

А. З. Пепоян

### Особенности фосфолипидного состава некоторых штаммов *E.coli* из кишечной микрофлоры человека

(Представлено академиком К. Г. Карагезяном 27/VI 2000)

По имеющимся в литературе данным, некоторые бактерии кишечной флоры обладают канцеролитическими свойствами [1]. С другой стороны, к настоящему времени установлено, что при патологических состояниях организма, в частности при злокачественном росте, изменяются состав и метаболизм фосфолипидов (ФЛ), что приводит к нарушению структуры и функции клеток [2, 3]. Ранее нами было показано, что некоторые штаммы *E.coli* (G-35 N 59; 60; 61), характерные для нормальной микрофлоры кишечника человека, способны вызывать некроз раковых клеток *in vitro*. Штаммы, выделенные от онкологических больных, не обладали такими свойствами [4].

Целью настоящей работы было изучение качественного и количественного состава ФЛ и особенностей пероксидации липидов клеток *E.coli* из кишечной микрофлоры людей.

В экспериментах использованы три штамма бактериальных клеток *E.coli* G-35 N 59; 60; 61, зарегистрированных в Государственном научно-исследовательском институте стандартизации и контроля медицинских и биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича (паспорт N 01-07/89, 22.03.83 г.) и депонированных в банке культур США.

Поскольку интенсивное липидообразование происходит после завершения активного роста культуры в период стационарной фазы [5] и липиды грамотрицательных бактерий сосредоточены в основном в клеточной оболочке [6], для определения ФЛ-состава были использованы суточные культуры.

Ввиду того, что в стенках и мембранах бактерий количество ФЛ с высоконасыщенными жирнокислотными остатками, а также гликолипидов мало [7, 8], для исследования ФЛ-состава был использован метод Фольча [9] в модификации [10, 11].

Для проверки достоверности полученных данных был использован статистический метод Стьюдента - Фишера.

В таблице представлены качественный и количественный состав фосфолипидов клеток *E.coli*, характерных для кишечной микрофлоры человека.

#### Состав фосфолипидов клеточных стенок и цитоплазматических мембран штаммов *E.coli* из кишечной микрофлоры людей

| ФЛ                               | Клетки | <i>E.coli</i> G-35 N59,<br>от здорового<br>человека | <i>E.coli</i> G-35 N60,<br>от здорового<br>человека | <i>E.coli</i> G-35 N61<br>от здорового<br>человека | <i>E.coli</i> от<br>больного ра-<br>ком человека |
|----------------------------------|--------|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Лизофосфати-<br>дилхолины (182)* |        | 1.4                                                 | 1.5                                                 | 1.4                                                | 2.5                                              |
| Сфингомие-<br>лины (183)         |        | 2.5                                                 | 2.7                                                 | 2.6                                                | 4.6                                              |

|                                  |      |      |      |      |
|----------------------------------|------|------|------|------|
| Фосфатидил-<br>серины (183)      | 8.1  | 5.4  | 6.7  | 11.6 |
| Фосфатидили-<br>нозиты (258)     | 16.1 | 7.8  | 8.1  | 9.1  |
| Фосфатидил-<br>холины (182)      | 10.7 | 25.9 | 20.3 | 8.3  |
| Фосфатидилэта-<br>ноламины (129) | 25.5 | 30.2 | 27.4 | 35.7 |
| Фосфатидилгли-<br>церины (170)   | 25.2 | 15.5 | 23.3 | 16.8 |
| Кардиоли-<br>пины (220)          | 23.7 | 10.7 | 10.2 | 11.4 |

\* В скобках приведены молекулярные массы полярных головок индивидуальных фосфолипидов.

Основываясь на приведенных данных, попытаемся выяснить характер функции распределения ФЛ в клеточных стенках и цитоплазматических мембранах исследуемых клеток.

Обозначим массу ФЛ типа  $i$  в мембране через  $g_i$ ; его доля в мембране будет описываться соотношением

$$\frac{g_i}{\sum_i g_i}, \quad (1)$$

где  $\sum_i g_i$  - суммарная масса всех ФЛ в мембране.

Учитывая молекулярные массы полярных головок ФЛ (таблица), вычислены значения

$[(g_i)/(\sum_i g_i)]$  для ФЛ E.coli здорового человека и больного раком человека.

Распределение ФЛ в клеточных стенках и цитоплазматических мембранах исследуемых E.coli в основном имеет бимодальный характер и состоит из двух (низкомолекулярной и высокомолекулярной) фракций. При этом в мембранах E.coli, характерных для больного раком человека, имеет место значительное увеличение концентрации ФЛ с малыми размерами полярных головок. В клеточных мембранах E.coli больного раком человека увеличивается средний отрицательный заряд молекул ФЛ.

В грамотрицательных бактериях основными ФЛ являются фосфатидилэтаноламины (ФЭ) [12, 13]. Как видно из таблицы, в клетках E.coli, полученных от больного раком человека, концентрация ФЭ увеличена по сравнению с E.coli здорового человека.

Другим важным ФЛ, имеющим существенное значение для стабилизации структуры мембран бактериальных клеток, является фосфатидилхолин (ФХ) [13]. Известно, что ФХ в присутствии воды спонтанно может образовывать стабильные бимолекулярные слои в широких диапазонах концентраций ионов и температур. При этом ФХ в смеси с другими ФЛ способствует образованию бимолекулярных слоев. Интересно отметить, что ФХ взаимодействует с гидрофобными анионами сильнее, чем ФЭ, что может иметь большое значение для адсорбции и

связывания биологически важных веществ с поверхностью клеточной мембраны.

Как видно из таблицы, по сравнению с *E.coli*, характерными для здоровых людей, в мембранах *E.coli* больного раком имеет место резкое уменьшение концентрации ФХ. Уменьшение процентного содержания ФХ в этих штаммах приводит к изменению отношения ФХ/ФЭ, что может влиять на вязкость липидной фракции клеточных стенок.

Среди функционально важных липидов большое значение имеют ФЛ, несущие на полярной группе отрицательный заряд. Именно наличие таких ФЛ обеспечивает в определенной мере жидкую структуру мембраны. Электростатическое отталкивание отрицательно заряженных групп молекул ФЛ должно обеспечивать "жидкую" структуру мембраны.

Из таблицы явствует, что в мембранах *E.coli* больного раком человека значительно увеличивается концентрация фосфатидилсеринов. Изменение процентного содержания кислых ФЛ в этих клетках на фоне относительно стабильного содержания нейтральных ФХ и ФЭ может приводить к изменению степени ионизации их мембран. В исследуемых клетках обнаружены лизофосфатидилхолины (ЛФХ). Известно, что окисленные формы ФЛ способствуют дестабилизации мембранной структуры. Являясь более полярными, они легче выходят из мембраны и тем самым способствуют обновлению их состава. Результаты экспериментов свидетельствуют о том, что помимо уменьшения количества ФХ в клетках *E.coli*, выделенных от больных раком людей, наблюдается увеличение процентного содержания ЛФХ.

Обнаруженные нами изменения в ФЛ - ФЛ соотношениях клеточных мембран штаммов *E.coli* дают возможность предположить, что мембраны *E.coli* больных раком людей являются более устойчивыми к полиионам, в частности к ионам  $Ca^{++}$ , и обладают значительно меньшей устойчивостью структуры, чем мембраны штаммов *E.coli*, выделенных от здоровых людей.

Таким образом, выявлен фосфолипидный состав штаммов *E.coli* G-35 N 59; 60; 61, характерных для нормальной микрофлоры человека.

Институт молекулярной биологии НАН РА

### Литература

1. Caygill C. P., Braddik M., Hill M. J., Knowless R. L., Sharp J. C. - Eur. Cancer Prev. 1995. V. 4. P. 187-93.
2. Hatala M. A., Rayburn J., Rose D. P. - Lipids. 1994. V. 29. P. 831.
3. Subramanian S., Gagadeeson M., Devi C. S. - Chemo therapy. 1994. V. 40. P. 427-30.
4. Карапетян А. О. Биологический антагонизм некоторых представителей кишечной микрофлоры и опухолевых клеток. Канд. дис. М.: 1987. 101 с.
5. Скрябин Т. К., Еремин. В. К., Боронин А. М. и др. В сб.: Проблемы биохимии и физиологии микроорганизмов. Пушино, 1985. С. 308.
6. Ивков В. Г., Берестовский Г. Н. Липидный бислой биологических мембран. М.: Наука, 1982. 244 с.
7. Rock C. O., Cronon J. E. In: Biochemistry of lipids and membranes /D. E. Vance. Eds. Ine. Menlo Park, California, The Benjamin/publishing company, 1985. P. 73-115.
8. Громов Б. В., Павленко Г. В. Экология бактерий. Л.: ЛГУ, 1989. 248 с.
9. Folch G. M., Lees G., Stone J. - Biol. Chem., 1957. V. 226. P. 497.
10. Карагезян К. Г. Фосфолипиды и их роль в жизнедеятельности организма. Ереван: Айастан 1972. 267 с.
11. Пепоян А. З., Кцоян Ж. А., Шагинян А. А., Осипян Л. Н., Карагезян К. Г. - Биофизика. 1991. Т. 36. С. 475-479.
12. P. F. Devaux. - Biochem. Biophys. Acta. 1985. V. 882. P. 222.
13. Бирюзова Ж. И. Мембранные структуры микроорганизмов. М.: Наука, 1973. 136 с.
14. Бурлакова Е. Б. Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М.: Наука, 1981.

## Ա. Զ. Փեփոյան

### Մարդու աղիքային միկրոֆլորայի որոշ E.coli-ի շտամների առանձնահատկությունները

Ուսումնասիրվել է մարդու աղիքային միկրոֆլորայի E.coli G-35 N 59; 60; 61 շտամների թաղանթների ֆոսֆոլիպիդային կազմը: Ֆոսֆոլիպիդ-ֆոսֆոլիպիդ փոխհարաբերություններում հայտնաբերված փոփոխությունները հնարավորություն են տվել եզրակացնելու, որ մարդու նորմալ աղիքային միկրոֆլորային բնորոշ E.coli վերոհիշյալ շտամները, ի տարբերություն բազմաթիվ հիվանդություններով (մասնավորապես քաղցկեղի տարբեր դրսևորումներով) անձանց մոտ գերակշռող շտամների, թաղանթներում պարունակում են ֆոսֆատիդիլեթանոլների, ֆոսֆատիդիլիտոլինների համեմատաբար ավելի մեծ քանակություն: Միաժամանակ E.coli G-35 N 59; 60; 61 շտամներում նկատվում է թթվային ֆոսֆոլիպիդների որակական և քանակական պակաս:

Ֆոսֆոլիպիդային կազմում նկատվող փոփոխությունները, ամենայն հավանականությամբ, անդրադառնում են բակտերիալ թաղանթների լիպիդ-սպիտակուցային փոխազդեցությունների, թաղանթային թափանցելիության, մածուցիկության և թաղանթային այլ կարևոր հատկությունների վրա: