

КАДАВЕРИН КАК УЧАСТНИК ВЗАМОТНОШЕНИЙ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Морозов И. А.¹

¹ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России

Многие люди за свою жизнь не слышали такого словосочетания как «трупный яд». Но с научной точки зрения это понятие неверно. Под этой фразой обыватели подразумевают кадаверин. В настоящей статье дана общая характеристика этого химического соединения, описано появление термина «трупный яд» и раскрыты механизмы синтеза и его регуляции. Особое внимание уделено взаимодействию про- и эукариотических клеток при участии кадаверина т.к. последний способен изменять его. Кадаверин входит в состав некоторых клеточных структур, но главная его функция – это способность выступать в роли неспецифического адаптогенного агента/антигена для патогенных микроорганизмов. Кадаверин позволяет им проникать, выживать и размножаться в организме человека, обуславливая патологические процессы в организме человека. Наиболее важным является влияние кадаверина на окислительный, кислотно-щелочной стресс, защиту бактерий. Это обусловлено его антиоксидантной способностью. В статье рассмотрено влияние кадаверина на такие микроорганизмы как *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Selenomonas ruminantium subsp., Lactilytica*, *Vibrio cholerae*. Помимо этого, существует такая химическая модификация кадаверина как дансил кадаверин. Он получил применение в научных исследованиях.

Ключевые слова: кадаверин, синтез кадаверина, регуляция синтеза кадаверина, кадаверин и бактерии

CADAVERINE AS A PARTICIPANT OF THE INTERACTION BETWEEN PRO- AND EUKARIOTIC CELLS

Morozov I. A.¹

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University

Many people in my life have heard such a phrase as "corpse poison". But from a scientific point of view, this concept is wrong. Under this phrase, the townsfolk mean cadaverine. This article gives a General description of this chemical compound, describes the emergence of the term "cadaveric poison" and reveals the mechanisms of synthesis and its regulation. Special attention is paid to the relationship of Pro- and eukaryotic cells with the participation of cadaverine because the latter is able to change it. Cadaverine is found in some cellular structures, but its main feature is the ability to act as non-specific adapter stressive agent/antigen for pathogenic microorganisms. Cadaverine allows them to penetrate, survive and multiply in the human body, causing pathological processes in the human body. The most important effect of cadaverine has oxygen, acid stress, protecting bacteria. This is due to its antioxidant capacity. The article considers the influence of cadaverine on such microorganisms as *E. Soli*, *Salmonella typhimurium*, *Selenomonas ruminantium subsp. Lactilytica*, *Vibrio cholerae*. In addition, there is a chemical modification of cadaverine as dansylcadaverine. It has been applied in scientific research.

Keywords: cadaverine, the synthesis of cadaverine, regulation of cadaverine synthesis, cadaverine and bacteria

Полиамины представляют собой уникальную биохимическую группу, которая играет важную роль защитных реакциях организма. Косновным полиаминам животных тканей относятся спермин, спермидин, путресцин и кадаверин. Спермин и спермидин являются низкомолекулярными эндогенными поликатионами и имеют соответственно 4 и 3 основные группы. Путресцин и кадаверин содержат по две аминогруппы. Спермин, спермидин и путресцин достаточно хорошо изучались последнее время в связи с их ролью в регуляции биосинтеза белка, РНК, ДНК, пролиферации и апоптоза, развитии онкопроцессов, модулировании нейромедиаторов ГМ. Однако кадаверин незаслуженно оставался в стороне от взгляда исследователей и в своей статье я хотел бы рассказать о нем.

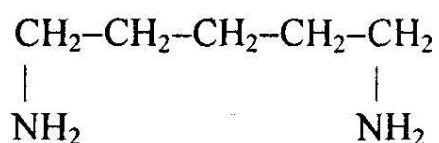


Рисунок 1. Химическая формула кадаверина.

кадаверин

Кадаверин – (лат. *cadaver*- труп) α,β-пентаметилдиамин (1,5-диаминопентан) продукт ферментативного декарбоксилирования лизина, образуется при разложении белков. У живого человека образуется преимущественно в толстой кишке под действием микрофлоры, в процессе известном как гниение белков. Кадаверин найден в рожках спорыньи, мухоморах, боровиках, белене, белладонне, дурмане, сое и других продуктах растительного происхождения. Представляет собой бесцветную жидкость с плотностью 0,870 г/см³ и температурой кипения 178-179°C. Кадаверин легко растворим в воде и спирте, даёт хорошо кристаллизующиеся соли. Является сильным основанием, его химические свойства определяются двумя

аминогруппами. Замерзает при +9°C.Кадаверин имеет очень сильный трупный запах, за что получил свое название. Имеется в свободной форме как в разлагающейся биомассе животных и растительных организмов, так и в живых организмах.

Существует множество суеверий, связанных с кадаверином. Якобы последний чрезвычайно ядовит, проникает через кожу и вызывает гибель через несколько дней. Подобные суеверия идут из глубины веков. Современная наука объясняет страх перед трупами следующим образом: вплоть до начала XX века свирепствовали эпидемии различных инфекционных заболеваний. Большинство из которых характеризовались высокой смертностью и скоростью распространения. Поэтому вполне естественно, что люди подметили связь между соприкосновением с покойниками и заболеваемостью. Но основным фактором здесь является смерть в результате инфекции.

Современная токсикология оперирует термином птомаины (греч.*ptoma* - мёртвое тело, труп). Это группа биогенных аминов, являющихся конечным продуктом распада белка и аминокислот. Выделяются при гниении мёртвых организмов. Птомаины появляются в трупе на третий – четвёртый день после смерти. Скорость их образования зависит от влажности внешней среды и температуры. Сопровождается процесс признаками разложения и специфическим запахом.Выделено четыре основных химических соединения. Все они обладают низкой токсичностью. При проведении исследований на лабораторных животных установлено, что показатель опасности ядов — летальная доза (ЛД50)— для всехполиамнов очень велика:

- путресцин - 2000 мг/кг;
- кадаверин - 2000 мг/кг;
- спермидин и спермин - по 600 мг/кг [15,1].

Синтез кадаверина

Субстратом для образования диаминов служат продукты распада белковой молекулы, а именно лизин. В процессе гниения эта аминокислота декарбоксилируется лизиндекарбоксилазой до кадаверина, который далее может образовывать ядра пиридина и пиперидина [11,18].

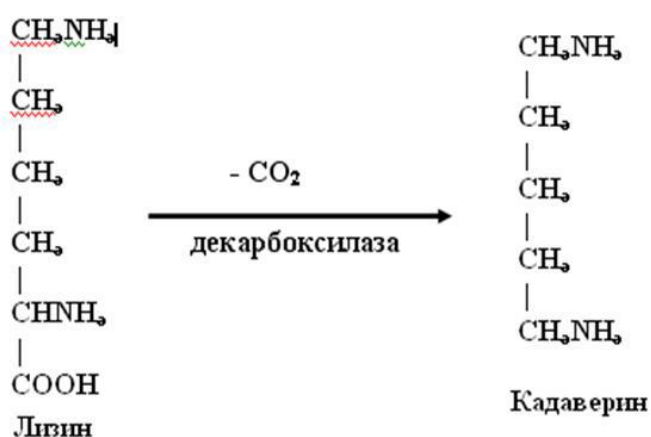


Рисунок 2. Синтез кадаверина

Регуляция синтеза кадаверина

Биосинтез и метаболизм кадаверина обширно изучался на модельном организме - *Escherichiacoli*. Было установлено, что в синтезе кадаверина участвуют два типа лизиндекарбоксилаз: конструктивная LdcS и индуктивная CadA. Они показывают около 68% и 69% идентичности, соответственно, в ДНК и аминокислотных последовательностях. Однако оптимальное действие LdcS происходит при pH 7,6, а оптимальная активность CadA наблюдается при pH 5,6. CadA показывает более высокую термическую стабильность и более высокую активность декарбоксилирования. CadA является важным компонентом системы защиты клетки кадаверином от кислотного стресса путем индуцирования экспрессии белка в условиях низкого pH с избытком L-лизина. Система Cad(E.

coli) имеет дваглавных компонента: оперон *cadBA*, кодирующий декарбоксилазу лизина(*CadA*) иантипортер лизина/кадаверина (*CadB*), ирегуляторный белок *CadC*.

CadC- это многофункциональный внутримембранный белок, состоящий из ДНК-связывающего доменасо структурой спирали-поворота-спирали на цитоплазматическом N-терминале, трансмембранного домена и периплазматического C-терминала. N-терминал может присоединяться к местам *Cad1* и *Cad2* в верхней части *cadBA* для активации экспрессии *cadBA*. C-терминал это своеобразный датчик рН, который ответствен за восприятие концентрации ионов H^+ . Трансмембранный и периплазматический домены подвергаются действию аминокислот *cadC*, что имеет важное значение в качестве посредника и/или стабилизатора ассоциации между *CadC* и *LysP* через образование дисульфидных связей. *LysP* является L-лизин-специфической пермеазой, которая воспринимает экзогенный L-лизин и регулирует уровни *CadC*. Транскрипция оперона *cadBA* также модулируется гистон-ДНК-связывающий протеин H-NS, который своим действием, уменьшает экспрессию *CadA* и *CadB* под не стимулированными условиями.

При оптимальных условиях роста, экспрессия оперона *cadBA* ингибируется связыванием белков H-NS с *Cad1* и *Cad2* сайтами, которые расположены от -144 bp до -112 bp и от -89 bp до -59 bp зонах верхней части *cadBA*, соответственно. Между тем, транскрипционный активатор *CadC* замедлен во внутренней мембране и не может выполнить свою функцию, потому что находится в связанном состоянии с мембранным белком *LysP*. Таким образом, оперон *cadBA* не транскрибируется и клеточный кадаверин не вырабатывается.

В ситуациях, связанных с формированием кислотного стресса ($pH < 6,8$) в лизин-насыщенной среде (> 5 ммоль/л), взаимодействие между *CadC* и *LysP*

ослабленовследствие их рН-зависимых конформационных переходов и/илиоткрытиядисульфидного мостика между двумя белками. Кроме того, конформация LysP далее изменяется по ходу связывания / транслокации L-лизина, что приводит к диссоциациииз cadC и LysP. Затем активированный CadCзаменяет H-NSбелки и связывает Cad1 и Cad2сайты в cadBA, вызываяактивацию транскрипции и экспрессию последнего.

Для предотвращения избыточного и не рационального синтеза кадаверина осуществляется регуляция по принципу отрицательно связи. Излишки кадаверина (>235 мкмоль/л) действует как отрицательный эффектор экспрессииcadBAи при деактивацииCadCсвязываютсяс димеризованнымCadC. Кроме того, активность CadAингибируется ppGpp, строгийответный эффектор, который быстро накапливается в клетках с дефицитом аминокислоты предотвращающий чрезмерное потребление L-лизина[4,6,7,12,14,19,21]

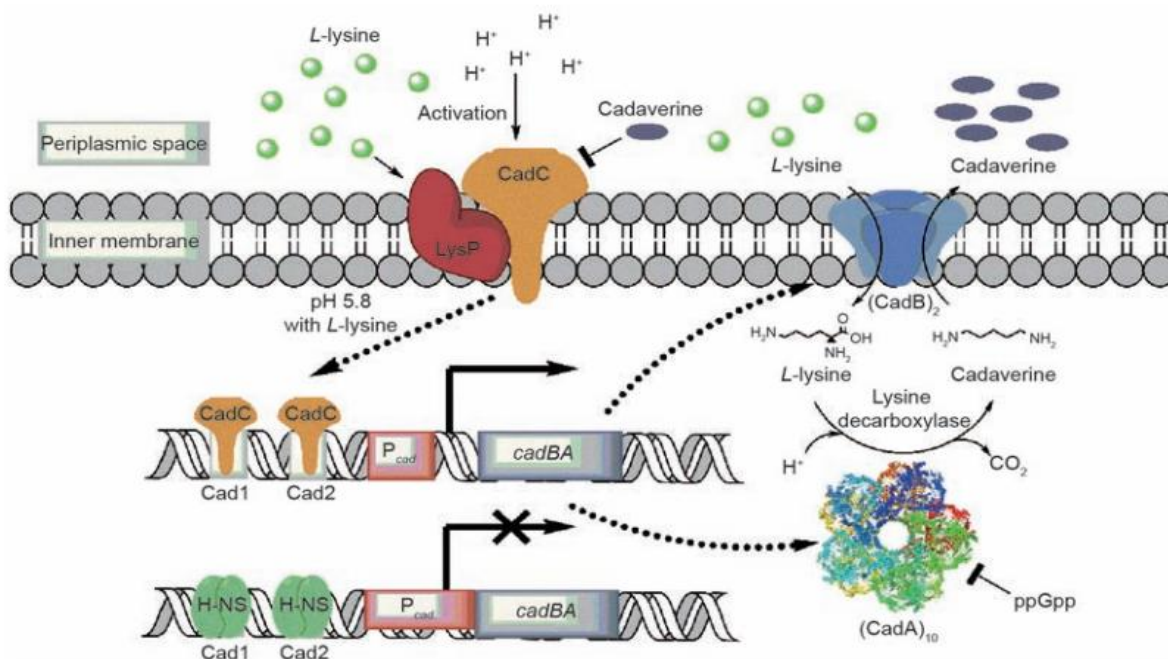


Рисунок 3. Схема регуляции синтеза кадаверина у *E. coli* [21].

Биологическая активность кадаверина в организме человека

Известно, что кадаверин и другие диамины входят в состав рибосом, участвуя в поддержании их структуры [15].

Кадаверин выступает в роли регулятора орнитин декарбоксилазы (основного фермента синтеза спермина, спермидина). Повышение концентрации кадаверина индуцирует работу этого фермента. Так, например, клетки асцитной карциномы Эрлиха при культивировании на питательных средах без спермина и спермидина, но с достаточным количеством меченого *L*-лизина с высокой скоростью декарбоксилируют лизин и накапливают кадаверин. Всё это нивелируется при внесении в культуральную среду микромолярных концентраций спермидина (или спермина) [3,10]. Аналогичные результаты были получены при изучении клеток гепатомы крыс [16].

Показан клинический эффект кадаверина как действенного антидиарейного препарата.

Не менее важно использование кадаверина с промышленными целями. Например, как сырье для синтеза романного нейлона, polyamides 54 (PA54), и polyamides 56 (PA56). Полиамид одна из самых "желательных" пластмасс, производство которого было в первой из пяти спроектированных пластмассы, составляющие треть мирового рынка. Полиамид широко используется в авиационных и космических технологиях, в качестве компонентов автомобиля, частей машинного оборудования, электронных аппаратов, упаковочных материалов и цементируемых смесей [13].

Роль кадаверина в жизнедеятельности микроорганизмов

Известно, что клеточные стенки грамотрицательных бактерий (*Escherichiacoli*, *Salmonellatyphimurium* и др.) состоят из двух слоев - слой

наружной мембраны и слой пептидогликанов. Наружная мембрана состоит из липополисахаридов, белка, фосфолипидов и липопротеинов. Второй слой – результат ковалентной связи липопротеинов и пептидогликанов. Связанная форма липопротеина играет роль в поддержании структурной целостности наружной мембраны оболочки клетки. Однако недавно были получены сведения, что дикий тип *Selenomonas ruminantium subsp. Lactilytica* (строго анаэробный, грамотрицательный штамм), не содержит белкового компонента в слое клеточной стенки, соответствующего липопротеину у *E. coli*. При детальном изучении этих структур было показано, что кадаверин входит в состав клеточной стенки пептидогликана *Selenomonas ruminantium*, где синтезируется стандартным путем декарбоксилированием *L*-лизина. Хотя биологическая функция кадаверина в клеточной стенке *S. ruminantium* остается не выясненной, можно предположить, что кадаверин в пептидогликане может ассоциироваться с внешними мембранными компонентами, такими как фосфолипиды или кислые белки и, возможно, играют ту же роль, что и связанная форма липопротеина у *E. coli*. [8].

Кадаверин во взаимоотношениях про- и эукариотических организмов

К специфическим факторам патогенного воздействия могут быть отнесены метаболиты, синтезируемые микроорганизмами и оказывающие на хозяина непосредственное влияние. К таким факторам можно отнести секрецию микроорганизмами кадаверина [2].

Установлено, что в процессе приспособления разнообразных организмов (от бактерий до растений и млекопитающих) к неблагоприятным условиям среды кадаверин может способствовать выживанию *E. coli* в условиях уменьшения аэрации, которые создаются, например в фагосоме лейкоцитов. Кроме этого, кадаверин тормозит функциональную активность фагоцитирующих клеток, давая дополнительные возможности для роста *E. coli*.

Известно, что *E. coli* ферментирует превращение лизина в кадаверин, являясь незаменимым участником процесса гниения белков. В связи с этим можно предположить, что функциональная активность фагоцитирующих лейкоцитов нарушается из-за изменения белковых молекул при непосредственном участии *E. coli*. Однако, диаминооксидаза способна окислять кадаверин до аммиака и альдегида, что приводит к его инактивации. При заболеваниях, в патогенезе которых доминирует нарушение белкового обмена, в частности снижение энзиматической активности ряда ферментов, таких как холера, тяжелые гастроэнтериты и цистинурия кадаверин выводится с мочой в неизмененном виде.

Отечественными учеными выявлено, что кадаверин в кишечнике хозяина является одной из причин, определяющих изменение физико-химических показателей среды обитания микроорганизмов. Если защитные механизмы хозяина оказываются недостаточными, кадаверин может способствовать нарушению проницаемости кишечной стенки и создавать «ворота» для проникновения токсинов в организм хозяина [2,20].

Другими авторами показано что, при экспериментальном моделировании газовой среды кишечника, в котором осуществляется развитие патологического процесса (адгезия, колонизация, токсинопродукция), холерные вибрионы реагируют на неблагоприятные условия окружающей среды увеличением продукции кадаверина. При этом количество продуцируемого кадаверина в определенной степени коррелирует с патогенностью культур. Так, синтез кадаверина выше у эпидемически значимых и потенциально эпидемически значимых штаммов, чем у штаммов, лишенных генов токсино- и пилепродукции. Установлено, что уровень продукции внеклеточного кадаверина выше, чем внутриклеточного, но соотношение этих показателей зависит от концентрации кислорода и углекислоты в окружающей среде. В условиях газовой среды тонкого кишечника (10–12% O₂, 5%CO₂) оно

практически равно (1:1,5), а в условиях толстого кишечника (1% O₂, 10–12%CO₂) преобладает синтез внеклеточного кадаверина (4:1).

Внутриклеточный кадаверин, «запечатывающий» пориновые каналы микробных клеток, образуется, в основном, при условии высокой концентрации кислорода (10–12 %), а при выраженной гипоксии (менее 1% O₂) и повышении уровня углекислого газа (9-13%) его количество резко снижается [1,9].

В целом, кадаверин можно рассматривать как неспецифический адаптоген для микроорганизмов, поддерживающий их жизнедеятельность и метаболизм в стрессовых условиях, что лежит в основе их инвазии в эукариотическую клетку и участия в патогенезе ряда заболеваний. Можно предположить, что инактивация кадаверина приведет к снижению патогенного потенциала микроорганизмов.

Применение в научных исследованиях

Известно о химической модификации кадаверина, которая получила широкое применение в микробиологии - дансилкадаверин (N-(5-аминопентил)-5-диметиламино-1-нафталенсульфонамид).

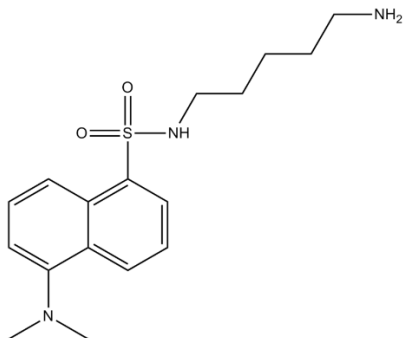


Рисунок 3. Химическая формула дансилкадаверина.

Это вещество применяется как ингибитор трансаминаз; флуоресцентный зонд, ковалентно связывающийся с трансаминазами на плазматической мембране клетки. Он также практикуется для ингибирования рецептор-опосредованного эндоцитоза, т.к. трансаминазы играют важную роль в организации клатриновых пузырьков. Монодансилкадаверин

блокируетэндоцитозальфа-2 макроглобулина, эпидермального фактора роста, а также вируса везикулярного стоматита.В живых клетках используется как меткааутофагальныхвакуолей[1,5,17].

Списокиспользованнойлитературы

1. Сизова Ю.В., Писанов Р.В., Бурлакова О.С., Черепахина И.Я., Балахнова В.В. Роль кадаверина в адаптации холерных вибрионов к стрессу, обусловленному гипоксией //Проблемы особо опасных инфекций -2016. - № 2. - С. 87-90
2. Дрюченко Е. А., Куликова М. Н. Кадаверин и его возможная роль во взаимоотношениях паразита и хозяина при аскаридозе// Паразитология - 1984. - XVIII, 4. - С. 291-295
3. Alhonen-Hongisto L., Seppänen P., Hölttä E., Jänne J. Replacement of natural polyamines by cadaverine and its aminopropyl derivatives in Ehrlich ascites carcinoma cells. // Biochemical and biophysical research communications - 1982. - Vol. 106(2) - P. 291-297.
4. Bhatia S., Kim Y., Kim H., Seo H., Kim J., Song H., Sathiyarayanan G, Park S., Park K., Yang Y. Biotransformation of lysine into cadaverine using barium alginate-immobilized Escherichia coli overexpressing CadA // Bioprocess and Biosystems Engineering - 2015. - Vol. 38(12) – P. 2315-2322.
5. Davies P., Cornwell M., Johnson J., Reggianni A, Myers M, Murtaugh M. Studies on the effects of dansylcadaverine and related compounds on receptor-mediated endocytosis in cultured cells // Diabetes Care - 1984. - Vol. 1- P. 35-41.
6. De Filippis F., Pennacchia C., Di Pasqua R., Fiore A., Fogliano V., Villani F., Ercolini D. /Decarboxylase gene expression and cadaverine and putrescine

- production by *Serratia proteamaculans* in vitro and in beef // International journal of food microbiology - 2013. - Vol. 165(3). - P. 332-338.
7. Haneburger I., Fritz G., Jurkschat N., Tetsch L., Eichinger A., Skerra A., Gerland U., Jung K. Deactivation of the *E. coli* pH stress sensor CadC by cadaverine // Journal of Molecular Biology - 2012. - Vol. 424(1-2) - P. 15-27.
 8. Kamio Y., Itoh Y., Terawaki Y., Kusano T. Cadaverine is covalently linked to peptidoglycan in *Selenomonas ruminantium* // Journal of Bacteriology - 1981. - Vol. 145(1). - P. 122–128.
 9. Kang IH, Kim JS, Kim EJ, Lee JK. Cadaverine protects *Vibrio vulnificus* from superoxide stress // Journal of Microbiology and Biotechnology - 2007. - Vol.17(1). - P. 176-179.
 10. Leena Alhonen-Hongisto and Juhani J. Polyamine depletion induces enhanced synthesis and accumulation of cadaverine in cultured Ehrlich ascites carcinoma cells // Biochemical and biophysical research communications – 1980. Vol. 93(4). - P. 1005-1013.
 11. Leistner E., Spenser I. Biosynthesis of the piperidine nucleus. Incorporation of chirally labeled (1-3H) cadaverine. // Journal of the American Chemical Society - 1973. - Vol. 95(14) - P. 4715-4725.
 12. Ma W., Cao W., Zhang H., Chen K., Li Y., Ouyang P. Enhanced cadaverine production from L-lysine using recombinant *Escherichia coli* co-overexpressing CadA and CadB // Biotechnology Letters - 2015. - Vol. 37(4) - P. 799-806.
 13. Ming Li, Dongxia Li, Yunyan Huang, Meng Liu, Hongxin Wang, Qi Tang, Fuping Lu Improving the secretion of cadaverine in *Corynebacterium glutamicum* by cadaverine–lysine antiporter // Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 2014. – Vol. 41(4). – P. 701-709
 14. Park S., Soetyono F., Kim H. Cadaverine Production by Using Cross-Linked

- Enzyme Aggregate of Escherichia coli Lysine Decarboxylase // Journal of Microbiology and Biotechnology - 2017. - Vol. 27(2) - P. 289-296.
- 15.Pegg A.E. Functions of Polyamines in Mammals // Journal Biological Chemistry - 2016. - Vol. 291(29). - P. 14904–14912.
- 16.Peter P., McCann,Chantalv Tardif, Anthony E. Pegg, Keith Diekema
The dual action of the non-physiological diamines 1,3 diaminopropane and cadaverine on ornithine decarboxylase of HTC cells // Life sciences – 1980. - Vol 26(23). - P. 2003-20010
- 17.Ray El., Samanta AK. Dansyl cadaverine regulates ligand induced endocytosis of interleukin-8 receptor in human polymorphonuclear neutrophils // FEBS letters – 1996. - Vol. 378(3). - P. 235-239.
- 18.Schayer R., Smiley R., Kennedy J. Diamine oxidase and cadaverine metabolism // The Journal of biological chemistry -1954. - Vol. 206(1) - P. 461-464.
- 19.Shin J., Joo J., Lee E., Hyun S., Kim H., Park S., Yang Y., Park K.
Characterization of a Whole-Cell Biotransformation Using a Constitutive Lysine Decarboxylase from Escherichia coli for the High-Level Production of Cadaverine from Industrial Grade L-Lysine // Applied of Biochemistry Biotechnology - 2018. - Vol. 185(4) - P. 909-924.
- 20.Soysa R., Venselaar H., Poston J., Ullman B., Hasne MP. Structural model of a putrescine-cadaverine permease from Trypanosoma cruzi predicts residues vital for transport and ligand binding // The biochemical journal - 2013. - Vol. 452(3). - P. 423-432.
- 21.Weichao Ma, Kequan Chena, Yan Li , Ning Hao , Xin Wang, Pingkai Ouyang
Advances in Cadaverine Bacterial Production and Its Applications // Applied microbiology and biotechnology - 2011. - Vol. 91(1). - P. 17-30