

ЭНДОГЕННЫЕ АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ЧЕЛОВЕКА

Азимова В.Т.¹, Потатуркина-Нестерова Н.И.¹, Нестеров А.С.¹

¹ ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», azimova_vera@mail.ru

В статье представлены статистические данные об основных семействах эндогенных антимикробных пептидов (АМП), синтезируемых организмом человека. Отмечено, что данные соединения являются важными неспецифическими факторами гуморального иммунитета, обладающими микробицидной, хемотаксической, иммуномодулирующей и цитотоксической активностью, а также вносят вклад в общую защиту организма и развитие процессов воспаления. Описан механизм действия АМП, который является универсальным даже для выработавших в процессе эволюции резистентность к различным антибиотикам микроорганизмов. При этом отмечено, что многие натуральные пептиды помимо чужеродных микроорганизмов способны разрушать эритроциты крови человека. Несмотря на слабую изученность этих и других аспектов применения АМП, широта затрагиваемых проблем современной науки позволяет данной теме быть актуальной и заслуживающей дальнейшей разработки.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, дефензины, кателицидины, гистатины.

HUMAN ENDOGENOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES (LITERATURE REVIEW)

Azimova V.T.¹, Potaturkina-Nesterova N.I.¹, Nesterov A.S.¹

¹ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "Ulyanovsk State University", azimova_vera@mail.ru

In the article, the author delivers statistical data about main families of endogenous antimicrobial peptides (AMPs) that are produced by a human body. It is noted that these compounds are important nonspecific factors of humoral immunity characterized by microbicide, chemotactic, immune modulating, and cytotoxic activity, as well as being contributors to general protection of a human body and progression of inflammatory processes. Mechanism of action of AMPs is described that is universal even for microorganisms that during their evolution acquired resistance to various antibiotics. Meanwhile it is noted that many natural peptides can destroy human red blood cells besides foreign microorganisms. Despite the insufficient knowledge about these and other aspects of AMPs implementation, the spread of the present-day scientific problems touched upon makes this issue topical and worth being further developed.

Keywords: antimicrobial peptides, defensins, cathelicidins, histatins.

В настоящее время в науке и медицине большое внимание уделяется веществам, имеющим антибиотические свойства [20]. Одной из групп таких веществ являются антимикробные пептиды (АМП) - низкомолекулярные соединения, построенные из аминокислот и имеющие катионную или амфипатическую природу [3], которые синтезируются в организме большинства эукариот в ответ на внедрение чужеродных микроорганизмов [21].

АМП являются неспецифическими факторами гуморального иммунитета, обладают эндотоксин-нейтрализующей и иммуномодулирующей активностью, а также обеспечивают защиту против широкого спектра микроорганизмов [16]: грамотрицательных и грамположительных бактерий, грибов, вирусов и простейших [2].

О существовании АМП известно уже несколько десятилетий, но только недавно интерес к этим молекулам перешел из плоскости фундаментальных исследований иммунной системы в клиническую область. На сегодняшний день у человека обнаружено три семейства таких пептидов [7; 16; 18]: дефензины, кателицидины и гистатины.

Впервые дефензины млекопитающих были описаны в 1956 году Robert C. Skarnes и Dennis W. Watson как фагоцитины полиморфноядерных лейкоцитов кролика. В серии работ Н.И. Zeya и John K. Spitznagel показали, что данные протеины относятся к одному молекулярному семейству, которое они определили как семейство катионных антимикробных протеинов, и только в 1985 году Michael E. Selste дал им современное название — дефензины [1]. Дефензины – это катионные амфипатические пептиды длиной от 30 до 42 аминокислот с трехнитевой β -пластинчатой структурой, содержащей три дисульфидные связи [24; 29]. На основе способа дисульфидного связывания дефензины разделяют на три семейства – α -, β - и θ -дефензины. В организме человека присутствуют два вида: α - и β -дефензины [9]. Они синтезируются только нейтрофилами, что позволяет считать их специфическими клеточными маркерами этих клеток.

α -дефензины - классические «нейтрофильные» дефензины (HNP), были идентифицированы в азурофильных гранулах нейтрофилов и впервые описаны в середине 1980-х годов. Гранулы нейтрофилов являются основным депо для четырех α -дефензинов (HNP1-4), два α -дефензина - HD5 и HD6 - выявлены в клетках Панета. Секретируемые нейтрофилами α -дефензины можно обнаружить в биологических жидкостях [8].

Первый β -дефензин был обнаружен при изучении почки человека из диализата гемофильтрата и описан в начале 1990-х годов. Это был пептид из 36 аминокислотных остатков (HBD1) [25]. Основными β -дефензинами человека являются HBD1-6. Сегодня известно, что молекулы β -дефензинов - более вариабельные пептиды, они менее консервативны в аминокислотной последовательности. Кроме того, HBD найдены в различных изоформах.

Основными продуцентами β -дефензинов являются кератиноциты, эпителиоциты слизистых оболочек, макрофаги, моноциты, дендритные клетки [5].

Активация нейтрофилов при инфекционных и воспалительных процессах приводит к быстрому высвобождению дефензинов, которые затем обнаруживаются в плазме и других жидкостях организма. В нормальной плазме обнаруживается очень низкий уровень дефензинов (от неопределяемых величин до 50-100 нг/мл), однако в условиях сепсиса содержание их может возрасти до 10 мг/мл и даже выше. К примеру, нарушение активации цитокинов и дефензинов на поверхностном эпителии репродуктивного тракта влечет за собой внедрение возбудителя даже при малом его количестве [15].

В дополнение к микробицидному действию α -дефензины проявляют также хемотаксическую, иммуномодулирующую и цитотоксическую активность, вносят вклад в общую защиту организма и развитие процессов воспаления. Совсем недавно была открыта антивирусная активность некоторых дефензинов. Считается, что α -дефензины вносят

серьезный вклад в антиВИЧ-1 активность антивирусного фактора CD8. Это обстоятельство открывает новые возможности в исследовании ВИЧ. Показано, что пациенты, у которых отсутствуют α -дефензины, страдают частыми и тяжелыми бактериальными инфекциями [16].

Помимо всего вышперечисленного, дефензины экспрессируются на всем протяжении репродуктивного тракта женщин, где выполняют ряд функций, которые играют ключевую роль в сохранении и защите плода во время беременности. Более глубокое понимание функций дефензинов и механизмов их действия позволит рассматривать их в качестве терапевтических средств контроля заболеваний женщин, включая осложнения беременности и послеродового периода [26].

Кателицидины — группа пептидов, выявленных в лимфоцитах и моноцитах, а также в эпителиальных клетках [11]. Человеческий катионный антимикробный белок (hCAP18) является к настоящему времени единственным идентифицированным человеческим кателицидином. Было показано, что антибактериальный С-концевой фрагмент hCAP18 – LL37, проявляет антимикробную активность как против грам(-), так и против грам(+) бактерий, грибов, вирусов и простейших. Этот пептид является важным фактором реэпителизации ран, также была показана его ангиогенная активность *in vivo* и *in vitro*. Более того, LL37 функционирует в качестве хемотаксического агента для нейтрофилов, моноцитов и Т-клеток.

Значительное повышение содержания LL37 отмечено в семенной плазме и на поверхности сперматозоидов у здоровых доноров. Считается, что LL37 предотвращает поражение сперматозоида микроорганизмами на пути к яйцеклетке и во время оплодотворения. Недостаточность LL37 в слюне согласуется с наличием заболевания пародонтита у пациентов с болезнью Костманна. Известно, что больные атопическим дерматитом с дефицитом экспрессии LL37 чаще страдают вакцинальной экземой.

LL37 устойчив к протеолитическому разрушению и, в ограниченной степени, цитотоксичен по отношению к клеткам млекопитающих. Установлено, что нормальное содержание LL37 в плазме составляет 1,2-1,8 мкг/мл. Во время инфекционных заболеваний концентрация этого белка повышается [17].

Гистатины — это семейство богатых гистидином катионных белков слюны с массой 3-5 кДа, синтезируемых ацинарными клетками околоушной и поднижнечелюстной желез [28]. Гистатины оказывают прямое фунгицидное действие [19]. Обнаружены только в слюне человека и некоторых высших приматов. Концентрация гистатинов в слюне — примерно 45—75 мкг/мл. Гистатины способны также осаждать танины, причем более эффективно, чем пролин-богатые протеины, особенно при нейтральных значениях pH и высоких

концентрациях танинов [12]. Гистатины являются слабо амфипатичными пептидами. На моделях липосом было показано, что они обладают слабой литической способностью [24; 26]. Интенсивность кандидной колонизации находится в зависимости от концентрации гистатинов, в свою очередь, их уровень повышается при кандидозе полости рта [10; 13].

Большой проблемой современности является развитие резистентности (способности микроорганизмов развиваться и размножаться при внедрении химического препарата, который обычно действует на уничтожение этих микробов или на прекращение их роста) микроорганизмов к антимикробным препаратам [4; 23].

Механизм действия антимикробных пептидов универсален, вследствие чего они губительны даже для тех микроорганизмов, которые выработали устойчивость к различным антибиотикам в процессе эволюции [22].

Существуют значительные различия структуры клеточной стенки и клеточной мембраны у грамположительных и грамотрицательных бактерий. Грамположительные бактерии содержат наружную клеточную стенку, состоящую из многих слоев пептидогликана, под которой находится клеточная мембрана [6]. Грамотрицательные бактерии обладают наружной клеточной мембраной, содержащей большое количество липополисахарида, а также истинной внутренней цитоплазматической мембраной [14]. Последняя покрыта меньшим, чем у грамположительных бактерий, числом полигликановых слоев и отделена от наружной мембраны периплазматическим пространством. Таким образом, грамотрицательные бактерии обладают серьезным барьером на пути проникновения лекарств. Липофильные препараты или водорастворимые вещества с низкой молекулярной массой могут проходить через пориновые каналы. Изменения содержания или состава пориновых белков или липополисахаридов наружной мембраны могут обусловить возникновение резистентности вследствие снижения проницаемости к антибиотикам.

Известно, что большая часть антибактериальных пептидов воздействует на мембрану бактерий, точнее, на её жировой слой. Кроме того, такие пептиды всегда обладают положительным зарядом, а жировой слой мембраны бактерии заряжен отрицательно. Поэтому ясно, что главный принцип антибактериального эффекта – это электростатический эффект. Однако иногда пептиды эффективны в отношении одного типа микроорганизмов, а других, с идентичным зарядом мембраны, нисколько не повреждают. Кроме того, нет объяснений, каким образом положительно заряженные пептиды воздействуют на электрически нейтральный липидный слой клеточной мембраны млекопитающих [2].

Ещё одно немаловажное проявление пептидов – амфифильность. Это означает, что заряженные и нейтральные аминокислоты находятся по разные стороны цепочки, т.е. заряд принадлежит не всему пептиду, а лишь одному его концу. Процесс разрушения пептидом

клеточной мембраны хорошо иллюстрируют ряд моделей. Наиболее известна «порообразующая» модель, в соответствии с которой пептиды при попадании в окружение липидов входят в мембрану, пронизывая её насквозь; при этом структура образующихся пор может различаться. В других моделях стенки поры образованы как из пептидов, так и из жировых частиц. В данном случае пора принимает форму тороида («тороидальная» модель). Когда в мембране образуется большое количество пор, она теряет устойчивость, и тогда цитоплазма вместе с клеточными органоидами выходит во внешнюю среду – при этом микроорганизм гибнет. Существует ещё одна модель (именуемая «ковровой»), согласно которой положительно заряженные частицы пептидов равномерно покрывают клеточную мембрану, создавая молекулярный «ковёр». При этом мембрана микроорганизма начинает активно разрушаться сразу в нескольких местах [23]. Создающийся таким образом электростатический эффект значительно затрудняет развитие резистентности микроорганизмов, так как требует внесения серьезных изменений в структуру и электрофизиологические свойства клеточной мембраны, снижая конкурентоспособность резистентных штаммов [17].

Универсальность действия на микроорганизмы, а также способность быстро поражать клетки-мишени и широкий спектр действия позволяют рассматривать антимикробные пептиды в качестве основы для создания новых лекарств, особенно на фоне глобальной проблемы снижения эффективности обычных антибиотиков. Однако стоит обратить внимание на то, что многие натуральные пептиды помимо чужеродных микроорганизмов способны разрушать эритроциты крови [17]. В этом и состоит сложность использования АМП в медицине. Механизм действия пептидов по сей день слабо изучен, поэтому направленный синтез молекул, при котором пептиды бы действовали исключительно на возбудителей, не причиняя вреда клеткам человека, пока невозможен.

Но, несмотря на недостаточную изученность, в последние годы обрисовались перспективы применения антимикробных пептидов в клинической практике. Так, в Европе уже проходят клинические исследования медикамента, основу которого составляет антимикробный пептид, полученный из секрета мушки дрозофила. Он показывает достаточный уровень эффективности в борьбе с тяжёлой грибковой инфекцией, которая часто прогрессирует после химиотерапии или трансплантации органов. Антимикробные пептиды начинают активно вырабатываться клетками человеческого организма при локальных повреждениях или наличии болезнетворных микроорганизмов. Поэтому они оптимальны в терапии местных воспалений.

Клиническое применение эндогенных антимикробных пептидов затрагивает широкий круг проблем современной теоретической и прикладной науки [17]. Многие аспекты

применения АМП еще до конца не изучены. Тем не менее эта тема заслуживает пристального внимания и дальнейшей разработки.

Список литературы

1. Абатуров А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины. Дефензины — молекулы, переживающие ренессанс (часть 2) // Здоровье ребенка. – 2011. – Т. 7. – С. 34.
2. Алешина Г.М., Кокряков В.Н., Шамова О.В., Орлов Д.С. и др. Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета // Медицинский академический журнал. – 2010. – № 4. – С. 149-160.
3. Антимикробные пептиды (antimicrobial peptides). – URL: http://humbio.ru/humbio/tarantul_sl/0000020d.htm (дата обращения: 15.11.14).
4. Березняков И.Г. Резистентность к антибиотикам: причины, механизмы, пути преодоления // Клин. антибиотикотерапия. – 2001. – №. 4. – С. 12.
5. Будихина А.С., Пинегин Б.В. Дефензины – мультифункциональные катионные пептиды человека // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2008. – №. 2. – С. 31.
6. Грамположительные бактерии: клеточная стенка. – URL: http://medbiol.ru/medbiol/infect_har/0014955e.htm (дата обращения: 1.12.14).
7. Ермоленко Е.И. Бактериоцины энтерококков: проблемы и перспективы использования (обзор литературы) // Вестник Санкт-Петербургского университета. - 2009. - 11 (3). – С. 78-93.
8. Ильяшенко М.Г. Клинико-диагностическое значение антимикробных пептидов у больных язвенным колитом (дис.). – Ростов н/Д, 2014.
9. Ильяшенко М.Г., Тарасова Г.Н., Гусева А.И. Эндогенные антимикробные пептиды и их клинико-патогенетическая значимость при воспалительных заболеваниях кишечника // Медицинские науки. – 2012. – №. 2.
10. Кулакова Е.В., Елизарова В.М., Пампура А.Н. Эндогенные антимикробные полипептиды - факторы неспецифической защиты организма // Российский стоматологический журнал [М. : Медицина]. – 2012. – С. 42-45.
11. Литвицкий П.Ф., Синельникова Т.Г. Врожденный иммунитет: механизмы реализации и патологические синдромы // Вопросы современной педиатрии. – 2009. – Т. 8. – №. 4. – С. 95-101.
12. Макаренко О.А., Левицкий А.П. Взаимодействие флавоноидов с протеинами // Досягнення біології та медицини, 2012.

13. Межевикина Г.С. и др. Современные аспекты этиологии и патогенеза кандидоза слизистой оболочки полости рта // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2012. - № 3. – С. 152-157.
14. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология : учебник. - 2003. – 464 с.
15. Мирошниченко Ю.А., Шестопапов А.В., Смольянинова Л.П. Роль факторов врожденного иммунитета слизистой оболочки репродуктивного тракта // Журнал фундаментальной медицины и биологии. - 2013. - №. 1. – С. 11.
16. Некоммерческое партнёрство (ассоциация) специалистов лабораторной диагностики Иркутской области. Эндогенные антимикробные пептиды и белки. - URL: http://asld.baikal.ru/index.php?id=52&Itemid=53&option=com_content&task=view (дата обращения: 20.10.14).
17. Окороченков С.А., Желтухина Г.А., Небольсин В.Е. Антимикробные пептиды: механизмы действия и перспективы практического применения // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58. – №. 2. – С. 131-143.
18. Похиленко В.Д., Перельгин В.В. Бактериоцины: их биологическая роль и тенденции применения // Исследовано в России : электронный научный журнал. – 2011. – С. 164-198. - URL: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2011/016.pdf>.
19. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Факторы резистентности и иммунитет при грибковых инфекциях кожи и слизистых оболочек // Иммунопатология, аллергол., инфектол. – 2004. – Т. 1. – С. 6-14.
20. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – №. 2. – С. 263-306.
21. Симбирцев А.С. Цитокины - новая система регуляции защитных реакций организма // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т. 2002. – №. 1.
22. Степанов Ю.М. и др. Аргинин в медицинской практике (обзор литературы) // Журн. АМН України. – 2004. – Т. 10. – №. 2. – С. 339-351.
23. Устойчивость к антибиотику (резистентность). - URL: <http://da-med.ru/diseases/cat-79/d-400/page-2.html> (дата обращения: 2.12.14).
24. Alice L. Den Hertog, Jan Van Marle, Henk A. Van Veen, Wim Vant Hof, Jan G.M. Bolscher, Enno C.I. Veerman, Arie V. Candidacidal effects of two antimicrobial peptides: histatin 5 causes small membrane defects, but LL-37 causes massive disruption of the cell membrane // Biochem J. - 2005; 388: 689—695.
25. Bensch K. hBD-1: a novel β -defensin from human plasma / K. Bensch, M. Raida, H-J. Magert et al. // FEBS Lett. — 1995. – Vol. 368. – P. 331-335.

26. Innate immunity in the lower female mucosal tract / M.A. Farage, K.W. Miller, G.F. Gerberick et al. // *Steroids and Hormonal science*. – 2011. – Vol. 2. - issu 2. – P.
27. Kris De Smet, Roland Contreras. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins // *Biotechnology Letters*. - 2005; 27: 1337—1347.
28. Rabinovich O.F., Rabinovich I.M., Abramova E.S. Изменение микробной флоры при патологии слизистой оболочки рта // *Stomatologia (Mosk)*. – 2011. – Т. 6. – С. 71.
29. Sumako Yoshioka, Hiroshi Mukae, Hiroshi Ishii Alpha-defensin enhances expression of HSP47 and collagen-1 in human lung fibroblasts // *Life Sci*. – 2007. – Vol. 20. – P. 1736-7817.

Рецензенты:

Белый Л.Е., д.м.н., профессор кафедры госпитальной хирургии, анестезиологии, реаниматологии, урологии, травматологии и ортопедии МФ ИМЭиФК УлГУ, г. Ульяновск;
Кан Н.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой последипломного образования и семейной медицины ФПМиФО ИМЭиФК УлГУ, г. Ульяновск.