

УДК 579.22

Л. Ю. Нестерова<sup>a</sup>, А. В. Ахова<sup>a</sup>, М. С. Шумков<sup>c</sup>, А. Г. Ткаченко<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

<sup>b</sup> Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

<sup>c</sup> Институт биохимии им. А. Н. Баха ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

## ДНК-ПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПОЛИАМИНОВ КАК ФАКТОР РЕЗИСТЕНТНОСТИ *ESCHERICHIA COLI* К ЛЕВОФЛОКСАЦИНУ

Изучено влияние биогенных полиаминов (путресцин, спермидин, кадаверин) на чувствительность *Escherichia coli* к действию левофлоксацина, антибиотика фторхинолонового ряда. Объект исследования: клинические штаммы *E. coli* с различной степенью устойчивости к фторхинолонам (чувствительные, переходные и устойчивые). Методы: антибиотикочувствительность оценивали по значению минимальной подавляющей концентрации (МИК), которую определяли модифицированным методом двукратных серийных разведений; о способности антибиотиков и полиаминов влиять на целостность бактериальной ДНК судили по изменению степени фрагментации плазмиды, которую наблюдали после разгонки в агарозном геле; детектирование гидроксильного радикала проводили флуоресцентным методом с использованием 3'-(гидроксифенил)флуоресцеина. Показано, что добавка в среду путресцина и, в большей степени, спермидина способствовала концентрационно-зависимому возрастанию устойчивости бактериальных клеток к левофлоксацину во всех трёх группах микроорганизмов, в то же время кадаверин не оказывал выраженного действия. Анализ ДНК клеток показал, что действие левофлоксацина сопровождается ее повреждением, степень которого зависела от концентрации антибиотика. Присутствие полиаминов препятствовало повреждению ДНК, при этом защитный эффект спермидина был сильнее, чем путресцина. Добавка левофлоксацина приводила к значительному увеличению количества активных форм кислорода (АФК) в клетках, в частности, гидроксильного радикала, а сила эффекта напрямую зависела от концентрации антибиотика. Добавка путресцина и спермидина эффективно снижала продукцию АФК, вызванную воздействием антибиотика. Таким образом, установлено, что в основе защитного эффекта путресцина и спермидина при действии фторхинолоновых антибиотиков лежит ДНК-протекторное действие, обусловленное, в частности, антиоксидантными функциями полиаминов.

**Ключевые слова:** антибиотикорезистентность; полиамины; фторхинолоны; повреждение ДНК; активные формы кислорода.

L. Yu. Nesterova<sup>a</sup>, A. V. Akhova<sup>a</sup>, M. S. Shumkov<sup>c</sup>, A. G. Tkachenko<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

<sup>b</sup> Perm State University, Perm, Russian Federation

<sup>c</sup> Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology RAS, Moscow, Russian Federation

## DNA-PROTECTIVE EFFECT OF POLYAMINES AS THE FACTOR OF *ESCHERICHIA COLI* LEVOFLOXACIN RESISTANCE

Effect of natural polyamines on susceptibility of *Escherichia coli* clinical isolates to fluoroquinolone antibiotic levofloxacin was studied. Objects: *E. coli* clinical isolates of different fluoroquinolone resistance level (sensitive, intermediate and resistant). Methods: estimation of antibiotic minimal inhibitory concentration by the standard 2-fold dilution antimicrobial susceptibility test; registration of DNA damage by agarose gel electrophoresis of pDNA samples extracted out of *E. coli* cells exposed to antibiotics and polyamines; determination of hydroxyl radicals with 3'-(hydroxyphenyl) fluorescein cell staining followed by fluorescent detection with microplate reader. We found that putrescine and spermidine, but not cadaverine, increased significantly the resistance of *E. coli* clinical isolates with different susceptibility to levofloxacin in a concentration-dependent manner. Antibiotic activity of levofloxacin was accompanied by promotion of reactive oxygen species formation and DNA damage in bacterial cells. When added to antibiotic-treated cells, polyamines putrescine and spermidine reduced the intracellular production of reactive oxygen species and prevented DNA damage. Thereby, it was found that polyamines putrescine and spermidine decrease the susceptibility of *E. coli* isolates to fluoroquinolone antibiotic levofloxacin through, in particular, their antioxidant activity.

**Key words:** antibiotic resistance; polyamines; fluoroquinolones; DNA damage; reactive oxygen species.

Интенсивное использование антибиотиков в тилетий способствовало значительному распро-  
клинической практике в течение нескольких деся- странению антибиотикорезистентных форм мик-

роорганизмов, что представляет собой одну из наиболее острых проблем микробиологии и медицины. В связи с этим большое значение приобретает изучение механизмов адаптации микроорганизмов к действию антибактериальных препаратов, знание которых может послужить основой для создания технологий, направленных на подавление распространения антибиотикорезистентных форм микроорганизмов в природе.

В последнее время показано, что в адаптации микроорганизмов ко многим видам неблагоприятных воздействий, таких как голодание, кислотный, тепловой, окислительный и другие виды стресса, принимают участие полиамины [Tkachenko, Nesterova, Pshenichnov, 2001]. Эти биогенные поликатионы присутствуют в клетках всех живых организмов от вирусов до человека и представляют собой алифатические углеводороды с двумя и более аминогруппами. Полиамины (путресцин, кадаверин, спермидин) принимают участие во многих жизненно важных процессах, играя роль универсальных клеточных регуляторов. Ранее нами было показано, что воздействие сублетальных концентраций фторхинолонов на клетки *E. coli* приводит к значительному возрастанию содержания в них полиаминов [Tkachenko, Akhova, Shumkov, Nesterova, 2012]. В то же время мутантные лабораторные штаммы *E. coli*, отобранные по признаку устойчивости к данной группе антибиотиков, характеризуются повышенной активностью поли-

аминсинтезирующей системы [Нестерова, Ткаченко, 2010]. На основании этого было сделано предположение о том, что полиамины могут быть каким-то образом связаны с наблюдаемым нами снижением чувствительности бактериальных клеток к фторхинолонам. В связи с этим, обращает на себя внимание то, что организм человека, являясь средой обитания микроорганизмов, характеризуется высоким содержанием полиаминов во многих органах и тканях. В частности, в кишечнике и в тканях мочеполовой системы их содержание достигает миллимолярных концентраций [Miller-Fleming, Olin-Sandoval, Campbell, 2015]. Известно также, что при развитии раковых заболеваний наблюдается значительное увеличение концентрации полиаминов в пораженном органе, а также в крови и моче [Gogoi, Datey, Wilson et al., 2016], что может оказывать существенное влияние как на нормальную, так и на патогенную микрофлору.

Исходя из этого, целью настоящей работы является исследование роли полиаминов в механизме формирования антибиотикорезистентности природных штаммов *E. coli* с различным уровнем устойчивости к фторхинолонам.

## Материалы и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали штаммы *Escherichia coli*, изолированные в клинических лабораториях г. Перми (табл. 1).

Таблица 1

Клинические изоляты, использованные в работе

Чувствительные		Переходные		Устойчивые	
штамм	МПК ЛФ мкг/мл	штамм	МПК ЛФ мкг/мл	штамм	МПК ЛФ мкг/мл
CI 8-21	0.0012	CI 4-6	2.44	CI 4-3	9.77
CI 7-2	0.0012	CI 7-3	2.44	CI 8-12	9.77
CI 8-25	0.0048	CI 8-10	2.44	CI 9-6	9.77
CI 6-20	0.019	CI 3-7	4.88	CI 7-11	9.77
CI 6-26	0.038	CI 7-8	4.88	CI 6-42	12.2
CI 8-16	0.076	CI 9-7	4.88	CI 7-18	12.2
CI 6-32	0.076	CI 8-3	4.88	CI 8-1	12.2
CI 7-22	0.3	CI 8-13	6.1	CI 8-22	19.54
CI 4-1	0.45	CI 6-4	6.1	CI 8-31	19.54
CI 9-1	0.6	CI 6-29	7.32	CI 8-16	39.08
CI 6-27	1.2	-	-	-	-

Клетки *E. coli* выращивали в течение ночи в колбе со 100 мл LB-бульона (Sigma, USA) в термостатируемом шейкере (37°C, 100 об/мин). Полученную культуру использовали в качестве инокулята для посева в 50 мл LB-бульона, помещенного в колбы объемом 250 мл и культивировали в тех же условиях. Левифлоксацин (Sigma, Germany) и полиамины: путресцин, спермидин и кадаверин (Sigma, Switzerland) вносили при достижении оптической плотности культуры  $OD_{600} = 0.3$  в концентрациях, указанных в подписях к рисунку.

Для изучения фрагментации бактериальной

ДНК использовали культуру штамма *E. coli* RO91 (MC4100( $\lambda$ RZ5:rhoS742::lacZ[hybr]) (R. Henne, Берлинский Университет), трансформированного плазмидой pBR322 (БНИИ СПГУ). Пробы, содержащие равное количество биомассы, отбирали спустя 4 ч. после добавки антибиотика. Клетки осаждали центрифугированием при 16000g в течение 1 мин. при комнатной температуре и однократно отмывали физиологическим раствором.

Выделение плазмидной ДНК осуществляли модифицированным методом щелочного лизиса с использованием набора GenElute Plasmid Miniprep

Kit (Sigma, Germany). Очищенную ДНК смывали с колонки деионизированной водой и подвергали электрофоретическому разделению в 1%-ном агарозном геле (1xTAE-буфер, pH = 7.6, 15 мин., 35 В/см). Регистрацию результатов осуществляли с помощью гель-документирующей системы GelDoc XR (BioRad, USA) после окраски ДНК бромистым этидием.

Критерием для оценки повреждения ДНК служила степень ее фрагментации, наблюдаемая в виде шмера, то есть шлейфа разной интенсивности из мелких фрагментов ДНК в агарозном геле, продолжающегося от полосы линейной плазмиды в направлении более короткоцепочечных полинуклеотидных молекул (рисунок). О способности антибиотиков и полиаминов влиять на целостность бактериальной ДНК судили по изменению степени фрагментации плазмиды.

Детектирование гидроксильного радикала проводили в культуре штамма *E. coli* RO91 флуоресцентным методом с использованием 3'-(гидроксифенил)флуоресцеина (Invitrogen, USA) [Setsukinai, Urano, Kakinuma, 2003].

Антибиотикочувствительность штаммов оценивали по значению минимальной подавляющей концентрации (МПК), которую определяли методом двукратных серийных разведений с использованием иммунологических планшетов (Медполимер, Россия). Для повышения точности определения использовали несколько начальных концентраций антибиотика, различающихся между собой в 1.25 раза, каждая из которых далее подвергалась обычным двукратным разведениям. Для изучения эффекта полиаминов на МПК путресцин, кадаверин или спермидин добавляли в среду культивирования изначально в концентрациях, обозначенных в таблицах и подписях к рисункам.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета стандартных программ Statistica 6.0 ("StatSoft Inc.", 2001). Различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

## Результаты и их обсуждение

По результатам определения минимальной подавляющей концентрации левофлоксацина использованные в работе изоляты были разделены на чувствительные (значения МПК  $< 2$  мкг/мл), переходные (значения МПК 2–8 мкг/мл) и устойчивые (значения МПК  $> 8$  мкг/мл) (табл. 1).

Добавка в питательную среду путресцина и спермидина приводила к значительному возрастанию значений МПК левофлоксацина для клинических изолятов *E. coli* (табл. 2). Действие этих полиаминов проявлялось во всех трех группах микроорганизмов. При этом эффект путресцина и спермидина носил четко выраженный концентрационно-зависимый характер. Присутствие в среде

спермидина в большей степени повышало МПК по сравнению с путресцином, в то же время, добавка кадаверина заметного эффекта на МПК левофлоксацина не оказывала ни в одной из исследованных концентраций. Таким образом, путресцин и, в особенности, спермидин значительно повышают устойчивость *E. coli* к действию левофлоксацина.

Таблица 2

### Влияние полиаминов на минимальную подавляющую концентрацию левофлоксацина

Добавка полиаминов (мМ)	Минимальная подавляющая концентрация			
	чувствительные	переходные	устойчивые	
МПК без полиаминов мкг/мл	0.0012 – 1.2	2.44 – 7.32	9.77 – 39.08	
ПТ	1 мМ	<b>1.25</b> (1;1.5)	<b>1.25</b> (1;1.5)	<b>1.125</b> (1;1.25)
	10 мМ	<b>2</b> (1.5;2)*	<b>1.75</b> (1.5;2)*	<b>1.625</b> (1.25;2)*
	1 мМ	<b>1.75</b> (1.5;2) <sup>+</sup>	<b>1.5</b> (1.25;2)	<b>1.375</b> (1.25;2)
СД	10 мМ	<b>3</b> (2.5;4)* <sup>+</sup>	<b>2.625</b> (2; 3.5)* <sup>+</sup>	<b>2.325</b> (1.5;3.5)* <sup>+</sup>
	1 мМ	<b>1</b> (0.87;1)	<b>1</b> (1;1)	<b>1</b> (0.87;1)
	10 мМ	<b>1</b> (0.87;1)	<b>1</b> (0.87;1.25)	<b>1</b> (0.87;1)

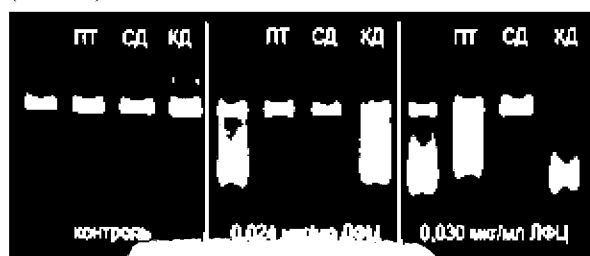
Примечания: ПТ – путресцин; СД – спермидин; КД – кадаверин. В таблице приведены значения отношения МПК в присутствии полиаминов к МПК без полиаминов в виде медианы (жирным шрифтом), в скобках приведены значения квартилей. Курсивом выделены абсолютные значения МПК (диапазон в группе) (мкг/мл).

\* статистически значимое отличие от того же полиамина в конц. 1мМ.

+ статистически значимое отличие от соответствующей концентрации путресцина. Достоверность различий определяли с помощью критерия Манна-Уитни с учетом поправки на множественность сравнений.

Известно, что одним из аспектов бактерицидного действия фторхинолонов является фрагментация бактериальной ДНК [Drlica, Malik, Kerns et al, 2008]. В то же время установлено, что полиамины, благодаря своей поликатионной природе, способны взаимодействовать с отрицательно заряженными компонентами клетки, в первую очередь, ДНК, что приводит к стабилизации её структуры [Douki, Bretonniere, Cadet, 2000]. Исходя из этого, было сделано предположение о том, что в основе протекторного эффекта полиаминов в условиях действия левофлоксацина может лежать их способность предотвращать повреждения ДНК, вызванные антибиотиком. Для проверки данного предположения исследовали состояние плазмидной ДНК, выделенной из клеток чувствительного к левофлоксацину лабораторного штамма *E. coli* RO91 pBR322, подвергнутого в течение 4 ч. сублетальному действию левофлоксацина в присутствии или в отсутствие полиаминов (рисунок).

Результаты электрофоретического разделения ДНК свидетельствуют о том, что левофлоксацин вызывает ее повреждения, регистрируемые в виде характерного шмера в агарозном геле (см. методы). Степень повреждения ДНК зависела от концентрации антибиотика. Присутствие в среде культивирования путресцина и спермидина практически полностью снимало повреждающий эффект более низкой концентрации левофлоксацина (0.024 мкг/мл), что регистрировалось по исчезновению шмера на электрофореграмме. В то же время, более сильное повреждение ДНК, вызванное 0.030 мкг/мл антибиотика, полностью предотвращалось только в присутствии спермидина, но существенно ослаблялось путресцином. Кадаверин заметного действия на степень повреждения ДНК не оказывал. Таким образом, при повреждающем воздействии левофлоксацина полиамины демонстрируют ДНК-протекторный эффект, величина которого усиливается в ряду кадаверин < путресцин < спермидин. Это согласуется с описанным выше влиянием полиаминов на МПК левофлоксацина, где эффективность располагалась в том же порядке (табл. 2).



Влияние полиаминов на степень повреждения ДНК *E. coli* RO91 pBR322 при действии 0.024 мкг/мл или 0.030 мкг/мл левофлоксацина (ЛФЦ).

Контроль – без антибиотика, ПТ – 10 мМ путресцина, КД – 10 мМ кадаверина, СД – 10 мМ спермидина

Известно, что действие антибиотиков сопровождается повышением продукции в клетке активных форм кислорода [Kohanski, Dwyer, Nayete et al., 2007], которое, в свою очередь, может быть причиной повреждения многих жизненно важных структур клетки, в первую очередь ДНК. Результаты проведенных нами исследований показали, что добавка фторхинолона левофлоксацина приводила к значительному увеличению количества активных форм кислорода (АФК), в частности, гидроксильного радикала, в клетках. При этом сила эффекта напрямую зависела от концентрации антибиотика (табл. 3). Добавка путресцина и спермидина эффективно снижала продукцию АФК, индуцированную антибиотиком.

Наблюдаемые нами антиоксидантные свойства полиаминов являются, по-видимому, проявлением их активности в качестве ловушки свободных ра-

дикалов [Das, Misra, 2004]. Благодаря этому, полиамины могут обеспечивать защиту ДНК посредством снижения АФК, продуцируемых в ответ на действие антибиотика. В то же время, некоторые авторы полагают, что защита ДНК полиаминами от повреждения активными формами кислорода в большей степени происходит за счёт конденсации и компактизации структуры нуклеиновой кислоты [Douki, Bretonniere, Cadet, 2000]. Положительно заряженные за счёт протонирования аминогрупп полиамины, как известно, могут связываться с электроотрицательными участками ДНК [Bloomfield, 1996] и изменять её пространственную структуру таким образом, что сайты для атаки гидроксильных радикалов становятся малодоступными [Sy, Hugot, Savoye et al., 1999]. Противодействие полиаминов окислительной составляющей действия антибиотика хорошо иллюстрируется существенным возрастанием значений МПК в их присутствии для клинических штаммов с изначально высокой устойчивостью к левофлоксацину (табл. 2). Высокий уровень антибиотикорезистентности чаще всего обусловлен отбором мутантов с генетическим изменением мишени, на которую действует антибиотик (ДНК-гираза для фторхинолонов) [Kern, Oethinger, Jellen-Ritter et al., 2000]. В этом случае возрастание значений МПК левофлоксацина в ответ на добавку полиаминов, вероятно, является следствием снятия окислительного стресса как неспецифической составляющей антибактериального эффекта фторхинолонов.

Таблица 3

**Влияние полиаминов на продукцию гидроксильных радикалов в клетках *E. coli*, подвергнутых действию левофлоксацина**

Антибиотик (мкг/мл)	Контроль без полиаминов	Путресцин (10 мМ)	Спермидин (10 мМ)
ЛФ (0.024)	230±35*	157±42**	170±41**
ЛФ (0.030)	348±59*	250±12**	255±15**

Примечания. Контрольное значение без добавки антибиотика 121±34.

В таблице приведены средние значения флуоресценции (RFU)±σ

\*- статистически значимое отличие от контроля без добавки антибиотика

\*\* - статистически значимое отличие от контроля без добавки полиаминов. Достоверность различий определяли с помощью критерия Ньюмена-Кейлса.

Наряду с неспецифическим антиоксидантным эффектом полиаминов нельзя исключить возможность их защитного действия на уровне мишени антибиотика. Связываясь с ДНК, полиамины могут препятствовать образованию тройного комплекса (фторхинолон – ДНК – ДНК-гираза), что приводит к предотвращению появления разрывов ДНК и образования мелких фрагментов нуклеиновой кислоты [Drlica, Malik, Kerns et al., 2008], которые, на-

ряду с продуктами окислительного расщепления ДНК, вносят вклад в формирование наблюдаемого нами шмера (рисунок). Путресцин и спермидин, обладающие более выраженной аффинностью к ДНК по сравнению с кадаверином [Ruiz-Chica, Medina, Sanchez-Jimenez, 2001], наиболее эффективно противодействуют ДНК-фрагментации. Это согласуется с ещё одним из проявлений взаимодействия полиаминов с ДНК – более прочным удержанием комплементарных нитей от расхождения в процессе денатурирующего воздействия [Agostinelli, 2010]. Это свойство полиаминов может служить помехой для процесса взаимодействия фторхинолонов с мишенью, поскольку известно, что антибиотики данной группы обладают более высоким сродством к одноцепочечной ДНК [Drlica, Malik, Kerns et al., 2008].

### Выводы

Таким образом, защитная роль полиаминов в бактериальных клетках при действии фторхинолонов обусловлена, по меньшей мере, двумя их функциями: антиоксидантной и ДНК-протекторной, каждая из которых в конечном итоге направлена на противодействие ДНК-повреждающему эффекту левофлоксацина, что приводит к повышению выживаемости микроорганизмов в условиях воздействия антибиотика.

Работа поддержана грантом РФФИ №16-34-00095 мол\_а.

### Библиографический список

Нестерова Л.Ю., Ткаченко А.Г. Роль факторов общей стрессорной устойчивости в формировании резистентности *Escherichia coli* к фторхинолонам // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2010. Вып. 1 (1). С. 21–26.

Agostinelli E. Polyamines in biological systems // *Amino Acids*. 2010. Vol. 38, № 2. P. 351–352.

Bloomfield V.A. DNA condensation // *Current Opinion in Structural Biology*. 1996. Vol. 6, № 3. P. 334–341.

Das K.C., Misra H.P. Hydroxyl radical scavenging and singlet oxygen quenching properties of polyamines // *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2004. Vol. 262, № 1–2. P. 127–33.

Douki T., Bretonniere Y., Cadet J. Protection against radiation-induced degradation of DNA bases by polyamines // *Radiation Research*. 2000. Vol. 153. P. 29–35.

Drlica K., Malik M., Kerns R.J., Zhao X. Quinolone-mediated bacterial death // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2008. Vol. 52, № 2. P. 85–92.

Gogoi M., Datey A., Wilson K.T., Chakravortty D. Dual role of arginine metabolism in establishing pathogenesis // *Current Opinion in Microbiology*. 2016. Vol. 29. P. 43–48.

Kern W.V., Oethinger M., Jellen-Ritter A., Levy S.V. Non-Target Gene Mutations in the Development of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2000. Vol. 44, № 4. P. 814–820.

Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., Collins J.J. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics // *Cell*. 2007. Vol. 130, № 5. P. 797–810.

Miller-Fleming L., Olin-Sandoval V., Campbell K., Ralser M. Remaining mysteries of molecular biology: the role of polyamines in the cell // *Journal of Molecular Biology*. 2015. Vol. 427, № 21. P. 3389–3406.

Ruiz-Chica J., Medina M.A., Sánchez-Jiménez F., Ramírez F.J. Fourier transform Raman study of the structural specificities on the interaction between DNA and biogenic polyamines // *Biophysical Journal*. 2001. Vol. 80, № 1. P. 443–454.

Setsubukinai K., Urano Y., Kakinuma K., Majima H.J., Nagano T. Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species // *The Journal of Biological Chemistry*. 2003. Vol. 278, № 5. P. 3170–3175.

Sy D., Hugot S., Savoye C., Ruiz S., Charlier M., Spothem-Maurizot M. Radioprotection of DNA by spermine: a molecular modelling approach // *International Journal of Radiation Biology*. 1999. Vol. 75, № 8. P. 953–961.

Tkachenko A., Akhova A., Shumkov M., Nesterova L. Polyamines reduce oxidative stress in *Escherichia coli* cells exposed to bactericidal antibiotics // *Research in Microbiology*. 2012. Vol. 163, № 2. P. 83–91.

Tkachenko A., Nesterova L., Pshenichnov M. The role of the natural polyamine putrescine in defense against oxidative stress in *Escherichia coli* // *Archives of Microbiology*. 2001. Vol. 176. P. 155–157.

### References

Agostinelli E. Polyamines in biological systems. *Amino Acids*. V. 38, N 2 (2010): pp. 351-352.

Bloomfield V.A. DNA condensation. *Current Opinion in Structural Biology* V. 6, N 3 (1996): pp. 334-341.

Das K.C., Misra H.P. Hydroxyl radical scavenging and singlet oxygen quenching properties of polyamines. *Molecular and Cellular Biochemistry*. V. 262, N 1-2 (2004): pp. 127-33.

Douki T., Bretonniere Y., Cadet J. Protection against radiation-induced degradation of DNA bases by polyamines. *Radiation Research*. V. 153 (2000): pp. 29-35.

Drlica K., Malik M., Kerns R.J., Zhao X. Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. V. 52, N 2 (2008): pp. 85-92.

Gogoi M., Datey A., Wilson K.T., Chakravortty D. Dual role of arginine metabolism in establishing pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology*.

- V. 29 (2016): pp. 43-48.
- Kern W.V., Oethinger M., Jellen-Ritter A., Levy S.V. Non-Target Gene Mutations in the Development of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. V. 44, N 4 (2000): pp. 814-820.
- Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B., Lawrence C.A., Collins J.J. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*. V. 130, N 5 (2007): pp. 797-810.
- Miller-Fleming L., Olin-Sandoval V., Campbell K., Ralser M. Remaining mysteries of molecular biology: the role of polyamines in the cell. *Journal of Molecular Biology*. V. 427, N 21 (2015): pp. 3389-3406.
- Nesterova L.Yu., Tkachenko A.G. [The role of general stress adaptation factors in the development of *Escherichia coli* fluoroquinolone resistance] *Vestnik Permskogo Universiteta. Ser. Biologiya*. Iss. 1 (2010): pp. 21-26. (In Russ.).
- Ruiz-Chica J., Medina M.A., Sánchez-Jiménez F., Ramírez F.J. Fourier transform Raman study of the structural specificities on the interaction between DNA and biogenic polyamines. *Biophysical Journal*. V. 80, N 1 (2001): pp. 443-454.
- Setsukinai K., Urano Y., Kakinuma K., Majima H.J., Nagano T. Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species. *The Journal of Biological Chemistry*. V. 278, N 5. (2003): pp. 3170-3175.
- Sy D., Hugot S., Savoye C., Ruiz S., Charlier M., Spothem-Maurizot M. Radioprotection of DNA by spermine: a molecular modelling approach. *International Journal of Radiation Biology*. V. 75, N8, (1999): pp. 953-961.
- Tkachenko A., Akhova A., Shumkov M., Nesterova L. Polyamines reduce oxidative stress in *Escherichia coli* cells exposed to bactericidal antibiotics. *Research in Microbiology*. V. 163, N 2 (2012): pp. 83-91.
- Tkachenko A., Nesterova L., Pshenichnov M. The role of the natural polyamine putrescine in defense against oxidative stress in *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*. V. 176 (2001): pp. 155-157.

Поступила в редакцию 15.01.2016

#### Об авторах

Нестерова Лариса Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН 614081, Пермь, ул. Голева, 13; larisa.nesterova@bk.ru

Ахова Анна Викторовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории адаптации микроорганизмов ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН 614081, Пермь, ул. Голева, 13; akhovan@mail.ru

Шумков Михаил Сергеевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимии стрессов микроорганизмов Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН 119071, Москва, Ленинский пр-т, 33, 2; shumkovm@gmail.com

Ткаченко Александр Георгиевич, доктор медицинских наук, зав. лабораторией адаптации микроорганизмов ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН 614081, Пермь, ул. Голева, 13. профессор кафедры микробиологии иммунологии ФГБОУВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет» 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; agtkachenko@iegm.ru; (342)2122159

#### About the authors

Nesterova Larisa Yurievna, candidate of biology, senior scientist of the laboratory of microorganisms adaptation Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS. 13, Golev str., Perm, Russia, 614081; larisa.nesterova@bk.ru

Akhova Anna Viktorovna, candidate of biology, research assistant of the laboratory of microorganisms adaptation Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS. 13, Golev str., Perm, Russia, 614081; akhovan@mail.ru

Shumkov Mikhail Sergeevich, candidate of biology, research assistant of the laboratory of biochemistry of stresses in microorganisms Bach Institute of Biochemistry, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences. 33, bld. 2, Leninsky Ave., Moscow, Russia, 119071; shumkovm@gmail.com

Tkachenko Alexander Georgievich, head of the laboratory of microorganisms adaptation Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS. 13, Golev str., Perm, Russia, 614081. professor of the Department of Microbiology and immunology Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; agtkachenko@iegm.ru; (342)2122159