., Winkler M.E., Krogan N.J., Typas A., Gross C.A. Phenotypic landscape of a bacterial cell // *Cell*. 2011. Vol. 144. N 1. P. 143–156.
53. Bergmiller T., Andersson A.M.C., Tomasek K., Balleza E., Kiviet D.J., Hauschild R., Tkačik G., Guet C.C. Biased partitioning of the multidrug efflux pump AcrAB-TolC underlies long-lived phenotypic heterogeneity // *Science*. 2017. Vol. 356. N 6335. P. 311–315.
54. Snoussi M., Talledo J.P., Del Rosario N.A., Mohammadi S., Ha B.Y., Košmrlj A., Taheri-Araghi S. Heterogeneous absorption of antimicrobial peptide LL37 in *Escherichia coli* cells enhances population survivability // *eLife*. 2018. Vol. 7: e38174.
55. Wu F., Tan C. Dead bacterial absorption of antimicrobial peptides underlies collective tolerance // *J. R. Soc. Interface*. 2019. Vol. 16. N 151: 20180701.
56. Bhattacharyya S., Walker D.M., Harshey R.M. Dead cells release a «necrosignal» that activates antibiotic survival pathways in bacterial swarms // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11. N 1: 4157.
57. Björkholm B., Sjölund M., Falk P.G., Berg O.G., Engstrand L., Andersson D.I. Mutation frequency and biological cost of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. Vol. 98. N 25. P. 14607–14612.
58. Long H., Miller S.F., Strauss C., Zhao C., Cheng L., Ye Z., Griffin K., Te R., Lee H., Chen C.C., Lynch M. Antibiotic treatment enhances the genome-wide mutation rate of target cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2016. Vol. 113. N 18: E2498–505.
59. Reams A.B., Roth J.R. Mechanisms of gene duplication and amplification // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015. Vol. 7. N 2: a016592.
60. Mukherjee S., Bassler B.L. Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. Vol. 17. N 6. P. 371–382.
61. Humphries J., Xiong L., Liu J., Prindle A., Yuan F., Arjes H.A., Tsimring L., Süel G.M. Species-independent attraction to biofilms through electrical signaling // *Cell*. 2017. Vol. 168. N 1–2. P. 200–209.
62. Wu H., Moser C., Wang H.Z., Høiby N., Song Z.J. Strategies for combating bacterial biofilm infections // *Int. J. Oral Sci.* 2015. Vol. 7. N 1. P. 1–7.
63. Sharma D., Misba L., Khan A.U. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities // *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2019. Vol. 8: 76.
64. Flemming H.C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S.A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life // *Nat. Rev. Microbiol.* 2016. Vol. 14. N 9. P. 563–575.
65. Wang Z., Gong X., Xie J., Xu Z., Liu G., Zhang G. Investigation of formation of bacterial biofilm upon dead siblings // *Langmuir*. 2019. Vol. 35. N 23. P. 7405–7413.
66. Wen X., Langevin A.M., Dunlop M.J. Antibiotic export by efflux pumps affects growth of neighboring bacteria // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8: 15120.
67. Lewis K. Persister cells // *Annu. Rev. Microbiol.* 2010. Vol. 64. P. 357–372.
68. Nguyen D., Joshi-Datar A., Lepine F., Bauerle E., Olakanmi O., Beer K., McKay G., Siehnel R., Schafhauser J., Wang Y., Britigan B.E., Singh P.K. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria // *Science*. 2011. Vol. 334. N 6058. P. 982–986.
69. Dörr T., Vulić M., Lewis K. Ciprofloxacin causes persister formation by inducing the TisB toxin in *Escherichia coli* // *PLoS Biol.* 2010. Vol. 8. N 2: e1000317.
70. Berghoff B.A., Hoekzema M., Aulbach L., Wagner E.G. Two regulatory RNA elements affect TisB-dependent depolarization and persister formation // *Mol. Microbiol.* 2017. Vol. 103. N 6. P. 1020–1033.
71. Edelmann D., Leinberger F.H., Schmid N.E., Oberpaul M., Schäberle T.F., Berghoff B.A. Elevated expression of toxin TisB protects persister cells against ciprofloxacin but enhances susceptibility to mitomycin C // *Microorganisms*. 2021. Vol. 9. N 5: 943.

Поступила в редакцию 17.06.2022

После доработки 05.10.2022

Принята в печать 26.10.2022

REVIEW

Multidrug resistance pumps as a keystone of bacterial resistance

P.A. Nazarov¹, * , A.M. Kuznetsova² , M.V. Karakozova³ 

¹Department of Bioenergetics, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, 1–43 Leninskie gory, Moscow, 119991, Russia;

²Department of Microbiology, School of Biology,

Lomonosov Moscow State University, 1–12 Leninskie gory, Moscow, 119234, Russia;

³Center of Life Sciences, Skolkovo Institute of Science and Technology, 30–1 Bolshoy Boulevard, 121205, Moscow, Russia

*e-mail: nazarovpa@gmail.com

Antibiotic resistance is a global problem of modern medicine. A harbinger of the onset of the post-antibiotic era is the complexity and high cost of developing new antibiotics, as well as their inefficiency due to the rapidly developing resistance of bacteria. The cornerstone of bacterial protection against antibiotics are multidrug resistance pumps (MDR), which are involved in the

formation of resistance to xenobiotics, the export of toxins, the maintenance of cellular homeostasis, the formation of biofilms and persistent cells. MDR pumps are the basis for the nonspecific protection of bacteria, while modification of the drug target, inactivation of the drug, switching of the target or sequestration of the target is the second, specific line of their protection. Thus, the nonspecific protection of bacteria formed by MDR pumps is a barrier that prevents the penetration of antibacterial substances into the cell, which is the main factor determining the resistance of bacteria. Understanding the mechanisms of MDR pumps and a balanced assessment of their contribution to overall resistance, as well as to antibiotic sensitivity, will either seriously delay the onset of the post-antibiotic era, or prevent its onset in the foreseeable future.

Keywords: *multidrug resistance (MDR), pumps, antibiotics, xenobiotics, biofilms, persisters, bacteriophages*

Funding: The research was funded by Russian Science Foundation, project number № 22-15-00099.

Сведения об авторах

Назаров Павел Александрович — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. НИИ ФХБ им А.Н. Белозерского МГУ. Тел.: 8-495-939-51-49; e-mail: nazarovpa@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1857-323X>

Кузнецова Анна Михайловна — студентка кафедры микробиологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-51-49; e-mail: nycterix@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0450-5183>

Каракозова Марина Викторовна — канд. биол. наук, науч. сотр. Сколковского института науки и технологий. Тел.: 8-495-939-51-49; e-mail: mvk752002@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9404-6314>