

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe – ważny element odporności naturalnej

Antimicrobial peptides – an important element of natural immunity

PAULINA NIEDŹWIEDZKA-RYSTWEJ, AGATA MĘKAL, WIESŁAW DEPTUŁA

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (HDP) stanowią jeden z głównych elementów odporności naturalnej (wrodzonej). Substancje te wykazują szerokie spektrum aktywności w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, wirusów, grzybów oraz pasożytów. Ich synteza zachodzi m.in. pod wpływem lipopolisacharydu (LPS), a także IL-1 β i TNF- α . W pracy opisano podział HDP na trzy główne grupy, a mianowicie: peptydy trawienne działające na struktury bakteryjne, peptydy wiążące pierwiastki oraz peptydy przerywające błony bakteryjne. Opisano ich miejsce występowania i syntezy oraz aktywność biologiczną w stosunku do różnych drobnoustrojów.

Słowa kluczowe: peptydy przeciwdrobnoustrojowe, odporność naturalna, układ immunologiczny

Summary

Antimicrobial peptides (HDP) are one of the main elements of natural immunity. Those substances show a wide spectrum of activity against Gram positive and negative bacteria, viruses, fungi and parasites. The synthesis of HDP is based on the impact of lipopolysaccharide (LPS), and IL-1 β and TNF- α . The authors describe three main groups of antimicrobial peptides – digestive enzymes targeting microbial structures, peptides that bind essential elements, and peptides that disrupt the microbial membrane. Their place of occurrence and synthesis together with biological activity are described.

Key words: antimicrobial peptides, natural immunity, immune system

© *Alergia Astma Immunologia* 2010, 15 (1): 35-41

www.alergia-astma-immunologia.eu

Przyjęto do druku: 1.02.2010

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Paulina Niedźwiedzka-Rystwej

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

tel. (91) 444 16 05, fax: (91) 444 16 06

email: kurp13@univ.szczecin.pl

Wstęp

W układzie immunologicznym można wyróżnić dwie jego podstawowe składowe, a mianowicie elementy tworzące odporność nieswoistą, obecnie wrodzoną (naturalną) i odporność swoistą (adaptacyjną i nabytą) [1,2]. Ten pierwszy typ odporności jest definiowany jako defensyno- oraz cytokino- i chemokinozależna odporność wielu komórek układu odpornościowego, perforynozależna aktywność komórek NK, cytotoksyczna aktywność dopełniacza niezależna od przeciwciał, fagocytoza i nieswoista reaktywność komórek T wobec wirusów [1]. Przyjmuje się też, że jednym z głównych elementów tworzących odporność naturalną są peptydy przeciwbakteryjne – HDP (*Host Defense Peptides*), produkowane m.in. w neutrofilach, makrofagach i komórkach nabłonkowych u niemal wszystkich żyjących gatunków ssaków [3]. Wykazują one szerokie spektrum aktywności przeciwzarazkowej w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, w tym mykobakterii, bakterii Gram-ujemnych, wirusów, grzybów oraz pasożytów wewnątrzkomórkowych i nie działają wybiórczo oraz nie są gatunkowo specyficzne [3]. Wykazano, że ich synteza zachodzi m.in. pod wpływem lipopolisacharydu (LPS), składnika zewnętrznej błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych, a także IL-1 β i TNF- α [4]. Występują one w wielu komórkach

i tkankach organizmu oraz posiadają szereg funkcji modulujących układ odpornościowy (UO) (tab. I). Stwierdzono, że białka te m.in. działają jako chemoatraktanty na komórki układu odpornościowego, wzmagając m.in. proces adhezji i migracji [2,3,5]. Niektóre HDP, dzięki zdolności wiązania LPS i kwasu tejchojowego (LTA), działają jako substancje przeciwzapalne, np. w sepsie, oraz przyczyniają się do neutralizowania toksyn [6]. HDP nie niszczą błony komórkowej komórek eukariotycznych, ponieważ istotną ich częścią jest cholesterol [3,5]. Pierwszymi opisanymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi były cekropiny wytwarzane przez ćmy, tachyplezyny syntetyzowane przez kraby, a także magaininy produkowane przez gady [7]. W ostatnich latach zidentyfikowano i opisano wiele peptydów przeciwdrobnoustrojowych, które ze względu na strukturę i funkcję podzielono na trzy grupy, tj.: peptydy (enzymy) trawienne – działające na struktury bakteryjne, peptydy wiążące pierwiastki oraz peptydy przerywające błony bakteryjne (tab. I).

Peptydy (enzymy) trawienne działające na struktury bakteryjne

Do enzymów trawiennych zaliczanych do HDP należy lizozym (LZM) oraz serprocydyna (proteinaza 3, katepsyna G, elastaza) (tab. I).

LZM, zwany również muramidazą, został odkryty jako pierwszy spośród tych peptydów i jest to białko kationowe o masie 14 kDa, wykazujące właściwości przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe [1,8,9,10]. Jego obecność stwierdzono w ziarnistościach II-, III- oraz IV-rzędowych komórek PMN [10]. Występuje on w surowicy krwi, łzach, ślinie oraz wydzielinach dróg oddechowych, przewodów pokarmowych i gruczołu mlekowego. Jest także jednym z najważniejszych komponentów odporności nieswoistej. Enzym ten przecina wiązania β -1,4-glikozydowe, stabilizujące strukturę peptydoglikanu ścian bakterii, głównie w przypadku bakterii Gram-dodatnich [1,10]. Wykazano, że wiążąc np. LPS, powoduje redukcję cytokin prozapalnych, co w konsekwencji może prowadzić do zmniejszenia śmiertelności u ssaków w wyniku oddziaływania tej endotoksyny [9]. Jego zwiększoną ilość i aktywność stwierdzono, np. u bydła zakażonego naturalnie i eksperymentalnie herpes wirusem 1, wirusem biegunki i choroby błon śluzowych, rotawirusami i wirusem białaczki bydła oraz u owiec w przypadku zakażenia adenowirusem-5, wirusem parainfluenzy-3 i wirusem syncytialnym, zaś u królików – wirusem pomoru królików RHD [8] i wirusem EBHS [11].

Innymi peptydami HDP są serprocydyny, tj. proteinaza 3, katepsyna G oraz elastaza, które są także ważnymi elementami odporności naturalnej i występują głównie w ziarnistościach komórek PMN, choć także w makrofagach, komórkach kości, mięśni, naczyń krwionośnych i innych – nawet w komórkach nowotworowych (tab.I). Wykazują one dużą aktywność proteolityczną i katalityczną, m.in. wobec elastyny, fibronektyny, lamininy, kolagenu typu IV i witronektyny, co powoduje zwiększoną aktywność komórek endotelialnych i epitelialnych, makrofagów, limfocytów, płytek krwi oraz podwyższenie właściwości bakteriobójczych komórek PMN [9,10]. Udowodniono [9], że proteinaza 3 jest odpowiedzialna za rozpad i aktywację hCAP-18 (*human cathelicidin antimicrobial peptide-18*), białka o właściwościach bakteriobójczych wobec bakterii Gram-ujemnych i dodatnich, które występuje w ziarnistościach II-rzędowych komórek PMN. Natomiast katepsyna G stymuluje limfocyty i monocyty, indukuje ekspresję wielu cytokin i wzmacnia zdolności chemotaktyczne monocytów oraz wpływa na wrażliwość makrofagów na zakażenie wirusem HIV-1 [12]. Tymczasem elastaza to białko antyzarazkowe, którego rola związana jest przede wszystkim z obroną przed zakażeniami bakteriami Gram-ujemnymi, a także grzybiczymi. Jego aktywność związana jest również z chorobami płuc, takimi jak rozedma [13].

Peptydy wiążące pierwiastki

Spośród trzech peptydów z tej grupy, a mianowicie laktoferry (Lf), kalprotektyny i hepcydyny, laktoferry jest glikoproteiną wiążącą żelazo (jony Fe^{2+} , Fe^{3+}) oraz jony miedzi (Cu^{2+}), cynku (Zn^{2+}) i manganu (Mn^{2+}) [3,14]. Występuje ona m.in. w ziarnistościach komórek PMN oraz w wielu wydzielinach (tab. I), a jej obecność w osoczu może być wynikiem uwalniania jej z ziarnistości granulocytów w trakcie infekcji drobnoustrojami [14]. U ssaków najwyższe stężenie Lf występuje w mleku człowieka, podczas gdy u psów i szczurów – dotychczas nie została ona wykryta [14]. Ponadto wykazano, że Lf u bydła jest uwalniany z granulocytów obojętnochłonnych w wyniku

działania m.in. PAF (*platelet-activating factor*) oraz IL-8 [10]. Lf stanowi ważny komponent odporności naturalnej [1,10,14], będąc pierwszą linią obrony głównie przeciwko patogenom, wnikałym do makroorganizmu przez błony śluzowe. Wykazuje ona aktywność bakteriostatyczną oraz bakteriobójczą przeciwko bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, a także przeciwwirusową, przeciw pasożytniczą oraz przeciwgrzybiczą [1,10,14,15]. Mechanizm jej przeciwbakteryjnego działania polega na wiązaniu LPS, wchodzącego w skład ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, co prowadzi do jego uwalniania ze ściany bakterii, destrukcji ściany komórkowej i w konsekwencji do śmierci komórki [10]. Dowiedzono, że oprócz zdolności niszczenia ścian komórkowych bakterii, Lf bierze udział w zapobieganiu powstawania reaktywnych form tlenu [10]. Regionem odpowiedzialnym za aktywność bakteriobójczą Lf jest laktoferycyna, która uwalniana jest w wyniku rozkładu Lf przez pepsynę żołądkową [9,10]. Wykazano również, że Lf jest czynnościowo związana z NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) – białkiem antybakteryjnym, które występuje także w ziarnistościach komórek PMN [14]. Zarejestrowano także aktywność Lf wobec takich wirusów, jak wirus cytomegalii, HIV, zapalenia wątroby typu C i B, hantawirus, rotawirusy, wirus Heinego-Medina i enterowirusy [14]. Mechanizm wirusobójczego działania Lf najprawdopodobniej polega na hamowaniu początkowych etapów zakażenia wirusowego, tj. adsorpcji, i wnikania cząstek wirusowych do komórki, co wiąże się z oddziaływaniem Lf zarówno z cząstkami wirusów, jak i z ich receptorami na powierzchni komórek docelowych [14]. Ponadto Lf wykazuje działanie przeciwgrzybicze, powodując zahamowanie wzrostu *Candida sp.*, choć mechanizm ten nie jest do końca poznany [1,14,15]. Potwierdzono także działanie antypasożytnicze Lf wobec *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium falciparum*, czy *Trypanosoma cruzi*, polegające na uszkodzeniu błon komórkowych pasożytów wskutek wytworzenia kompleksu Lf z żelazem. Kompleks ten generuje wolne rodniki tlenowe [14]. U ryb wykazano stymulujący wpływ Lf na produkcję śluzu, który chroni te zwierzęta przed infekcjami, a także zwiększa aktywność komórek fagocytujących krwi i aktywność surowiczego lizozymu (LZM) oraz mieloperoksydazy (MPO) [16].

Kalprotektyna to białko cytoplazmatyczne, zbudowane z dwóch podjednostek o masie 8 i 14 kDa, które posiada wyspecjalizowane fragmenty mające zdolność wiązania jonów Ca^{2+} oraz Zn^{2+} [1,15]. Najwyższe stężenie kalprotektyny u ssaków, w tym u człowieka, występuje w komórkach PMN, chociaż jej synteza zachodzi także w keratynocytach (tab. I). Obecność tego białka u ludzi stwierdzono również w surowicy krwi, ślinie oraz w niewielkich ilościach w płynie owodniowym (tab. I). Proteina ta wykazuje właściwości chemotaktyczne wobec komórek PMN, wzmagając ich zdolność migracji oraz adherencję, a także proces apoptozy [1,15]. Ponadto kalprotektyna posiada silne właściwości bakteriostatyczne dzięki możliwości wiązania jonów Zn^{2+} , a wzrost jej stężenia zarejestrowano w przypadku zakażeń *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis* [15]. Badania dowodzą również [15], że ma ona zastosowanie w wykrywaniu chorób nowotworowych u ludzi, w tym

Tabela I. Podział według nazwy oraz występowania i aktywności biologicznej peptydów przeciwdrobnoustrojowych

[2,3,4,5,6,10,12,13,14,15,17,18,20,21,22,23,24,26,27,28,31,32,33,34,35,36,37,38,39,41,43,44,45,46,47,48,49,51,52,53,54,55,56,57]

L.p.	Nazwa grupy	Nazwa peptydu	Występowanie peptydu	Wybrane elementy aktywności biologicznej peptydu
1.	Peptydy działające na struktury bakteryjne	Lizozym	– komórki PMN – ślina, łzy, krew, wydzielina dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i gruczołu mlekowego	– niszczy ściany komórkowe bakterii G+ i G- na drodze lizy
		Serprocydyny (proteinaza3, katepsyna G, elastaza)	– komórki PMN, makrofagi, komórki kości, mięśni, naczyń krwionośnych, komórki nowotworowe	– wykazują aktywność proteolityczną i katalityczną – niszczą bakterie G-
		Laktoferrylna	– komórki PMN – ślina, łzy, osocze krwi wydzielina pochwową	– wykazuje aktywność bakteriostatyczną i bakteriobójczą wobec bakterii G+ i G- oraz przeciwwirusową, pasożytniczą i grzybiczą
2.	Peptydy wiążące pierwiastki	Kalprotektyna	– komórki PMN – keratynocyty, surowica krwi, ślina, płyn owodniowy	– działa chemotaktycznie wobec komórek PMN – odgrywa ważną rolę w chorobach autoimmunologicznych i nowotworowych – niszczy bakterie i grzyby
		Hepcydyna	– wątroba, nerki, śledziona, krew, mocz	– posiada właściwości bakteriobójcze i grzybobójcze – reguluje homeostazę żelaza w organizmie
		Defensyny	– komórki PMN, makrofagi tkankowe, jelitowe komórki śródbłonkowe, kardiomiocyty, komórki nabłonkowe	– indukują wytwarzanie cytokin i chemokin – wzmagają chemotaksję i cytotoksyczność komórek UO - posiadają właściwości przeciwbakteryjne i wirusowe, grzybiczne i pasożytnicze
3.	Peptydy przerywające błony bakteryjne	Katelicyny	– komórki PMN, mieloidalne komórki prekursorowe, tkanka limfatyczna, szpik kostny	– wzmagają syntezę wielu cytokin – posiadają aktywność przeciwbakteryjną i wirusową
		PR-39	– komórki PMN u świń	– indukuje chemotaksję i syntezę proteoglikanów i hamuje apoptozę – wykazuje aktywność przeciwbakteryjną
		Protegryny	– leukocyty u świń	– wykazują aktywność bakteriobójczą
		Bakteriocyny	– bakterie, np. kwasu mlekowego (synteza)	– wykazują aktywność przeciwbakteryjną
		Białko BPI	– komórki PMN, monocyty, eozynofile, fibroblasty, komórki nabłonkowe, mieloidalne oraz komórki Sertoliego	– wpływa na wiele funkcji organizmu, np. apoptozę, wydzielanie cytokin i kinaz – wykazuje aktywność cytotoksyczną w stosunku do bakterii Gram- i Gram+

nowotworów układu rozrodczego i przewodu pokarmowego – głównie jelita grubego. Wykazano również, że u ludzi białko to odgrywa rolę w patogenezie chorób autoimmunologicznych u ludzi, takich jak dna moczanowa czy reumatoidalne zapalenie stawów [15].

Hepcydyna to peptyd kationowy o strukturze spinki do włosów, zawierający 8 reszt cysteinowych połączonych mostkami dwusiarczkowymi, regulujący homeostazę żelaza w organizmie. Jest on syntetyzowany w wątrobie, a także, jak wykazano ostatnio, w nerkach i śledzionie [17,18,19,20,21,22]. Po raz pierwszy został on wyizolowany z ludzkiego moczu oraz z krwi [23]. Jego obecność stwierdzono również u myszy i szczurów oraz różnych gatunków ryb [20,24]. Działa on bakteriobójczo, grzybobójczo i ma charakter białka ostrej fazy. U myszy wykazano [25], że po eksperymentalnym zakażeniu *Escherichia coli* następuje jego 3-krotny jego wzrost. U ludzi stwierdzono, że wykazuje właściwości bakteriobójcze przeciwko *Staphylococcus (S.) aureus* i *S. epidermidis*, *Streptococcus* z grupy B, a także właściwości grzybobójcze przeciwko *Candida albicans*, *Aspergillus (A.) fumigatus* oraz *A. niger* [21]. Badania wykazały 25-krotny wzrost tego peptydu pod wpływem IL-6, stymulującej odpowiedź fazy ostrej – typu II [26]. Natomiast *in vivo* stwierdzono, że u ludzi podanie IL-6 prowadzi do ok. 30-procentowego zmniejszenia stężenia żelaza oraz wysycenia transferryny żelazem, co wskazuje, że IL-6 oraz hepcydyna, są istotnymi czynnikami biorącymi udział w patogenezie niedokrwistości [27,28].

Peptydy przerywające błonę bakteryjną

Spośród peptydów tworzących tę grupę, a mianowicie defensyn, katelicydyn, białka PR-39, protegryn, bakteriocyn oraz białka BPI (tab. I), defensyny to małe, bogate w argininę, 30-40 aminokwasowe amfipatyczne peptydy kationowe, stanowiące jeden z najstarszych filogenetycznie mechanizmów obronnych organizmów [1,2,29,30,31]. Występują one w ziarnistościach komórek PMN, a także w makrofagach tkankowych, jelitowych komórkach śródbłonkowych oraz kardiomiocytach i komórkach nabłonkowych (tab. I). Wśród defensyn wyróżniono 12 α -defensyn (HNP1-4, HD5-6, NP1 i 5, kryptydyna 3 i 4, RMAD3-4) i 25 β -defensyn (HBD1-4, SBD1-2, TAP, LAP, EBD, BNBD1-13, PBD1-2, mBD-1), które są szeroko rozpowszechnione u ludzi i zwierząt oraz małe kuliste θ -defensyny (retrocyklina 1, 2, RTD1-3), obecne w granulocytach rezusa oraz innych małp i orangutanów Starego Świata [1,2,29,30,31]. Peptydy te wykazują działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, a także, w mniejszym stopniu, przeciwgrzybiczne i przeciw pasożytnicze oraz posiadają wiele funkcji modulujących działanie odpowiedzi immunologicznej [1,2,29,30,31]. Prawdopodobnie działają one także przeciwnowotworowo [2]. Wykazano, że działanie bakteriobójcze defensyn opiera się na wielostopniowym mechanizmie, a ich aktywność ujawnia się po 3-4 godzinach i może przebiegać w dwojaki sposób [33]. Pierwszy mechanizm wiąże się z powstawaniem kanałów w błonach bakteryjnych, które stanowią miejsce wnikania defensyn do wnętrza komórek patogenu [6]. Inny mechanizm (model Shia-Matsuzaki-Huang) polega na tym, że wiążą się one z ujemnie naładowaną błoną bakteryjną, co w konsekwencji powoduje jej całkowite rozpadanie się [7].

Jednocześnie warto zwrócić uwagę na fakt [30], iż niektóre szczepy bakteryjne, cechujące się wysoką zjadliwością, np. *Streptococcus pyogenes*, wydzielają białka, które w sposób bezpośredni oddziałują na funkcje immunologiczne gospodarza, np. poprzez wiązanie się z ludzkimi defensynami HNP-1, hBD-1,2,3 inhibitora dopełniacza SIC (*streptococcal inhibitor complement*), co w konsekwencji hamuje antyżarazkowe właściwości tych białek. Stwierdzono także, że wzmagają one aktywność UO poprzez aktywację chemotaksji monocytów, limfocytów T i niedojrzałych komórek dendrytycznych oraz powodowanie zwiększonej indukcji wytwarzania niektórych chemokin i cytokin (np. IL-8). W konsekwencji dochodzi do aktywacji dopełniacza, makrofagów i komórek tucznych oraz zwiększonej cytotoksyczności komórek NK (*natural killer*) [2,30]. Wykazano [30], że wydzielanie defensyn może być wzmagane aktywnością receptorów TLR.

Katelicydyny należą również do peptydów kationowych i wykazują podobne działanie do defensyn [3,6,32,33,34]. Występują u ludzi oraz u różnych gatunków zwierząt (m.in. u psów, koni, bydła, świń, owiec, kóz) w mieloidealnych komórkach prekursorowych, neutrofilach oraz u noworodków w tkance limfatycznej [6]. U bydła zostały one stwierdzone w komórkach mieloidealnych szpiku kostnego (Bac5, Bac7, Bac2S) [6]. U tych zwierząt, na podstawie sekwencji nukleotydowej, wyodrębniono katelicydyny BMAP-27 i BMAP-28, które wykazują szerokie spektrum aktywności przeciwbakteryjnej, wzbudzonej dzięki efektywnemu wiązaniu się z LPS [35]. Katelicydyny magazynowane są w komórkach PMN jako nieaktywne propeptydy, a po stymulacji czynnikiem infekcyjnym uwalniane są do płynu zewnątrzkomórkowego jako formy aktywne [6]. Wykazują one aktywność przeciwbakteryjną i przeciwwirusową oraz biorą udział m.in. w procesach immunomodulacji, przyczyniając się do proliferacji komórek i ich migracji, a także do uwalniania cytokin oraz histaminy [32,33,36]. Wykazano ponadto [34], że katelicydyna wraz z witaminą D3, poprzez aktywację genów warunkujących autofagię – *Beclin-1* i *atg5*, wpływa na proces autofagii monocytów i makrofagów w czasie infekcji *Mycobacterium tuberculosis* u ludzi. Niektóre z nich powodują obniżenie uwalniania TNF- α [32]. Do rodziny katelicydyn należy m.in. 39-aminokwasowy, bogaty w prolinę i argininę peptyd PR-39, którego występowanie zarejestrowano tylko w komórkach PMN świń [37]. Peptyd ten wykazuje aktywność przeciwko *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serowar *typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes* [33]. Mechanizm bakteriobójczego działania tego peptydu wynika z faktu, iż pełni on funkcję inhibitora dla produkcji reaktywnych form tlenu, hamując powstawanie kompleksu oksydazy NADPH w komórkach PMN i generując rodnik ponadtlenkowy, co z kolei indukuje stres oksydacyjny, peroksydację lipidów i w konsekwencji prowadzi do zabicia drobnoustrojów [38]. Wykazuje on, oprócz właściwości przeciwbakteryjnych, rolę chemoatraktantu dla granulocytów obojętnochłonnych [39]. Ponadto jest bodźcem indukującym syntezę syndekanu-1 i -4 – proteoglikanów, które m.in. regulują wzrost komórek [40]. Dowiedziano, że peptyd ten hamuje apoptozę indukowaną w wyniku wyczerpania składników odżywczych oraz działania LPS czy kamptotecyny, poprzez inhibicję aktywności

kaspazy-3 [37]. Do katelicyn należą również protegryny – białka kationowe bogate w cysteinę o długości 16-18 aminokwasów i dwóch wiązaniach dwusiarczkowych, opisane w leukocytach u świń [41,42]. Najsilniejsze działanie przeciwbakteryjne stwierdzono u protegryny-1 (PG-1), której centralna część ma charakter amfipatyczny, co warunkuje jej aktywność bakteriobójczą przede wszystkim wobec *Neisseria gonorrhoeae* i *Chlamydia trachomatis* serowary L2, E oraz MoPn [42,43].

Bakteriocyny to przeciwdrobnoustrojowe peptydy syntetyzowane przez bakterie komensaliczne bytujące w przewodzie pokarmowym, m.in. bakterie kwasu mlekowego (LAB – *lactic acid bacteria*) [23,44,45,46,47,48,49]. Produkowane przez bakterie kwasu mlekowego zostały podzielone na trzy klasy [44]. Klasa pierwsza obejmuje lantybiotyki, będące peptydami termostabilnymi, które w swej strukturze zawierają nietypowy aminokwas, powstający podczas obróbki potranslacyjnej peptydu – lantoninę [48,49]. W tej klasie wyróżniono również typ A lantybiotyków, do którego należy nizyna oraz typ B, obejmujący m.in. mersacydynę i aktagardynę [49]. Do klasy drugiej zaliczane są bakteriocyny nielantybiotykowe – peptydy niemodyfikowane, wykazujące silną aktywność wobec *Listeria* spp [46]. Ta klasa została z kolei podzielona na 3 podklasy: Do podklasy IIa, do której należą bakteriocyny pediocynopodobne, wykazujące silne działanie przeciwbakteryjne [45]. Podklasa IIb to bakteriocyny dipeptydowe, których działanie wymaga oddziaływania dwóch peptydów, np. laktokokcyny M i G, jak również takie peptydy, których aktywność zwiększa się dzięki wspólnemu oddziaływaniu, np. laktacyna F i plantarycyna S [46]. Podklasę IIc tworzą bakteriocyny sec-zależne, wydalane za pomocą białek sec, m.in. diwergicyna i laktokokcyny [48]. Natomiast klasa trzecia bakteriocyn obejmuje peptydy termostabilne, z których każdy ma charakterystyczne właściwości [46]. Ogólny mechanizm działania bakteriocyn polega na tworzeniu porów w błonie komórkowej wrażliwych na nie bakterii, przez które „wyciekają” m.in. aminokwasy i ATP, co w konsekwencji powoduje naruszenie ciągłości błony komórkowej i zahamowanie wszystkich procesów życiowych komórki [47,48]. Należy podkreślić, że zainteresowanie bakteriocynami jest spowodowane przede wszystkim faktem, iż są one bezpieczne dla człowieka, a także możliwością ich zastosowania nie tylko w medycynie, ale też w przemyśle spożywczym.

Białko BPI (*bactericidal/permeability-increasing protein*) jest kationowym polipeptydem występującym w ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych u ludzi, królików i bydła [50]. U ludzi białko to stwierdzone jest w mniejszych ilościach w monocytach, granulocytach kwasochłonnych [51], fibroblastach [52] i komórkach nabłonkowych [53], zaś u myszy występuje w niewielkich ilościach w komórkach mieloidalnych, natomiast główne źródło stanowią komórki Sertoliego [54]. Peptyd ten posiada przede wszystkim właściwości bakteriobójcze, które wynikają z jego silnego powinowactwa do lipidu A – składnika LPS w ścianie komórkowej bakterii Gram-ujemnych [50,51,52,53,54]. BPI, po związaniu się z zewnętrzną błoną bakteryjną bakterii Gram-ujemnych, powoduje następnie penetrację cząsteczek białka do ich błony wewnętrznej, co wywołuje utratę integralności błony, rozproszenie gradientu elektro-

chemicznego i w konsekwencji śmierć bakterii [51]. Wykazano także [55], że BPI w określonych warunkach może wiązać się ze ścianą komórkową bakterii Gram-dodatnich. Oprócz właściwości bakteriobójczych, zarejestrowano także inne cechy tego peptydu antyzarazkowego. Wykazano na przykład, że białko to posiada zdolność hamowania aktywności prozapalnej LPS, obejmującej indukcję uwalniania cytokin, aktywację oksydazy występującej w neutrofilach oraz syntezę tlenku azotu (NO) [56]. Pełni ono także inne funkcje, m.in. przyspiesza proces apoptozy, a także hamuje migrację komórek śródbłonkowych żyły pępkowej u ludzi [41]. Może także odwracać efekty naczyniotwórcze czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF – *vascular endothelial growth factor*) w komórkach śródbłonkowych siatkówki [56]. Natomiast w komórkach nabłonkowych siatkówki i w komórkach przydanki naczyń u bydła jeden z homologów BPI – rBPI21, działa odwrotnie i aktywuje kinazę ERK (*extracellular-regulated kinase*), która jest zaangażowana w proliferację i różnicowanie tych komórek. W tych dwóch typach komórek, tj. w komórkach nabłonkowych siatkówki i przydanki naczyń, ale nie w komórkach śródbłonkowych siatkówki, BPI zwiększa także syntezę DNA oraz aktywuje szlak antyapoptotyczny [56]. Jednak wciąż niejasny pozostaje wpływ BPI na komórki śródbłonkowe i nabłonkowe siatkówki oka u bydła [56]. Zarejestrowano [2,50], że niektóre peptydy należące do defensyn i katelicyn działają synergistycznie i wzmagają aktywność zarazkobójczą BPI.

Regulacja wydzielania białek przeciwdrobnoustrojowych

Przyjmuje się, że peptydy HDP wykazują duże zróżnicowanie i wielorakość. Funkcjonują w oparciu o receptory PRR (*patogen recognition receptors*), a także „prawa” procesu zapalnego, jako że podczas „inwazji” patogenów ich produkcja jest stymulowana m.in. przez oddziaływanie na nie komórek dendrytycznych, makrofagów i komórek nabłonkowych [58]. Stwierdzono [58], że najistotniejszymi elementami, wpływającymi na regulację wydzielania tych antybakteryjnych peptydów, są limfocyty TH17 oraz IL-17 i 22. Wykazano, że wspomniane interleukiny pełnią ważną rolę w regulacji tych humoralnych czynników antybakteryjnych działających lokalnie, np. w komórkach epitelialnych i tkance nabłonkowej, co warunkuje m.in. to, że nie dochodzi do rozprzestrzenienia się infekcji [58]. Zaobserwowano, że podczas wniknięcia patogenów do organizmu, po pokonaniu bariery nabłonek-komórka, dochodzi do ekspresji wielu receptorów PRR, a także cytokin zapalnych, takich jak IL-1 α , IL-1 β , IL-18, które następnie indukują kaskadę zdarzeń wynikającą z ich funkcji [58]. Przykładem takiej kaskady sygnałnej jest indukcja produkcji β -defensyn w płucach przez IL-1 β , a także indukcja IL-18 podczas zakażeń *Escherichia coli* czy *Burkholderia pseudomallei* [58]. Ponadto wykazano, że różnicowanie komórek CD4+ T w dojrzale komórki T jest ściśle związane z zachowaniem *status quo* organizmu i widać to np. u pacjentów z HIV-1, którzy cierpią często z powodu infekcji tkanki nabłonkowej, skóry, przewodu pokarmowego i płuc [58]. Natomiast fakt, że ci sami pacjenci są bardziej wrażliwi na zakażenia patogenami wewnątrzkomórkowymi, takimi jak *Mycobacterium tuberculosis*, można wytłumaczyć brakiem

odporności mediowanej komórkami TH1 [58]. Analogiczna sytuacja ma miejsce przy wielu innych zakażeniach wirusowych u zwierząt, kiedy te infekcje stanowią „wrota” do zakażeń osłabionego organizmu gospodarza bakteriami [8].

Podsumowanie

W ostatnich latach znacznie wzrosło zainteresowanie procesami związanymi z wrodzoną odpornością organizmu, co jest spowodowane m.in. zwiększającą się opornością bakterii na związki chemiczne, w tym na antybiotyki. Nowoczesne strategie, mające na celu przezwyciężenie oporności drobnoustrojów na antybiotyki, opierają się

m.in. na wykorzystywaniu peptydów produkowanych przez różne gatunki zwierząt – zarówno przez ich komórki układu odpornościowego, jak i przez bakterie występujące w ich przewodzie pokarmowym, które wykazują właściwości niszczące zarazki. Zaletą tych peptydów jest stosunkowo mała cytotoksyczność względem komórek eukariotycznych oraz brak oporności bakterii na te peptydy. Dlatego też poznanie biologicznych aspektów związanych z działaniem peptydów przeciwdrobnoustrojowych może przyczynić się nie tylko do skutecznej terapii wielu chorób, ale także do ich profilaktyki.

Piśmiennictwo

1. Deptuła W, Tokarz-Deptuła B, Stosik M. Immunologia dla biologów – wydanie nowe. Wyd. US Szczecin, Szczecin 2008
2. Niedźwiedzka-Rystwek P, Deptuła W. Defensyny – ważny wrodzony element układu odpornościowego u ssaków. Post. Hig. Med. Dośw. 2008; 62: 524-529.
3. Linde A, Ross CR, Davis EG, Dib L, Blecha F, Melgarejo T. Innate immunity and host defense peptides in veterinary medicine. J. Vet. Intern. Med. 2008; 22: 247-265.
4. Sima P, Trebichavsky I, Sigler K. Mammalian antibiotic peptides. Folia Microbiol (Praha) 2003; 48: 123-137.
5. Boman HG. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts. J. Intern. Med. 2003; 254: 197-215.
6. Scott MG, Hancock RE. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. Crit. Rev. Immunol. 2000; 20: 407-431.
7. Matsuzaki K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. Biochim. Biophys. Acta. 1999; 1462: 1-10.
8. Deptuła W, Buczek J. Odporność w chorobach wirusowych zwierząt. Medycyna Weter. 1994; 50: 357-360.
9. Faurischou M., Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. Microbes Infect. 2003; 5: 1317-1327.
10. Niedźwiedzka-Rystwek P, Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Charakterystyka wybranych substancji bójczych granulocytów obojętnochnych oraz ich receptorów. Adv. Agric. Sci. 2008; 11: 17-32.
11. Nowaczyk P. Zjawiska immunologiczne, apoptoza oraz badania wirusologiczne metodami biologii molekularnej królików immunizowanych wirusem EBHS (European Brown Hare Syndrome). Praca dokt. WNP US, Szczecin 2007
12. Moriuchi H, Moriuchi M, Fauci AS. Cathepsin G, a neutrophil-derived serine protease, increases susceptibility of macrophages to acute human immunodeficiency virus type 1 infection. J. Virol. 2000; 74: 6849-6855.
13. Shai Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by alpha-helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides. Biochim. Biophys. Acta. 1999; 1462: 55-70.
14. Strate BW van der, Beljaars L, Molema G. Antiviral activities of lactoferrin. Antiviral Res. 2001; 52: 225-239.
15. Kondera-Anasz Z, Marek Z, Mielczarek-Palacz A, Sikora J. Kalprotektyna – budowa i funkcje. Pol. Arch. Med. Wew. 2006; 115: 248-253.
16. Małaczewska J, Wójcik R, Siwicki AK. Możliwości zastosowanie laktoferyny jako immunostymulatora w hodowli ryb i skorupiaków. Medycyna Weter. 2009; 65: 95-98.
17. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood 2003; 102: 783-788.
18. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SG, Rost D, Janetzko A, Cetin Y, Stremmel W. The iron – regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. J. Endocrinol. 2005; 184: 361-370.
19. Liu XB, Nguyen NB, Marquess KD, Yang F, Haile DJ. Regulation of hepcidin and ferroportin expression by lipopolysaccharide in splenic macrophages. Blood Cells Mol. Dis. 2005; 35: 47-56.
20. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. J. Biol. Chem. 2001; 276: 7806-7810.
21. Rogalska M, Flisiak R. Hepcydyna – współczesny stan wiedzy. Diagn. Lab. 2007; 43: 295-301.
22. Sokołowska E, Klimek J. Hepcydyna – hormon uczestniczący w regulacji metabolizmu żelaza w organizmie. Post. Biol. Kom. 2007; 34: 15-30.
23. Rogne C, Emanuelsen L. The two-peptide class II bacteriocins: structure, production, and mode of action. Biochimie 2002; 84: 577-592.
24. Douglas SE, Gallant JW, Liebscher RS, Dacanay A, Tsoi SC. Identification and expression analysis of hepcidin – like antimicrobial peptides in bony fish. Dev. Comp. Immunol. 2003; 27: 589-601.
25. Motley ST, Morrow BJ, Liu X, Dodge IL, Vitiello A, Ward CK, Shaw KJ. Simultaneous analysis of host and pathogen interactions during an in vivo infection reveals local induction of host acute phase response proteins, a novel bacterial stress response, and evidence of a host – imposed metal ion limited environment. Cell Microbiol. 2004; 6: 849-865.
26. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Scgiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute – phase protein. Blood 2003; 101: 2461-2463.
27. Ganz T. Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. Best Pract. Res. Clin. Haematol. 2005; 18: 171-182.
28. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. J. Clin. Invest 2004; 113: 1271-1276.
29. Ganz T. Defensins and other antimicrobial peptides: A historical perspective and an update. Comb. Chem. High Throughput Screen. 2005; 8: 209-217.
30. Menendez A, Finlay BB. Defensins In the immunology of bacterial infections. Curr. Opin. Immunol. 2007; 19: 385-391.
31. Wah J, Welik A, Frankenberger M, Unterberger P, Welsch U, Bals R. Antimicrobial peptides are present in immune and host defense cells of the human respiratory and gastrointestinal tracts. Cell Tissue Res. 2006; 324: 449-456.
32. Bals R, Weiner DJ, Moscioni AD, Meegalla RL, Wilson JM. Augmentation of innate host defense by expression of a cathelicidin antimicrobial peptide. Infect. Immun. 1999; 67: 6084-6089.

33. Ramanathan B, Davis EG, Ross CR, Blecha F. Cathelicidins: microbicidal activity, mechanisms of action, and roles in innate immunity. *Microb. Infect.* 2002; 4: 361-372.
34. Yuk J-M, Shin D-M, Lee H-M, Yang C-S, Jin HS, Lee Z-W, Kim J-M, Jo E-K. Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin. *Cell Host Microbe* 2009; 6: 231-243.
35. Skerlavaj B, Gennaro R, Bagella L, Merluzzi L, Risso A, Zanetti M. Biological characterization of two novel cathelicidin-derived peptides and identification of structural requirements for their antimicrobial and cell lytic activities. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 28375-28381.
36. Zanetti M, Litteri L, Gennaro R, Horstmann H, Romeo D. Bactenecins, defense polypeptides of bovine neutrophils, are generated from precursor molecules stored in the large granules. *J. Cell. Biol.* 1990; 111: 1363-1371.
37. Ramanathan B, Wu H, Ross CR, Blecha F. PR-39, a porcine antimicrobial peptide, inhibits apoptosis: involvement of caspase-3. *Dev. Comp. Immunol.* 2004; 28: 163-169.
38. Shi J, Ross CR, Leto TL, Blecha F. PR-39, a proline antibacterial peptide that inhibits phagocyte NADPH oxidase activity by binding to Src homology 3 domains of p47phox. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 6014-6018.
39. Huang HJ, Ross CR, Blecha F. Chemoattractant properties of PR-39, a neutrophil antibacterial peptide. *J. Leukocyte Biol.* 1997; 61: 624-629.
40. Gallo RL, Ono M, Povsic T, Page C, Eriksson E, Klagsbrun M, Bernfield M. Syndecans, cell surface heparin sulfate proteoglycans, are induced by a proline – rich antimicrobial peptide from wounds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1994; 91: 11035-11039.
41. Schaft DW van der, Daisy WL, Toebes EAH, Haseman JR, Mayo KH, Griffioen AW. Bactericidal/permeability – increasing protein (BPI) inhibits angiogenesis via induction of apoptosis in vascular endothelial cells. *Blood* 2000; 96: 176-181.
42. Tang YQ, Yuan J, Osapay G, Osapay K, Tran D, Miller CJ, Ouellette AJ, Selsted ME. A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated alpha – defensins. *Science* 1999; 286: 498-502.
43. Shafer WM, Qu XD, Waring AJ, Lehrer RI. Modulation of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to vertebrate antibacterial peptides due to a member of the resistance/nodulation/division efflux pump family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 1829-1833.
44. De Vuyst L, Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification and food applications. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 13: 194-199.
45. Drider D, Fimlang G. The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2006; 70: 564-582.
46. Eijssink G, Axelsson L, Dzung B, Diepl L, Leiv S, Helge H, Ingolf FN. Production of class II bacteriocins by lactic acid bacteria; an example of biological warfare and communication. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 81: 639-654.
47. Hechard Y, Sahl HG. Mode of action of modified and unmodified bacteriocins from Gram-positive bacteria. *Biochimie* 2002; 84: 545-557.
48. Śliwa-Dominiak J, Deptuła W. Rola mikroorganizmów komensalnych u ssaków. *Medycyna Weter.* 2010 (w druku)
49. Twomey D, Ross P, Ryan M, Meaney B, Hill C. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and applications. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2002; 82: 165-185.
50. Levy O, Sisson RB, Kenyon J, Eichenwald E, Maccone AB, Goldmann D. Enhancement of neonatal innate defense: effects of adding an N-terminal recombinant fragment of bactericidal/permeability – increasing protein on growth and tumor necrosis factor – inducing activity of Gram-negative bacteria tested in neonatal cord blood ex vivo. *Infect. Immun.* 2000; 68: 5120-5125.
51. Calafat J, Janssen H, Tool A, Dentener MA, Knol EF, Rosenberg HF, Egesten A. The bactericidal/permeability – increasing protein (BPI) is present in specific granules of human eosinophils. *Blood* 1998; 91: 4770-4775.
52. Reichel PH, Seemann C, Csemok E, Schroder JM, Muller A, Gross WL, Schultz H. Bactericidal/permeability – increasing protein is expressed by human dermal fibroblasts and upregulated by interleukin 4. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2003; 10: 473-475.
53. Canny G, Levy O, Furuta GT, Narravula-Alipati S, Sisson RB, Serhan CN, Colgan SP. Lipid mediator – induced expression of bactericidal/permeability – increasing protein (BPI) in human mucosal epithelia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 3902-3907.
54. Lennartsson A, Pieters K, Vidovic K, Gullberg U. A murine antibacterial ortholog to human bactericidal/permeability – increasing protein (BPI) is expressed in testis, epididymis and bone marrow. *J. Leukocyte Biol.* 2005; 77: 369-377.
55. Srivastava A, Casey H, Johnson N, Levy O, Malley R. Recombinant bactericidal/permeability – increasing protein rBPI21 protects against pneumococcal disease. *Infect. Immun.* 2007; 75: 342-349.
56. Ciornei CD, Egesten A, Engstrom M, Tornebrandt K, Bodelsson M. Bactericidal/permeability – increasing protein inhibits endotoxin – induced vascular nitric oxide synthesis. *Acta Anaesthesiol. Scand.* 2002; 46: 1111-1118.
57. Yamagata M, Rook S.L, Sassa Y, Ma RC, Gerald P, Goddard L, Clermont A, Gao B, Salti H, Gundel R, White M, Feener EP, Aiello LP, King GL. Bactericidal/permeability – increasing protein's signaling pathways and its retinal trophic and antiangiogenic effects. *FASEB J.* 2006; 20: 2058-2067.
58. Kolls JK, McCray PB, Chan YR. Cytokine-mediated regulation of antimicrobial proteins. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8: 829-835.