

**Издательство «Наука»**  
**Редакция журнала**  
**«МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ»**

117997 Москва, ГСП-7, ул. Профсоюзная, 90

тел. (499) 343-78-07

Web Site <http://www.molecbio.ru>

e-mails: [jrmolbio@gmail.com](mailto:jrmolbio@gmail.com); [usinna@mail.ru](mailto:usinna@mail.ru)

23.10.2017 г.

Редакция журнала «Молекулярная биология» подтверждает, что статья *В. А. Чистякова, Е. В. Праздновой, М. С. Мазанко, М. Н. Чурилова, В. К. Чмыхало* «Развитие резистентности к антибиотикам у бактерий при противоопухолевой терапии препаратами на основе платины» прошла рецензирование и принята к печати в нашем журнале.

Статья будет опубликована в №2 2018 г. Задержка публикации связана с тем, что годовой объем не позволил нам опубликовать все статьи, сверстанные по номеру 5 2017 г., и выходом подряд двух тематических номеров (№6 2017 г. и №1 2018 г.).

Зав. редакцией

Усанова И.А.



**Академиздатцентр «Наука» РАН**  
**Редакция журнала**  
**«Молекулярная биология»**  
**117997 ГСП-7, Москва В-485,**  
**Профсоюзная ул., д.90**

УДК 615.065; 579.25

## РАЗВИТИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У БАКТЕРИЙ ПРИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРЕПАРАТАМИ НА ОСНОВЕ ПЛАТИНЫ

© 2017 г. В. А. Чистяков, Е. В. Празднова\*, М. С. Мазанко,  
М. Н. Чурилов, В. К. Чмыхало

Академия биологии и биотехнологии Южного федерального университета,  
Ростов-на-Дону, 344090

\*e-mail: prazdnova@sfedu.ru

Поступила в редакцию 14.06.2016 г.

Принята к печати 09.11.2016 г.

Применение противоопухолевых средств на основе платины сдерживается не только вызываемыми ими побочными эффектами, но и влиянием на метагеном микрофлоры больного. Обладающие мутагенными и генотоксическими свойствами препараты могут вызывать мутации у патогенных микроорганизмов, способствуя возникновению у них устойчивости к антимикробным средствам и развитию осложнений после химиотерапии. Влияние цисплатина и оксалиплатина на микроорганизмы изучено с использованием биосенсоров – штаммов *Escherichia coli* MG1655 pKatG-lux (на пероксид водорода), pSoxS-lux (на супероксидный анион-радикал) и pColD-lux (на повреждения ДНК). Биосенсорный тест выявил высокую генотоксичность обоих препаратов и некоторые различия в спектре генерируемых ими активных форм кислорода. Показано, что аскорбиновая кислота снижает генотоксичность цисплатина на 41%. Нелетальные дозы цисплатина в 3–7 раз увеличивали частоту мутаций устойчивости к рифампицину и ципрофлоксацину у *E. coli*. Аскорбат снижал уровень индуцированного мутагенеза на 65%. По-видимому, действие этих препаратов связано с генерацией активных форм кислорода и индукцией SOS-ответа. Риск вторичных инфекций, осложненных антибиотикорезистентностью микроорганизмов, может быть снижен с помощью антиоксидантных и антимутагенных препаратов, однако при этом необходимо учитывать и степень возможного снижения их противоопухолевой активности.

**Ключевые слова:** цисплатин, оксалиплатин, SOS-ответ, антибиотикорезистентность, активные формы кислорода, антиоксиданты

**DOI:** ...

Химиотерапия опухолей, как хорошо известно, может приводить к развитию ряда побочных эффектов. Гораздо менее изучено возникновение вторичных инфекций, вызванных патогенами, устойчивость которых к антимикробным средствам обусловлена мутагенным действием противоопухолевых средств.

Многие штаммы возбудителей становятся устойчивыми не только к антибиотикам, но и ко многим химиотерапевтическим средствам, т.е. приобретают множественную лекарственную устойчивость. Такие бактерии, например метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA), устойчивы и к дезинфицирующим средствам, что делает их особо опасными [1, 2].

Устойчивость к антибиотикам может возникать под действием не только самих антибиотиков, но

и любых средств, обладающих генотоксической активностью. Излечивая с их помощью первичные заболевания, пациент рискует получить осложнения в виде возникновения и распространения резистентной микрофлоры. К таким средствам относятся, в частности, широко применяемые в терапии опухолей препараты на основе соединений платины.

Мутагенное действие препаратов платины и его механизмы детально описаны [3], однако мутации, возникающие в метагеноме микрофлоры пациента, до сих пор недостаточно изучены.

Чтобы изучить генотоксичность двух препаратов на основе платины – цисплатина и оксалиплатина – и оценить ее связь с окислительным стрессом, мы использовали бактериальные биосенсоры, реагирующие на окислительный стресс и повреждения

ДНК. Эту методику ранее успешно применяли при изучении про- и антиоксидантных свойств различных соединений [4], а также механизмов действия физических факторов [5]. Принципиальная возможность определения генотоксичности препаратов платины в аналогичном тесте показана нашими коллегами из ГосНИИ Генетика [6].

Мы использовали биосенсоры, реагирующие на активные формы кислорода (АФК), чтобы выявить возможные специфические особенности действия двух препаратов.

Концентрации препарата, подобранные с помощью биосенсорного теста, были использованы в экспериментах по индуцированному мутагенезу.

В качестве потенциального протективного средства использовали аскорбиновую кислоту, антимуtagenная активность которой была показана ранее на эукариотических клетках [7].

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**Биосенсорный тест.** Экспрессию индуцируемых стрессом оперонов анализировали в рекомбинантных штаммах *Escherichia coli* MG 1655 (pSoxS-lux), MG1655 (pKatG-lux), MG1655 (pColD-lux), содержащих плазмиды с опероном *luxCDABE* фотобактерии *Photobacterium luminescens* под контролем промоторов *E. coli*. Биосенсоры с промоторами PkatG и PsoxS позволяют регистрировать экспрессию оперонов, связанных с защитой от образования в клетке гидроперекисей и супероксидного анион-радикала соответственно. Биосенсор с плазмидой pColD фиксирует присутствие в клетке факторов, вызывающих индукцию SOS-ответа [8].

Бактерии культивировали в жидкой среде LB при 37°C до достижения ранней или средней логарифмической фазы. Ночную культуру разбавляли свежей средой до плотности 0.01–0.1 ед. Мак-Фарланда ( $3 \times 10^7$ – $3 \times 10^6$  клеток/мл).

Измерения проводили при помощи денситометра DEN-1B “Biosan” (Латвия). Затем суспензию подращивали в течение 2 ч до ранней логарифмической фазы. Аликвоты этой культуры (90 мкл) переносили в стерильные ячейки планшета и добавляли в них по 10 мкл раствора препарата в деионизированной воде (кроме контрольных ячеек). В контрольные ячейки добавляли 10 мкл деионизированной воды. После обработки планшет с пробами помещали в люминометр и инкубировали при 37 °С. Интенсивность биолюминесценции измеряли каждые 10 мин, используя микропланшетный люминометр LM-01T “Immunotech

Co.” (Латвия). И в жидкую, и в твердую среду добавляли антибиотик ампициллин (100 мкг/мл).

Аскорбиновую кислоту (“Люми”, Россия) использовали в конечной концентрации 1 мг/л.

**Мутагенез.** В качестве индукторов мутагенеза использовали препараты на основе платины в концентрациях, подобранных в биосенсорном тесте на генотоксичность. Для всех штаммов микроорганизмов использовали протокол, описанный ниже.

Ночную культуру микроорганизмов инкубировали при 37 °С в присутствии индуктора мутагенеза в течение 18–20 ч.

В контрольную пробирку добавляли 900 мкл питательной среды LB, 100 мкл стерильного физиологического раствора. В опытную – 900 мкл питательной среды LB, 100 мкл раствора индуктора в стерильном физиологическом растворе в нужной концентрации. Культуру клеток переносили в подготовленные пробирки с чашек Петри. Через 18 ч плотность культуры доводили до 1–2 ед. Мак-Фарланда ( $3$ – $6 \times 10^8$  КОЕ) свежей средой LB. Оптическую плотность раствора измеряли с помощью денситометра DEN-1B. На следующем этапе готовили серию разведений культуры 1: 10 в физиологическом растворе (принимая оптическую плотность первоначальной культуры за 1).

На чашки Петри с агаризованной средой LB высевали 100 мкл культуры с добавлением и без добавления антибиотика согласно стандартной методике [9]. Через 48 ч проводили подсчет колоний.

**Статистическая обработка.** Коэффициент индукции (КИ) ответа биосенсоров ( $I_s$ ) рассчитывали по формуле:  $I_s = (L_e/L_k) - 1$ , где

$L_e$  – интенсивность свечения в экспериментальной лунке,  $L_k$  – интенсивность свечения в контрольной лунке.

Протективный эффект ( $P$ ,%) рассчитывали по формуле:

$$P = (1 - (I_a/I_p)) \times 100\%,$$

где  $I_a$  и  $I_p$  – КИ SOS-ответа биосенсоров без и при протективном воздействии [10].

Для значений протективной активности подсчитывали 95-ый доверительный интервал

$$\left( \bar{P} - t_{кр} \times \frac{s}{\sqrt{n}}; \bar{P} + t_{кр} \times \frac{s}{\sqrt{n}} \right)$$

Статистическую значимость определяли при помощи  $t$ -критерия Стьюдента. Все значения КИ выше 1.5 считали статистически значимыми. Каждый опыт проводили не менее чем в повторностях.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение активности препаратов платины на *Lux*-биосенсорах

Показано, что цисплатин индуцирует в клетках *E. coli* экспрессию *Res*-оперона и генов *ColD*, т.е. запускает механизм SOS-репарации.

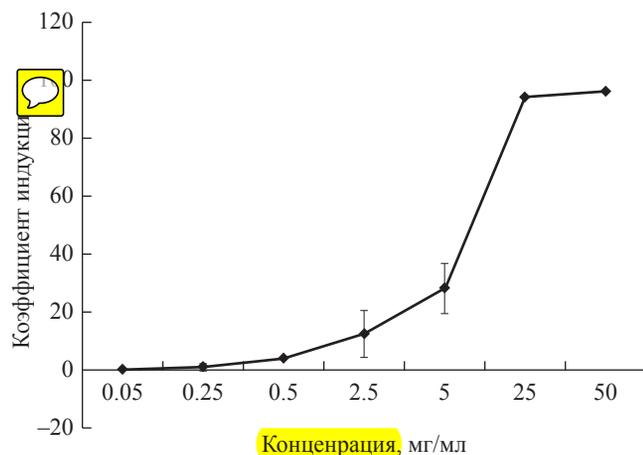
С использованием биосенсоров были определены нелетальные и максимально эффективные дозы препаратов, которые могут обладать наибольшим мутагенным действием.

В биосенсорном тесте обнаружена высокая генотоксическая активность цисплатина (рис. 1) и незначительная индукция им супероксидного анион-радикала (максимальное значение КИ 1.04 при концентрации цисплатина 5 мг/мл) при отсутствии статистически значимого образования пероксида водорода.

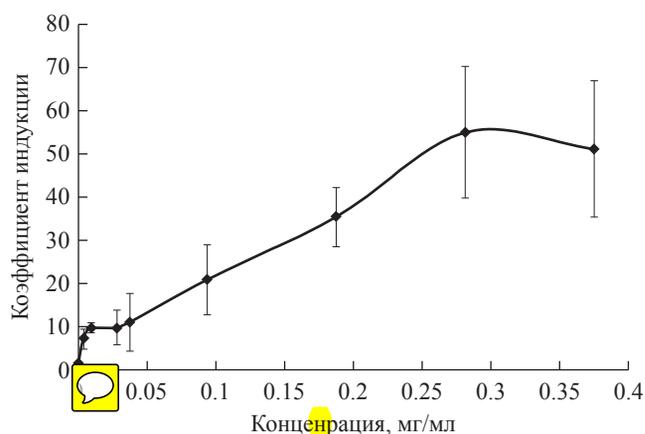
В биосенсорном тесте с *ColD-lux*-штаммом оксалиплатин проявил сходную активность (рис. 2), тогда как в тесте со штаммом *KatG-lux*-его активность была значительно выше, чем у цисплатина (рис. 3).

## Снижение генотоксичности препаратов платины под действием аскорбата

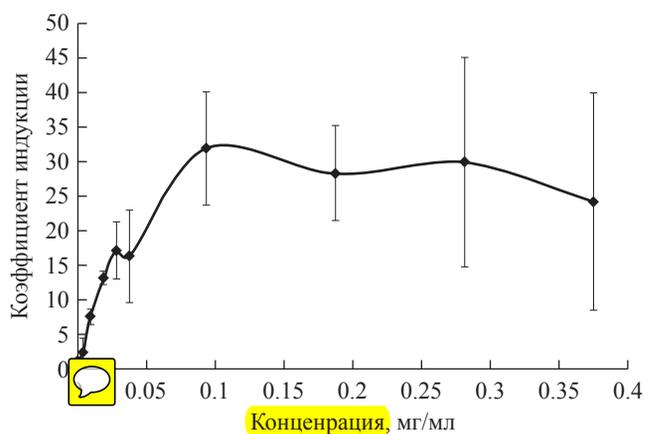
Показано, что в использованной нами модельной системе аскорбат снижает действие препаратов платины. В случае цисплатина и оксалиплатина протективный эффект аскорбата в концентрации 1 мг/мл достигал 41.34 и 86.37% соответственно (рис. 4).



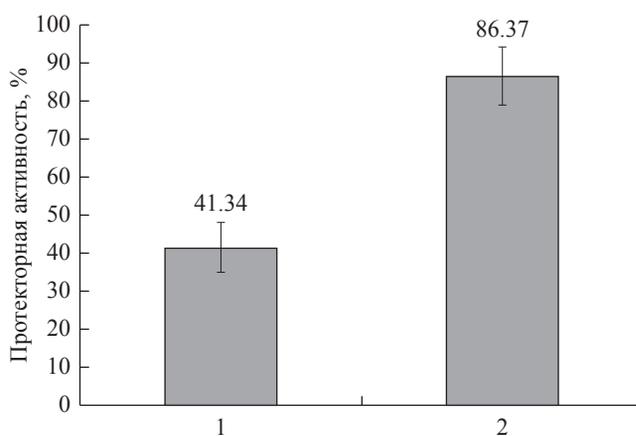
**Рис. 1.** Индукция штамма *E. coli* MG1655 (*ColD-lux*) цисплатином в концентрации 0.005–50 мг/мл. Максимальный коэффициент индукции 95.9.



**Рис. 2.** Индукция *E. coli* MG1655 (*ColD-lux*) оксалиплатином в концентрации 0.0005–5 мг/мл. Максимальное значение коэффициента индукции 54.85.



**Рис. 3.** Индукция *E. coli* MG 1655 (*KatG-lux*) оксалиплатином в концентрации 0.00001–1 мг/мл. Максимальный коэффициент индукции 31.9. Статистически значимая индукция *Sox-lux*-штамма не обнаружена.



**Рис. 4.** Протективный эффект аскорбата (1 мг/мл) в клетках, обработанных цисплатином и оксалиплатином, по данным теста с биосенсором *E. coli* MG1655 (*pColD-lux*).

### Цисплатин увеличивает частоту мутаций устойчивости к антибиотикам

Установлено, что подобранные с помощью био-сенсорного теста нелетальные для исследованных штаммов дозы цисплатина вызывают у *E. coli* MG 1655 3–7-кратное увеличение частоты мутантов, устойчивых к рифампицину и ципрофлоксацину. Диоксидин и цисплатин в 2–5 раз повышают частоту мутаций устойчивости к азитромицину в клетках *Bacillus amyloliquefaciens* В-1895, и в 2 и 3 раза – частоту мутантов, устойчивых к рифампицину в штамме *E. coli* ATCC 25922 соответственно.

Цисплатин индуцировал значительное увеличение числа резистентных к рифампицину клеток (таблица), причем в концентрации 50 мг/мл в 5.8 раза более эффективно, чем в концентрации 25 мг/мл.

Наблюдала также повышение частоты мутантов, устойчивых к ципрофлоксацину, по сравнению с частотой спонтанного мутагенеза. Цисплатин увеличивал частоту мутагенеза в среднем в 3 раза (опыт проведен на двух штаммах *E. coli*).

Сходный эффект получен и у грамположительных бактерий. Так, цисплатин индуцировал увеличение в 1.7 раза частоты возникновения резистентности к азитромицину у *B. amyloliquefaciens* В-1895 по сравнению со спонтанным мутагенезом (таблица).

### Аскорбат снижает уровень мутагенеза, индуцированного цисплатином

В использованной нами модельной системе добавление аскорбата в концентрации 1 мг/л снижало уровень как спонтанного, так и индуцированного цисплатином мутагенеза (рис. 5). Выживаемость клеток при этом не изменялась.

Снижение уровня спонтанных мутаций под действием аскорбата можно объяснить повышением антиоксидантной защиты. Окислительный стресс способен активировать процессы, лежащие

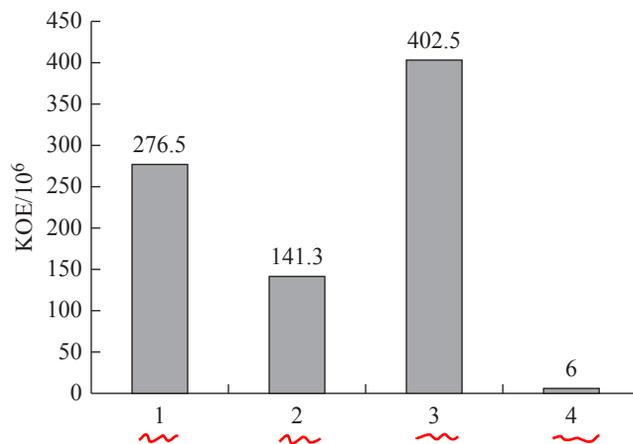


Рис. 5. Количество клеток *E. coli* MG 1655, резистентных к рифампицину, при внесении в культуру физиологического раствора (контроль) (1), аскорбата 1 мг/л (2), цисплатина 50 мг/мл (3), цисплатина и аскорбата в указанной концентрации (4).

в основе мутагенеза, что нивелируется присутствием мощного антиоксиданта – аскорбата. Этим же можно объяснить и снижение уровня мутагенеза при комбинированной обработке аскорбатом и цисплатином.

В случае оксалиплатина статистически значимого снижения уровня мутагенеза не обнаружено.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Цисплатин – противоопухольевый препарат, который обеспечивает формирование внутрищечечных N7-аддуктов между соседними остатками пуринов в молекулах ДНК. Цитотоксическое действие цисплатина обусловлено индукцией программируемой клеточной смерти (апоптоза) [11–13].

Оксалиплатин (оксиплат) – препарат нового поколения, часто применяемый в качестве альтернативы цисплатину, представляет собой комплекс платины с оксалатом и 1,2-диаминоциклогексаном,

Таблица. Увеличение частоты мутаций устойчивости к антибиотикам в клетках бактерий под действием цисплатина

Клетки	Антибиотик	Спонтанный мутагенез	Цисплатин, 50 мг/мл
<i>E. coli</i> MG1655	Рифампицин	$9.73 \times 10^{-7}$	$1211.00 \times 10^{-7}$
<i>E. coli</i> MG1655	Ципрофлоксацин	$10 \times 10^{-4}$	$37 \times 10^{-4}$
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ципрофлоксацин	$6.5 \times 10^{-8}$	$20.7 \times 10^{-8}$
<i>B. amyloliquefaciens</i> В-1895	Азитромицин	$7.8 \times 10^{-7}$	$13.34 \times 10^{-7}$

который вызывает формирование платиновых внутрипочечных сшивок, что приводит к остановке клеточного цикла и гибели клеток. Оксалиплатин подвергается биотрансформации с образованием водных производных, взаимодействующих с ДНК и нарушающих ее синтез. Побочные эффекты у этого препарата менее выражены, чем у цисплатина [14, 15].

Действие оксалиплатина сходно с действием цисплатина, однако существует и ряд важных отличий. Так, эти препараты по-разному взаимодействуют с системой репарации мисматчей (ММР). Аддукты цисплатина распознаются этой системой, запуская с-Abl/p73-путь апоптоза, тогда как аддукты оксалиплатина системой ММР не распознаются, по-видимому, из-за неполярности диаминоциклогексанового кольца [15].

Широкий спектр побочных эффектов, а также сильное генотоксическое и мутагенное действие сильно ограничивают применение цисплатина [11–13]. Повреждение ДНК, индуцированное цисплатином, может привести к образованию вторичных опухолей спустя годы после проведения химиотерапии [13]. Кроме того, возможно появление мутаций, приводящих к устойчивости как к цисплатину, так и другим лекарственным средствам [12].

Помимо прямого взаимодействия с ДНК и образования аддуктов, мутагенные и цитотоксические свойства цисплатина могут реализоваться путем индукции окислительного стресса и образования АФК как прямо, так и косвенно [16–18]. Это мнение подтверждается, в том числе и тем, что некоторые антиоксиданты, в частности аскорбат [19], способны снижать мутагенный потенциал цисплатина.

Окислительный стресс играет роль и в реализации эффектов оксалиплатина [17]. Показано, что природные антиоксиданты силибинин и  $\alpha$ -токоферол снижают нейротоксичность как оксалиплатина, так и цисплатина [20].

Как можно видеть из представленных данных, спектр и интенсивность образования АФК двумя препаратами платины различаются. Цисплатин не проявил активности в опытах с биосенсором, реагирующим на пероксид водорода, показал слабую активность в опытах с биосенсором, реагирующим на супероксидный анион-радикал, тогда как оксалиплатин, напротив, вызывал экспрессию соответствующего оперона KatG-lux-штамма, демонстрируя способность к образованию пероксида водорода. Поскольку именно с АФК связывают ряд побочных эффектов этих препаратов, можно

предположить существование различий в механизмах развития побочных эффектов.

По-видимому, у бактерий вклад АФК в мутагенез, вызванный цисплатином, не так значителен, как в клетках эукариот.

Поскольку самые высокие значения КИ для обоих препаратов получены в опытах с биосенсорным штаммом, реагирующим на повреждения ДНК, можно предположить, что основной механизм мутагенеза связан с образованием однопочечных разрывов ДНК и последующим запуском SOS-ответа.

Известно, что SOS-репарация играет важную роль в адаптации бактерий к деструктивным факторам среды [21]. SOS-ответ вовлечен в формирование устойчивости бактерий к антибиотикам. В частности, обработка клеток *E. coli* ципрофлоксацином приводила к экспрессии белков SOS-ответа, а также к быстрому образованию мутантов, устойчивых к ципрофлоксацину. Однако у бактерий, которые содержат нерасщепляемый белок LexA, а значит, неспособны к SOS-ответу, отсутствует резистентность к ципрофлоксацину [22]. Важную роль SOS-ответ играет и в формировании устойчивости клеток *E. coli* к  $\beta$ -лактамам антибиотикам [23]. Все это указывает на то, что блокирование SOS-ответа может использоваться для снижения скорости формирования устойчивости бактерий к антибиотикам.

Изучение механизмов возникновения мутаций устойчивости к рифампицину и ципрофлоксацину, обусловленных применением этих препаратов, позволило предположить участие в них именно активации SOS-ответа. В качестве средства компенсации выявленных негативных эффектов предложено обратить внимание на соединения, ингибирующие SOS-ответ [22].

Таким образом, можно выделить две основные стратегии решения проблемы влияния антинеопластических препаратов на микрофлору: применение антиоксидантов (в случае препаратов, способных вызывать окислительный стресс в бактериальных моделях, в частности, оксалиплатина) и ингибиторов SOS-ответа (в случае таких препаратов, как цисплатин, эффект которых связан в первую очередь с повреждением ДНК). Поиск таких ингибиторов еще продолжается, хотя некоторые перспективные препараты уже известны, в частности, сурамин [24].

При анализе влияния цисплатина на развитие антибиотикоустойчивости патогенной микрофлоры следует учитывать фармакодинамику препарата. Концентрации цисплатина, использованные нами,

достаточно высоки по сравнению с используемыми в терапии. Однако при длительном курсе химиотерапии нельзя исключать возможности накопления негативных эффектов цисплатина.

“Мутационный груз” устойчивости к антимикробным препаратам, по нашему мнению, не следует рассматривать как неизбежное следствие применения лекарственных средств, эффективность которых подтверждена многолетней практикой. Их негативные эффекты могут быть скомпенсированы более точной дозировкой, а также применением антимутагенов, защищающих ДНК патогенных бактерий, но не взаимодействующих с терапевтическими мишенями, такими как геном раковых клеток, белки, РНК и мембраны патогенных микроорганизмов и др.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (проект № 16-16-04032 “Замедление репродуктивного старения кур с помощью культур пробиотических микроорганизмов-продуцентов веществ с антиоксидантной и ДНК-протекторной активностью”).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- de Lencastre H., Oliveira D., Tomasz A. (2007) Antibiotic resistant *Staphylococcus aureus*: a paradigm of adaptive power. *Curr. Opin. Microbiol.* **10**, 428–435.
- Livermore D.M. 2004. The need for new antibiotics. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**, 1–9.
- Silva M.J., Costa P., Dias A., et al. (2005) Comparative analysis of the mutagenic activity of oxaliplatin and cisplatin in the *Hprt* gene of CHO cells. *Environ. Mol. Mutagen.* **46**(2), 104–115.
- Чистяков В.А., Празднова Е.В., Гутникова Л.В., и др. (2012) Супероксидустраниющая активность производного пластохинона – 10-(6'-пластохинонил)децилтрифенилфосфония (SkQ1). *Биохимия.* **77**(7), 932–935. (Для англ. версии – Chistyakov V.A., Prazdnova E.V., Gutnikova L.V., et al. (2012) Superoxide scavenging activity of plastoquinone derivative 10-(6'-plastoquinonyl) decyltriphenylphosphonium (SkQ1). *Biochemistry (Mosc.)* **77**(7), 776–778.)
- Prazdnova E.V., Chistyakov V.A., Sazykina M.A., et al. (2014) Study of prooxidant action of ultraviolet radiation with wavelength 258 nm using bacterial biosensors. *MEJSR.* **21**(8), 1333–1340
- Манухов И.В., Котова В.Ю., Мальдов Д.Г., и др. (2008) Индукция окислительного стресса и SOS-ответа в бактериях *Escherichia coli* растительными экстрактами: роль гидроперекисей и эффект синергизма при совместном действии с цисплатиной. *Микробиология.* **77**(5), 590–597. (Для англ. версии – Manukhov I.V., Kotova V.I.,
- Maldov D.K., et al. (2008) Induction of oxidative stress and SOS response in *Escherichia coli* by vegetable extracts: the role of hydroperoxides and the synergistic effect of simultaneous treatment with cisplatin. *Mikrobiologiya.* **77**(5), 523–529.)
- De Martinis B.S., Bianchi M.D. (2001) Effect of vitamin C supplementation against cisplatin-induced toxicity and oxidative DNA damage in rats. *Pharmacol Res.* **44**(4), 317–320.
- Zavilgelsky G.B., Kotova V. Yu., Manukhov I.V. (2007) Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide. *Mutat. Res.* **634**, 172–176.
- Семина Н.А., Сидоренко С.В., Резван С.П. (2004) Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания). *Клин. микробиол. антимикр. химиотер.* **6**(4), 1890–1904. (Для англ. версии – Semin N.A., Sidorenko S.V., Rezvan S.P. (2004) Guidelines for Susceptibility Testing of Microorganisms to Antibacterial Agents. *Clin. Microbiol. Antimicrob. Chemother.* **6**(4), 1890–1904.)
- Prazdnova E.V., Chistyakov V.A., Churilov M.N., et al. (2015) DNA-protection and antioxidant properties of fermentat from *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895 and *Bacillus subtilis* KATMIRA1933. *Lett. Appl. Microbiol.* **61**(6), 549–554.
- Aly M.S., Ashour M.B., El Nahas S.M., et al. (2003) Genotoxicity and cytotoxicity of the anticancer drugs gemcitabine and cisplatin, separately and in combination: *in vivo* studies. *J. Biol. Sci.* **11**, 961–972.
- Lin X., Ramamurthi K., Mishima M., et al. (2001) P53 modulates the effect of loss of DNA mismatch repair on the sensitivity of human colon cancer cells to the cytotoxic and mutagenic effects of cisplatin. *Cancer Res.* **4**, 1508–1516.
- Brozovic G., Orsolich N., Knezevic F., et al. (2008) Evaluation of DNA damage *in vivo* induced by combined application of cisplatin and sevoflurane. *Eur. J. Anaesthesiol.* **8**, 642–647.
- Ta L.E., Espeset L., Podratz J., et al. (2006) Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology.* **27**(6), 992–1002.
- Орлова Р.В. (2002) Новые лекарственные средства в лечении колоректального рака. *Практическая онкология.* **3**(4), 273–281. (Для англ. версии – Orlova R.V. (2002) New medications for colorectal cancer treatment. *Practical Oncology (Prakticheskaya onkologiya).* **3**(4), 273–281.)
- Miyajima A., Nakashima J., Yoshioka K., et al. (1997) Role of reactive oxygen species in cis-dichlorodiammineplatinum-induced cytotoxicity on bladder cancer cells. *Br. J. Cancer.* **76**(2), 206–210.
- Laurent A., Nicco C., Chéreau C., et al. (2005) Controlling tumor growth by modulating endogenous

- production of reactive oxygen species. *Cancer Res.* **65**(3), 948–956.
18. Godwin A.K., Meister A., O'Dwyer P.J., et al. (1992) High resistance to cisplatin in human ovarian cancer cell lines is associated with marked increase of glutathione synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **89**(7), 3070–3074.
  19. Giri A., Khyriam D., Prasad S.B. (1998) Vitamin C mediated protection on cisplatin induced mutagenicity in mice. *Mutat. Res.* **421**(2), 139–148.
  20. Di Cesare Mannelli L., Zanardelli M., Failli P., et al. (2012) Oxaliplatin-induced neuropathy: oxidative stress as pathological mechanism. Protective effect of silibinin. *J. Pain.* **13**(3), 276–284.
  21. Michel B. (2005) After 30 years of study, the bacterial SOS response still surprises us. *PLoS Biol.* **3**(7), 255.
  22. Cirz R.T., Chin J.K., Andes D.R., et al. (2005) Inhibition of mutation and combating the evolution of antibiotic resistance. *PLoS Biol.* **3**(6), 176.
  23. Miller C., Thomsen L.E., Gaggero C., et al. (2004) SOS response induction by  $\beta$ -lactams and bacterial defense against antibiotic lethality. *Science.* **305**(5690), 1629–1631.
  24. Nautiyal A., Patil K.N., Muniyappa K. (2014) Suramin is a potent and selective inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* RecA protein and the SOS response: RecA as a potential target for antibacterial drug discovery. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**(7), 1834–1843.

## Raise of the Resistance to Antibiotics in Bacteria After Cancer Therapy With Platinum-Based Drugs

V. A. Chistyakov, E. V. Prazdnova\*, M. S. Mazanko, M. N. Churilov, V. K. Chmyhalo

Research Institute of Biology, Academy of Biology and Biotechnology  
of Southern Federal University Rostov-on-Don, 344090 Russia

\* e-mail: prazdnova@sfedu.ru

Use of platinum-based anticancer drugs is limited both by their side effects and by their influence on normal microflora. Drugs with mutagenic and genotoxic properties may cause mutations in microbial genomes, thus, contributing to the emergence of antimicrobial resistance and the development of complications after chemotherapy. Effect of cisplatin and oxaliplatin on microorganisms was studied using bacterial biosensors – strains of *E. coli* MG1655 pKatG-lux (reacts to the generation of hydrogen peroxide), pSoxS-lux (reacts to superoxide anion radical) and pColD-lux (detects DNA damage). For both drugs, the biosensor tests demonstrated high levels of genotoxicity, with some differences in the spectrum of reactive oxygen species generated. Ascorbate reduced genotoxicity of cisplatin by 41%. In *E. coli*, non-lethal doses of cisplatin induced 3–7-fold increase in the frequency of mutations conferring resistance to rifampicin and ciprofloxacin; these increases were also reduced by ascorbate. For platinum-based drugs, the genotoxic mechanisms are associated with the generation of reactive oxygen species and SOS-response induction. The risk of antibiotic-resistant secondary infections may be used by use of antioxidants and antimutagens; however, these augments may also decrease anti-tumoral action of these compounds.

**Keywords:** cisplatin, oxaliplatin, SOS-response, antibiotic resistance, ROS, antioxidants