

KATELICYDINY I DEFENSYNY WAŻNE PEPTYDY ODPORNOŚCIOWE U ZWIERZĄT

CATELICIDIN AND DEFENSINS IMPORTANT IMMUNE PEPTIDES IN ANIMALS

¹Jakub DEPTUŁA, ²Beata TOKARZ-DEPTUŁA, ³Wiesław DEPTUŁA

¹Zakład Genetyki i Patomorfologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie.

²Katedra Immunologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

³Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie: Wśród peptydów odpornościowych – HDP (ang. *Host Defence Peptides*) o dużej aktywności biologicznej u zwierząt, wyróżnia się katelicydyny i defensyny. Związki te stanowią naturalne elementy odporności przeciwbakteryjnej, przeciwwirusowej, przeciwgrzybiczej i przeciw pasożytniczej, a nadto wobec tych peptydów mikroorganizmy nie wykształciły oporności, co powoduje, że są one rozważane jako alternatywne substancje dla antybiotyków. Defensyny i katelicydyny w makroorganizmach zwierząt, oddziałują bezpośrednio na zarazki i pasożyty oraz pośrednio poprzez układ odpornościowy – min. oddziałując na komórki tego układu, w tym ekspresję cytokin – głównie prozapalnych oraz czynników wzrostu.

Słowa kluczowe: Peptydy odpornościowe, katelicydyny, defensyny, zwierzęta

Summary: Among defense peptides – HDP (Host Defense Peptides) with high biological activity in animals one can are distinguished cathelicidin and defensin. These compounds represents natural elements of antibacterial, antiviral, antifungal and antiparasitic resistance, and in addition, microorganisms do not have had developed resistance other than these peptides, which means that they are considered as alternative for antibiotics. Defensins and cathelicidin in animal macro-organisms, directly affect germs and parasites and indirectly through the immune system i.e. by affecting the cells of this system, including the expression of cytokines - mainly proinflammatory and growth factors.

Key words: defense peptides, cathelicidins, defensins, animals

WPROWADZENIE

Peptydy odpornościowe – HDPs (ang. *Host Defence Peptides*), to kompleks, ewolucyjnie zachowanych substancji efektorowych, produkowanych przez organizm ludzi, zwierząt, w tym ptaków, gadów, płazów, ryb, owadów oraz roślin, na które mikroorganizmy na wykształciły mechanizmu oporności, [22, 40, 45, 57, 59, 61, 76, 79]. Są one określane także jako endogenne peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. *Antimicrobial Peptides*, AMPs), wykazujące tak działanie bezpośrednie wobec bakterii, wirusów, grzybów oraz *Protozoa*, u których hamują replikację DNA i RNA, syntezę białek i innych składników, a także działają pośrednio na układ odpornościowy, jak też wykazują działanie prozapalne, a nawet przeciwnowotworowe [8, 9, 16, 18, 22, 31, 33, 37, 40, 45, 46, 47, 52, 71, 74, 76, 77]. Ze względu na budowę oraz obecność mostków dwusiarczkowych i liczbę reszt aminokwasowych, HDPs dzielą się na : 1) peptydy liniowe, posiadające budowę α -helikalną, gdzie brak jest wiązań dwusiarczkowych np.: katelicydyna LL-37 u ludzi; 2) peptydy o budowie β -kartki lub budowy szpilki do włosów, gdzie występuje jeden lub więcej mostków dwusiarczkowych np.: niektóre α i β defensyny u ssaków; 3) peptydy o strukturze pętli z jednym mostkiem dwusiarczkowym np.: niektóre katelicydyny u przeżuwaczy – baktencyny; 4) peptydy bogate w aminokwasy takie jak tryptofan – indolicydyna u bydła, czy bogata w prolinę i argeninę – katelicydyna PR-39 u świń [37, 47, 72, 80]. Obecnie znanych jest około 2900 naturalnych HDPs, wśród których, wyróżniono na podstawie wielkości cząsteczki i trzeciorzędowej struktury, min. tzw. klasyczne AMPs, to jest katelicydyny i defensyny [3].

KATELICYDYNY

Katelicydyny zwane także katelinami, stanowią grupę najstarszych ewolucyjnie białek u ssaków, działających jako cząsteczki prekursorowe, a które po proteolizie uwalniają peptydy oddziaływujące na zarazki i pasożyty, a także wykazują działanie modulujące na układ odpornościowy i wpływają na procesy zapalne oraz działają przeciwnowotworowo [2, 7, 9, 48, 67, 72, 74]. Pierwsze katelicydyny u ssaków izolowano w 1988 roku z neutrofilii bydła, jako małe cykliczne dodekapeptydy, których nazwę utworzono od *bacterium necare* – zabijający bakterie i nazwano baktencynami [32, 72, 79]. Katelicydyny u ssaków produkowane są, jako nieaktywne pre-pro-peptydy, składające się z 128-143 reszt aminokwasowych, posiadające wysoce konserwatywną domenę N-końcową – będącą peptydem sygnałowym, domenę katelinową o masie cząsteczkowej 11kDa oraz C-końcowy zmienny rejon, który jest „dojrzałym” peptydem, zabezpieczający je przed niekontrolowaną aktywnością [13, 61, 72, 74]. Sama część N-końcowa sekwencji

sygnałowej katelicydyn, posiada 29-30 reszt aminokwasowych, której zadaniem jest uwalnianie aktywnego biologicznie peptydu [13, 72, 74]. Natomiast domena katelinowa, zbudowana z 94-144 reszt aminokwasowych, jest odpowiedzialna za ochronę przed proteolizą (32). Domena ta łączy się ze stanowiącym dojrzały peptyd odcinkiem C-końcowym, składającym się z 12-100 reszt aminokwasowych, co razem stanowi pro-peptyd i w wyniku zadziałania endogennych proteaz, uwalniany jest z niego dojrzały peptyd [61]. Wykazano także, że sekwencje domeny katelinowej u różnych gatunków ssaków, są do siebie bardzo podobne, co sugeruje, że mogły one ewoluować w wyniku powielania i modyfikacji wspólnego genu [13].

Katelicydyny u zwierząt stwierdzono u małą oraz zwierząt domowych i gospodarskich – to jest bydła, owiec, kóz, świń, koni, psów, kotów; zwierząt laboratoryjnych – króliki, szczury, myszy, świnki morskie; zwierząt dzikich – jelenie, woły, osły, torbacze, stekowce, a także u ptaków, gadów, ryb, płazów i owadów [1, 10, 30, 32, 34, 35, 37, 45, 49, 54, 55, 62, 65, 66, 68, 77, 78].

U małą katelicydyny opisano u rezusa, jako katelicydyny rhLL-37 i rhCAP18 [5] lub rhCAP18 – CAP18 [32], które wykazują α -helikalną strukturę, a w zakresie aktywności biologicznej podobne są do katelicydyny LL-37 u ludzi i są, w szczególności, stwierdzane w komórkach nabłonkowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego [5, 32]. U tych małą opisano także katelicydynę RL-37, posiadającą także strukturę α -helisy, zaś u makaka i u orangutana, zarejestrowano, o analogicznej strukturze, związek nazwany ppp RL-37, który opisano także u gibbona i nazywano go peptydem hmd SL-37 [43, 54].

U zwierząt gospodarskich takich jak bydło, owce, kozy, świnię, katelicydyny najczęściej mają strukturę α -helikalną, choć u świń peptydy te mają także strukturę β -kartki np.: protegryny [32, 34, 37, 61, 72, 77]. Peptydy te u tych zwierząt gospodarskich, są także opisane jako katelicydyny cykliczne np.: niektóre baktencyny u bydła i owiec, jako peptydy bogate w reszty proliny i argininy np.: niektóre baktencyny u bydła, owiec i kóz, a także bogate w tryptofan np.: indolicydyna u bydła i protegryny u świń [32, 34, 37, 61, 72, 77]. Geny kodujące katelicydyny u bydła, owiec, kóz i świń, posiadają jednakową organizację i są wielkości 2 kpb oraz cechuje je wysoki procent identycznych nukleotydów, co wskazuje na to, że pochodzą z tego samego genu – prekursora, co potwierdza ich umiejscowienie na chromosomie, bo u bydła, owiec i świń, są położone blisko siebie [77].

U bydła najbardziej poznanymi katelicydynami występującymi min. w neutrofilach, bogatymi w prolinę i argininę, jest baktencyna 1 (Bac-1 lub katelicydyna 1), 5 (Bac5 lub katelicydyna 2) i 7 (Bac7 lub katelicydyna 3), zaś bogate w tryptofan, to indolicydyna (katelicydyna 4) i profeniny (PG1 i 2) [32, 61]. Peptydy te u bydła wykazują silne działanie bójcze na błonę komórkową i na organelle wewnątrzkomórkowe, głównie bakterii *G-ujemnych* np.: *E.coli*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*, choć także działają na bakterie *G-dodatnie* wykazując działanie bakteriostatyczne np.:

wobec *Enterobacter cloacae*, *Leptospira (L) interrogans* i *L. biflexa* [32, 61]. Natomiast występująca u bydła w ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych – indolicydyna, cechuje się działaniem przeciwgrzybiczym wobec *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* oraz przeciwpierwotniaczym wobec *Leishmania donovani* i *Giardia lam* [6, 53]. Peptyd ten – indolicydyna, wykazuje także działanie aktywizujące autofagię neutrofilii i sekrecję chemokin, co jest bardzo ważne w gruczole mlekowym u bydła w okresie zasuszania, gdzie proces autofagię komórek PMN przebiega bardzo intensywnie [53]. U tych zwierząt opisano także katelicydyny w postaci peptydu BMAP (ang. *Bovine Myeloid Antimicrobial Peptides*) 27 (katelicydyna 6), 28 (katelicydyna 5) i 34 (katelicydyna 7) [32, 34, 37, 72], które wykazują oddziaływanie na mezosomy u bakterii i mitochondria u grzybów oraz cechuje je działanie przeciwnowotworowe. Wpływają one także na sekrecję TNF- α w komórkach nabłonkowych gruczołu mlekowego, przez co warunkują u tych zwierząt odporność przy zapaleniu wymienia [32, 37, 60, 72].

U owiec katelicydyny opisano jako cykliczne dodekapeptydy, pod nazwą Oa Bac 5, 6, 7.5 i 11, (bakteneocyny 5, 6, 7.5 i 11), katelicydyna 1 (bakteneocyna 1), 2 (bakteneocyna 5) i 3 (bakteneocyna7) oraz peptydy bogate w prolinę i argininę to jest SMAP (ang. *SC5-cathelin related peptide*) oraz MAP (ang. *Mieloid Antimicrobial Peptides*) 29 i 34, które cechują się silnym działaniem przeciwbakteryjnym (bakterie *G-ujemne* i *G-dodatnie*) i przeciwgrzybiczym (*Candida albicans*) [32, 34]. Nadto produkowane katelicydyny u owiec przez neutrofile oraz przez komórki nabłonka gruczołu mlekowego, wykazują hamujące działanie wobec *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* i *Mycoplasma agalactiae* – zarazki będące bardzo często przyczyną infekcji tego gruczołu u tych przeżuwaczy. Peptydy te u owiec aktywują także komórki PMN w zakresie ich bójczości i powstawania sieci NET i przyjmuje się, że są specyficznymi markerami wskazującymi na stan zapalny wymienia u owiec [11].

U kóz opisano katelicydyny w postaci Bac 7.5, 3, 4 oraz katelicydynę 2 (Bac5), które to peptydy są bogate w prolinę i argininę i ich struktura jest podobna w 50% do katelicydyn Bac5 i peptydu MAP 29 i 34 u bydła oraz SMAP 29 u owiec [32, 34, 72]. U tych zwierząt związki te wykazują działanie przeciwko bakteriom *G-ujemnym* oraz częściowo *G-dodatnim* i *Candida albicans* [32,34].

U świń katelicydyny są reprezentowane przez 11 peptydów, wśród których są związki bogate w prolinę argininę np.: katelicydyna PAMP (ang. *Porcine Antimicrobial Peptide*) 23,36 i 37 oraz peptydy o strukturze α -helikalnej np.: katelicydyny PR-39 i profeniny 1 i 2 (PF 1 i 2) oraz strukturze β -kartki i posiadające mostki S-S, np.: protegryny 1-5 (PG 1-5) [32, 34, 37, 49, 70, 72]. Związki te stwierdzono w neutrofilach tych zwierząt, szpiku, w surfaktancie oskrzelików oraz w komórkach języka, jelit cienkich, tchawicy oraz układzie moczowo-płciowym i wykazują one stymulujące oddziaływanie na elementy układu odpornościowego, w tym w szczególności procesu fagocytozy neutrofilii [32, 34, 37, 49, 70, 72]. Peptydy

te u tych zwierząt, wykazują także bójcze działanie wobec bakterii *G-ujemnych* i *G-dodatnich*, choćby profeniny 1 i 2, choć katelicydyny takie jak protegryny 1-5 i profeniny 1 i 2, działają wybitnie bójczo, w szczególności wobec *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida albicans*, niektórych wirusów oraz tasiemców i nicieni [26, 32, 34, 37, 49, 69, 70]. Nadto protegryna 1 u świń, działa bójczo wobec *Mycobacterium tuberculosis* oraz bakterii powodując zakażenia przyranne [50]. Zarejestrowano także u świń, że LPS bakterii *G-ujemnych*, wzmacnia w ich komórkach szpiku, intensywnie ekspresję katelicydyny PR-39 [73], który to peptyd u tych zwierząt, działa hamująco na apoptozę ale aktywują proces gojenia się ran [26, 50].

W przypadku koni, wśród katelicydyn opisano peptydy o nazwie eCATH 1,2 i 3, cechujące się strukturą α -helikalną i bogate w lizynę, które są syntetyzowane głównie w szpiku [12, 32, 37, 55]. Związki te wykazują głównie działanie w stanach zapalnych i są bardzo bójcze wobec bakterii *G-ujemnych* i *G-dodatnich* oraz grzybów takich jak *Cryptococcus neoformans* i *Rodotorula rubrum* [12, 32, 37, 55].

U zwierząt mięsożernych – psów, opisano katelicydynę K9CATH, zaś u kotów peptyd FeCates – związki posiadające strukturę α -helikalną i występujące u tych zwierząt w szpiku i neutrofilach [32, 37, 43, 76]. Cechują się one silnymi – głównie u psów – właściwościami przeciw *Neisseria gonorrhoeae* i *Ureaplasma sp.*, co związane jest z faktem małej podatności zapadania tych zwierząt, na choroby przenoszone drogą płciową [32, 37, 43, 76].

U zwierząt laboratoryjnych katelicydyny zarejestrowano u królików, szczurów, myszy oraz świnek morskich [32, 37], z tym że u królików opisano je jako peptyd CAP 18, białko PI5A oraz PI5B, które występują w neutrofilach i nerkach [32, 37]. U szczurów katelicydyny są reprezentowane przez peptyd rCRAMP, którego miejsca syntezy nie określono, zaś u myszy przez peptyd Cramp, występujący w jądrach, komórkach śledziony, wątroby i przewodu pokarmowego [32, 37]. Natomiast u świnek morskich, katelicydyny są reprezentowane przez peptyd CAP11, występujący w neutrofilach i szpiku [32, 37]. Wymienione katelicydyny u tych zwierząt laboratoryjnych, wykazują działanie przeciwbakteryjnie i działają hamująco na LPS [32, 37].

Wśród zwierząt dzikich, katelicydyny opisano u jeleni w postaci baktencyn, które stwierdzono w neutrofilach i nerkach, a które cechują się działaniem bójczym wobec bakterii *G-ujemnych* i *G-dodatnich* [62]. U tych zwierząt opisano także katelicydyny bogate w prolinę i argininę i jest to peptyd P-9, oddziałujący bójczo na wiele zarazków [14]. Katelicydyny zarejestrowano także u wołów domowych w postaci fragmentu mielokatelicydyny i fragmentu katelicydyny 4, które występują w szpiku i drogach rodnych, a dla których nie określono u tych zwierząt, specyficznego działania [8, 62]. Związki te o nazwie EACATH 1, cechujące się strukturą α -helikalną opisano także u osłów [23]. Zarejestrowano je także u torbaczy (pand), w postaci peptydu AM [76] oraz u stekowców (dziobak)

w postaci peptydu PA1 i PA2 [14], a których to substancji, podobnie jak u wołów domowych, nie scharakteryzowano pod względem ich działania biologicznego, jak i struktury.

U ptaków katelicydyny opisano w szczególności u kur i jest to katelicydyna 1 (CATH 1), 2 (CATH 2), 3 (CATH 3), B-1 (CATH B1) oraz peptyd CMAP 27 (ang. *Chicken Myeloid Antimicrobial Peptide-27*) – które zarejestrowano min. w bursie Fabrycjusza, w szpiku, przewodzie pokarmowym, wątrobie, układzie oddechowym, nerkach, śledzionie, mózgu i mięśniach [32, 35, 37, 66, 72, 75]. Peptydy te u ptaków, wykazują działanie wobec bakterii *G-ujemnych* i *G-dodatnich*, w tym wobec szczepów opornych na antybiotyki, choć przyjmuje się, że u kur, głównie peptyd CMAP27, warunkuje odporność naturalną. Według Linde i wsp. [37] u kur, choć także u indyków, wyróżnia się również protegryny, które zarejestrowano w szpiku. Podano także [67, 75], że katelinowy region tych peptydów u ptaków, wykazuje małą homologię do analogicznego regionu u kręgowców – ssaków.

Katelicydyny zarejestrowano również u gadów (węży) w postaci peptydu OHCATH – kobra królewska, peptydu NACATH – kobra pospolita oraz peptydu BF-CATH i katelicydyny BF – niemrawiec pospolity, u których to zwierząt, nie scharakteryzowano tych związków pod względem struktury i działania biologicznego [68, 72].

U ryb katelicydyny opisano u łososia atlantyckiego, pstrąga tęczowego, dorsza atlantyckiego, w postaci peptydu 29 (HFIAP-3) i 37 (HFIAP 1,2), katepsyny H oraz katelicydyny 2, które to związki są podobne do niektórych katelicydyn u ssaków, bo mają w swojej strukturze prolinę i cysteinę i występują u tych zwierząt w komórkach przewodu pokarmowego, wątrobie, nerkach i skórze i wykazują aktywność w zakażeniach bakteryjnych [10,32,34]. Inne dane podają [72], że u łososi stwierdzono także katelicydynę o nazwie rtCATH 1 – bogatą w glicynę, zaś u dorsza atlantyckiego katelicydynę Cod Cath – bogatą w glicynę i serynę.

Dane z piśmiennictwa [32, 61, 72] wskazują także na występowanie katelicydyn u płazów oraz owadów, jednak brak jest szczegółów dotyczących ich budowy i działania, choć wskazuje się na ich udział w działaniu antyzarazkowym.

DEFENSYNY

Związki te, to drobnocząsteczkowe, amfipatyczne polipeptydy, bogate w cysteinę (przeważnie 6-8 reszt cysteinowych tworzących trzy mostki dwusiarczkowe) oraz argininę, które jako przeciwzarazkowe białka kationowe, izolowane były już w latach 1966-1971 z neutrofilii od królików, a w latach 1985/86 otrzymano je jako czynniki wirusobójcze u ludzi i królików i nazwano α -defensynami [19, 29, 46, 79]. Podobne związki zidentyfikowano w 1991 roku w komórkach tchawicy bydła, które określono peptydem TAP (ang. *Tracheal Antimicrobial Peptide*),

a które obecnie stanowią β -defensyny [19, 29, 46, 79]. Defensyny wykazano nie tylko u ssaków w tym u ludzi i zwierząt kręgowych, ale także i bezkręgowych, a nawet u roślin [15, 27, 35, 44, 47, 51, 59, 80]. U tych ostatnich opisano je u jęczmienia i pszenicy, jako γ -tioniny, charakteryzujące się dużą aktywnością wobec bakterii i pasożytów [44, 59]. Obecnie te krótkie kationowe peptydy odpornościowe – defensyny o szerokiej aktywności biologicznej, ze względu na strukturę ich prekursorów i długość łańcucha aminokwasów oraz wiązań dwusiarczkowych, podzielono na α , β i θ defensyny [1, 15, 17, 21, 25, 38, 39, 47, 71]. U kręgowców szacuje się, że jest ponad 80 α -defensyn, ponad 200 β -defensyn i tylko 5 θ -defensyn [80], zaś u ssaków reprezentowane są one tylko przez 12 α -defensyn, 25 β -defensyn i 5 θ -defensyn [4, 32] i rejestruje się je w komórkach PMN, makrofagach, komórkach nabłonkowych i śródnabłonkowych oraz kariomiocytach [46]. Geny dla defensyn u bydła zlokalizowano na chromosomie 27, u owiec na chromosomie 26, zaś u świń na chromosomie 15 [29].

Defensyny u zwierząt kręgowych – ssaków, wzmagając działanie komórek układu odpornościowego oraz wpływając na wytwarzanie cytokin, chemokin i transdukcję sygnałów i regulację szlaków zapalnych, warunkują odporność naturalną jak i nabytą, głównie w czasie zakażenia wirusami, bakteriami oraz grzybami [9, 21, 24, 29, 31, 36, 37, 42, 47, 54, 71, 75, 80]. Wobec wirusów, wykazują głównie działanie pośrednie, poprzez aktywizację układu odpornościowego, zaś wobec bakterii i grzybów, wykazują działanie bezpośrednio poprzez prostopadłe i równoległe wbudowywanie się w ich błonę, co powoduje tworzenie się w niej por, czego skutkiem jest ich niszczenie [9, 24, 40, 47, 71]. Konstytutywnie defensyny są syntetyzowane są przez neutrofile, komórki Panetha i komórki nabłonkowe, głównie przewodu pokarmowego, choć także układu moczowo-płciowego, a także keratynocyty, zaś w wyniku oddziaływania min. cytokin i LPS, są syntetyzowane także przez monocyty-makrofagi, komórki tuczne, trombocyty, limfocyty T CD8+ i komórki NK [29, 32, 47, 79].

U zwierząt defensyny zarejestrowano u małąp, bydła, owiec, świń, koni, świńnek morskich, królików, chomików, szynszyli, myszy, szczurów, zajęcy, słoni afrykańskich, torbaczy oraz u ptaków domowych (kura, kaczka, indyk) i dzikich (czarnoskóra, wróbel), jak też u waleni, ryb i owadów, u których to zwierząt, peptydy te występują w zasadzie jako β i/lub α -defensyny [1, 4, 28, 29, 30, 37, 44, 45, 46, 49, 64].

W przypadku małąp, oprócz β -defensyn v_hBD-1 i 2 [5] i α -defensyn – PHD1-3 [63], które są zbliżone budową i funkcjami do α i β -defensyn u ludzi, opisano także, ale tylko u tego gatunku ssaków, bardzo aktywne θ -defensyny [5, 20, 29, 56, 58, 63], które wykazują najsilniejsze działanie biologiczne wśród defensyn u ssaków [53, 54]. θ -defensyny u małąp, w postaci peptydu RTD (ang. *Rhesus Theter Defensyn*) 1-3, zarejestrowano u rezusa, makaków, gibbona i orangutana, u których występują w neutrofilach i monocytach [5, 20, 29, 46, 63, 79, 80]. Stwierdzono

je także u pawianów w postaci peptydu BTD (ang. *Babon T-Defensin*) 1-5 [56], który występuje w komórkach szpiku, nerkach oraz mózgu [20, 29]. W tych ostatnich badaniach [20, 29] wykazano, że u pawiana płaszczowego, zarejestrowano dodatkowo θ -defensyny o nazwie PhTD (ang. *Papio humane drys Theta-Defensyn*) 1 i 3. Wszystkie wymienione θ -defensyny u małp, mają strukturę kolistą, która powstaje przez połączenie się dwóch peptydów, z których każdy składa się z 9 reszt aminokwasowych [29, 42, 44, 46]. Peptydy te u małp, wykazują działanie przeciwwirusowe (HIV1, HIV2, wirus grypy) oraz przeciwbakteryjne (*Bacillus anthracis*) [20, 29, 40]. Opisano także [31,36,46] θ -defensyny o nazwie retrocyklina 1 i 3, których występowanie wskazano u zwierząt nie podając ich nazwy.

U zwierząt gospodarskich, to jest bydła, owiec, koni i świń, peptydy te występują w zasadzie jako β -defensyny [4, 29, 37, 38, 46, 49]. U bydła reprezentowane są przez peptydy TAP, LAP, EBD, BNBD 1-12, BBD 119, 120, 122, 122a, 123, 124, 142 oraz peptyd DEFb 401 i 405, zaś u owiec i kóz przez peptyd SBD 1 i 2, GBD 1 i 2, natomiast u koni przez peptyd HBD 1 (albo eBD) – choć u tych ostatnich zwierząt, opisano także defensyny o strukturze α , o nazwie DEFA1 [4, 29, 37, 46]. U świń zarejestrowano 13 β -defensyn, to jest: pBD 1-4, 104, 108, 114, 123, 125, 126, 129 oraz pBD 125 i 129 albo pEP2C i pEP2E [4, 29, 37, 49]. Wymienione defensyny u tych zwierząt gospodarskich, stanowią bardzo ważny element odporności, bo wpływają one modulująco na układ odpornościowy, a w szczególności rejestruje się to w szczególności u krów przy zapaleniu wymienia oraz u owiec przy zapaleniu płuc [29, 37]. Peptydy te u koni i świń są pod względem biologicznego działania stosunkowo mniej poznane, ale przyjmuje się, że stanowią u nich ważny element odporności naturalnej [29, 37, 46, 49].

U zwierząt laboratoryjnych takich jak, świnki morskie, króliki, chomiki, szynszyle, szczury, myszy, peptydy te są reprezentowane przez α -defensyny o nazwie NP1 i 5 oraz kryptodyna 3 i 4 [64]. Według Linde i wsp. [37] u świnki morskiej defensyny występują dodatkowo w postaci peptydu o nazwie GPNP I i III, zaś u królików dodatkowo jako peptyd NP1-3a, NP3b-5 i rNP1-2.4. Autor ten [37] u chomika wyróżnia dodatkowo defensyny także o α strukturze, w postaci peptydu HANP1-4 i Crp 1-6. Podaje on [37], że defensyny u szynszyli, szczurów i myszy występują także jako β -defensyny, z tym że u szynszyli występują w postaci peptydu cBD1, u szczurów jako peptyd 42rBDs, zaś u myszy jako peptyd mBD1-15 i mBD34-40. Peptydy te u zwierząt laboratoryjnych, a w szczególności u królików, są głównymi elementami obronnymi w infekcjach bakteryjnych przewodu pokarmowego [37, 38].

U zwierząt dzikich, mimo że defensyny zarejestrowano u zający i słoni afrykańskich, to stosunkowo najlepiej opisano je u koala, kangura małego i diabła tasmańskiego, które są zbliżone budową do β i (lub) α -defensyn ssaczych i wykazują silne działanie niszczące wobec błon mikroorganizmów [30].

U ptaków defensyny opisano u kur, kaczek, a nadto zarejestrowano je u indyków oraz ptaków dzikich – czarnoskóry i wróbla, w postaci β -defensyn, z tym że

u kurcząt opisano je jako GA1-3,6,11,13 lub β -defensyny 1-10 i 13, zaś u kaczek jako peptyd AvBD 2, 9, 10 [4, 35]. U kur i kaczek są one syntetyzowane przez leukocyty krwi, komórki przewodu pokarmowego, płuc, śledziony, wątroby, tchawicy, skóry, mózgu oraz torbę Fabrycjusza [4, 35].

Peptydy opisano także u waleni, ryb oraz owadów w postaci β -defensyn, które wykazują działanie bójcze wobec bakterii powodujących procesy zapalne [44, 45].

PODSUMOWANIE

Katelicydyny i defensyny jako naturalne peptydy odpornościowe to związki, na które mikroorganizmy u zwierząt gospodarskich, laboratoryjnych i dzikich oraz ptaków, na drodze ewolucyjnej nie wykształciły oporności, stąd są alternatywą wobec związków chemicznych, w tym antybiotyków. Peptydy te, uczestniczą głównie w infekcjach bakteryjnych, wirusowych oraz grzybiczych, działając bezpośrednio lub pośrednio poprzez wzmaganie aktywności komórek odpornościowych w zakresie ich bójczości, w tym ekspresji cytokin, głównie prozapalnych oraz chemokin i czynników wzrostu.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana ze środków Katedry Immunologii i Katedry Mikrobiologii WB US.

LITERATURA

- [1] AGIER J, BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK E. Katelicydyny i defensyny w regulacji aktywności przeciwdrobnoustrojowej komórek tucznych. *Postępy Hig Med Dośw* 2016; **70**: 618-636.
- [2] AGIER J, EFENBERGER M, BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK E. Cathelicidin impact on inflammatory cells. *Centr Eur J Immunol* 2015; **40**: 225-235.
- [3] Antimicrobial peptid database: <http://aps.unmc.edu/AP/main.php> (6.02.2018r).
- [4] BAGNICKA E, STRZĄLKOWSKA N, JÓZWIK A, KRZYŻEWSKI J, HORBAŃCZUK J, ZWIERZCHOWSKI L. Expression and polymorphism of defensins in farm animals. *Acta Bioch Pol* 2010; **4**: 487-497.
- [5] BALS R, LANG C, WEINER DJ, VOGELMEIER C, WELSCH U, WILSON JM. Rhesus monkey (Macaca mulatta) mucosal antibacterial peptides are close homologues of human molecules. *Clin Diagnost Lab Immunol* 2001; **8**: 370-375.
- [6] BENINCASA M, SCOCCHI M, PACOR S, TOSSI A, NOBILI D, BASAGLIA G, BUSETTI M, GENNARO R. Fungicidal activity of five cathelicidin peptides against clinically isolated yeasts. *J Antimicrob Chemother* 2006; **58**: 950-959.
- [7] BOWDISH DM, DAVIDSON DJ, LAU YE, LEE K, SCOTT MG, HANCOCK RE, BOWDISH DM. Impact of LL-37 on anti-infective immunity. *J Leuk Biol* 2005; **77**: 451-459.

- [8] BROGDEN KA, ACKERMANN M, MC CRAY PB JR. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. *Int J Antimicrobial Agents* 2003; **22**: 465-478.
- [9] BROWN KL, HANCOCK REW. Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Curr Opinion Immunol* 2006; **18**: 24-30.
- [10] CHANG CI, ZHANG YA, ZOU J, NIE P, SECOMBES CJ. Two cathelicidin genes are present in both rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and atlantic salmon (*Salmo salar*). *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 185-195.
- [11] CUBEDDU T, CACCIOTTO C, PISANU S, TEDDE V, ALBERTI A, PITTAU M, DORE S, CANNAS A, UZZAU S, ROCCA S, ADDIS MF. Cathelicidin production and release by mammary epithelial cells during infectious mastitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2017; **189**: 66-70.
- [12] DI NA VITIELLO A, GALLO RL. Cutting edge: mast cell antimicrobial activity is mediated by expression of cathelicidin antimicrobial peptide. *J Immunol* 2003; **170**: 2274-2278.
- [13] DÜRR UHN, SUDHEENDRA US, RAMAMOORTHY A. LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta* 2006; **1758**: 1408-1425.
- [14] ERDAG G. Interleukin-1 α and interleukin-6 enhance the antibacterial properties of cultured composite keratinocyte grafts. *Ann Surg* 2002; **235**: 113-124.
- [15] ERICKSEN B, WU Z, LU W, LEHRER RI. Antibacterial activity and specificity of the six human {alpha}-defensins. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; **49**: 269-275.
- [16] FELIUCIO MR, SILVA ON, GONCALVES S, SANTOS NC, FRANCO OL. Peptides with dual antimicrobial and anticancer activities. *Front Chem* 2017; Feb 21;5:5. Doi: 10.3389/fchem. 2017.00005. eCollection 2017.
- [17] FINDLAY EG, CURRIE SM, DAVIDSON DJ. Cationic host defence peptides: potential as antiviral therapeutics. *Biodrugs* 2013; **27**: 479-493.
- [18] FROHM N, SANDSTEDT B, SORENSEN O, WEBER G, BORREGAARD N, STAHL-BACKDAHL M. The human cationic antimicrobial protein (hCAP-18), a peptide antibiotic, is widely expressed in human squamous epithelia and colocalizes with interleukin-6. *Inf Immunity* 1999; **67**: 2561-2566.
- [19] GANZ T, LEHRER RI. Defensins. *Pharmacol Ther* 1995; **66**:191-2015.
- [20] GARCIA AE, OSAPAY G, TRAN PA, YUAN J, SELSTED ME. Isolation, synthesis, and antimicrobial activities of naturally occurring theta-defensin isoforms from baboon leukocytes. *Inf Immunity* 2008; **76**: 5883-5891.
- [21] GIESEMANN T, GUTTENBERG G, AKTORIES K. Human alpha-defensins inhibit *Clostridium difficile* toxin B. *Gastroenterology* 2008; **134**: 2049-2058.
- [22] HANCOCK REW, HANEY EF, GILL EE. The immunology of host defence peptides: Beyond antimicrobial activity. *Nat Rev Immunol* 2016; **16**: 321-334.
- [23] HASE K, ECKMANN L, LEOPARD JD, VARKI N, KAGNOFF MF. Cell differentiation is a key determinant of cathelicidin LL-37/ human cationic antimicrobial protein 18 expression by human colon epithelium. *Inf Immunity* 2002; **70**: 953-963.
- [24] HAZLETT L, WU M. Defensins in innate immunity. *Cell Tissue Res* 2011; **343**: 175-188.
- [25] HAZRATI E, GALEN B, LU W, WANG W, OUYANG Y, KELLER MJ, LEHRER LJ, HEROLD BC. Human alpha- and beta-defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. *J Immunol* 2006; **177**: 8658-8666.
- [26] HENNING-PAUKA J, JACOBSEN I, BLECHA F. Differential proteomic analysis reveals increased cathelicidin expression in porcine bronchoalveolar lavage fluid after an *Actinobacillus pleura pneumoniae* infection. *Vet Res* 2006; **37**: 75-87.
- [27] HOFFMANN JA, HETRU C. Insect defensins: inducible antibacterial peptides. *Immunol Today* 1992; **13**: 411-415.
- [28] HU Z, MURAKAMI T, SUZUKI K, TAMURA H, KAWAHARA-ARAI K, ILBA T, NAGOAKA I. Antimicrobial cathelicidin peptide LL-37 inhibits the LPS/ATP-induced pyroptosis of macrophages by dual mechanism. *PLoS ONE* 2014; **9**: p.e85765.

- [29] JARCZAK J, KOŚCIUCZUK EM, LISOWSKI P, STRZALKOWSKA N, JÓŻWIK A, HORBAŃCZUK J, KRZYŻEWSKI J, ZWIERZCHWOSKI L, BAGNICKA E. Defensins: natural komponent of human innate immunity. *Hum Immunol* 2013; **74**: 1069-1079.
- [30] JONES EA, CHENG Y, O'MEALLY D, BELOV K. Characterization of the antimicrobial peptide family defensins in the Tasmanian devil (*sarcophilus harrissi*), koala (*Phascogale cinereus*), and tammar wallaby (*macropus eugenii*). *Immunogenetics* 2017; **69**: 133-143.
- [31] KLOTMAN ME, CHANG TL. Defensin in innate antiviral immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; **6**: 447-456.
- [32] KOŚCIUCZUK EM, LISOWSKI P, JARCZAK J, STRZALKOWSKA N, JÓŻWIK A, HORBAŃCZUK J, KRZYŻEWSKI J, ZWIERZCHOWSKI L, BAGNICKA E. Cathelicidins: family of antimicrobial peptides. *Mol Biol Rep* 2012; **39**: 10957-10970.
- [33] LAI Y, ADHIKURAKUNATHU S, BHARDAJ K, RANJITH-KUMAR CT, WEN Y, JORDAN JL, WU LH, DRAGNEA B, SAN MATEO L, KAO CC. LL37 and cationic peptides enhance TLR3 signaling by viral double-stranded RNAs. *PLoS ONE* 2011; **6**: e26632.
- [34] LAUBE DM, YIM S, RYAN LK, KISICH KO, DIAMOND G. Antimicrobial peptides in the airway. *Curr Top Microbiol Immunol* 2006; **306**: 153-182.
- [35] LEE MO, JANG HJ, RENGARAJ D, YANG SY, HAN SY, LAMONT SJ, WOMACK JE. Tissue expression and antibacterial activity of host defense peptides in chicken. *BMC Vet Res* 2016; **12**: 231-239.
- [36] LEHRER RI. Primate defensin. *Nat Rev Microbiol* 2004; **2**: 727-738.
- [37] 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.
- [38] MAISETTA G, BATONI G, ESIN S, FLORIO W, BOTTAI D, FAVILLI F, CAMPA M. In vitro bactericidal activity of human beta-defensin 3 against multidrug-resistant nosocomial strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; **50**: 806-809.
- [39] MAISETTA G, BATONI G, ESIN S, LUPERINI F, PARDINI M, BOTTAI D, FLORIO W, GUICA MR, GABRIELE M, CAMPA M. Activity of human beta-defensin 3 alone or combined with other antimicrobial agents against oral bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**: 3349-3351.
- [40] MANSOUR SC, PENA OM, HANCOCK REW. Host defense peptides: front-line immunomodulators. *Trends Immunol* 2014; **39**: 443-450.
- [41] MARCHINI G, LINDOW S, BRISMAR H, STABI B, BERGGREN V, ULFGREN AK, LONNE-RAHM S, AGERBERTH B, GUDMUNDSSON GH. The newborn infant is protected by an innate antimicrobial barrier: peptide antibiotics are present in the skin and vernix caseosa. *Br J Dermatol* 2002; **147**: 1127-1134.
- [42] MATTAR EH, ALMEHDAR AA, YACOB HA, UVERSKY VN, REDWAN EM. Antimicrobial potentials and structural disorder of human and animal defensins. *Cytokine Growth Factor Rev* 2016; **28**: 95-111.
- [43] MIDORIKAWA K, OUHARA K, KOMATSUZAWA H, KAWAI T, YAMADA S, FUJIWARA T, YAMAZAKI K, SAYAMA K, TAUBMAN MA, KURIHARA H, HASHIMOTO K, SUGAI M. Staphylococcus aureus susceptibility to innate antimicrobial peptides, beta-defensins and CAP18, expressed by human keratinocytes. *Inf Immunol* 2003; **71**: 3730-3739.
- [44] MIRSKI T, GRYKO R, BARTOSZCZE M, BIELAWSKA-DROZD A, TYSZKIEWICZ W. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe – nowe możliwości zwalczania infekcji u ludzi i zwierząt. *Medycyna Wet* 2011; **67**: 517-521.
- [45] MIZERSKA-DUDKA M, ANDREJKO M, KANDAFER-SZERSZEŃ M. Przeciwwirusowe peptydy kationowe człowieka i owadów. *Post Mikrobiol* 2011; **50**: 209-216.
- [46] NIEDŹWIEDZKA-RYSTWEJ P, DEPTUŁA W. Defensyny – ważny wrodzony element układu odpornościowego u ssaków. *Post Hig Med. Dośw* 2008; **62**: 524-529.
- [47] NIEDŹWIEDZKA-RYSTWEJ P, MĘKAŁ A, DEPTUŁA W. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe – ważny element odporności naturalnej. *Astma Alergia Immunol* 2010; **15**: 35-41.
- [48] NIJNIK A, HANCOCK REW. The roles of cathelicidin LL-37 in immune defences and novel clinical applications. *Curr Opin Hematol* 2009; **16**: 41-47.

- [49] POMORSKA-MÓL M, MARKOWSKA-DANIEL I. Katelicyny i defensyny u świń. *Medycyna Wet* 2011; **67**: 20-24.
- [50] RAMANATHAN B, DAVIS EG, ROSS CR, BLECHA F. Cathelicidins: microbicidal activity, mechanisms of action, and roles in innate immunity. *Microbes Infect* 2002; **4**: 361-372.
- [51] RODRIGUEZ DE LA VEGA RC, POSSANI LD. On the evolution of invertebrate defensins. *Trends Genet* 2005; **21**: 330-332.
- [52] SCOTT MG, HANCOCK RE. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. *Crit Rev Immunol* 2000; **20**: 407-431.
- [53] SELSTED ME, NOVOTNY MJ, MORRIS WL, TANG YQ, SMITH W, CULLOR JS. Indolicidin, a novel bactericidal tridecapeptide amide from neutrophils. *J Biol Chem* 1992; **267**: 4292-4295.
- [54] SELSTED M.E, OUELLETTE AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol* 2005; **6**: 551-557.
- [55] SKERLAWAJ B, SCOCCHI M, GENNARO R, RISSO A, ZANETTI M. Structural and functional analysis of horse cathelicidin peptides. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; **45**: 715-722.
- [56] STEGEMANN C, TSVETKOVA EV, ALESHINA GM, LEHRER RI, KOKRYAKOV VN, HOFFMANN R. De novo sequencing of two new cyclic theta-defensins from baboon (*Papio hamadryas*) leukocytes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2010; **24**: 599-604.
- [57] ŚLIWA-DOMINIAK J, WITKOWSKA M, DEPTUŁA W. Biologiczne alternatywy dla antybiotyków. *Przegl Epidemiol* 2010; **64**: 399-403.
- [58] TANG YQ, YUAN J, OSAPAY G, OSAPAY K, TRAN D, MILLER CJ, OUELLETTE AJ, SELSTED M.E. A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated alpha-defensin. *Science* 1999; **286**: 498-502.
- [59] THOMMA BP, CAMMUE BP, THEVISSSEN K. Plant defensins. *Planta* 2002; **216**: 193-202.
- [60] TOMASINSIG L, CONTI G, SKERLAWAJ B, PICCININI R, MAZZILLI M, D'ESTE F, TOSSI A, ZANETTI M. Broad-spectrum activity against bacterial mastitis pathogens and activation of mammary epithelial cells support a protective role of neutrophil cathelicidins in bovine mastitis. *Inf Immun* 2010; **78**: 1781-1788.
- [61] TOMASINSIG L, ZANETTI M. The cathelicidins – structure, functions and evolution. *Curr Protein Pept Sci* 2005; **6**: 23-34.
- [62] TREFFERS C, CHEN L, ANDERSON RC, YU PL. Isolation and characterisation of antimicrobial peptides from deer neutrophils. *Int J Antimicrob Agents* 2005; **26**: 165-169.
- [63] TSVETKOVA EV, ALESHINA GM, SHAMOVA OV, LEONOVA LE, LEHRER RI, KOKRYAKOV VN. α -defensins from blood leukocytes of the monkey *Papio hamadryas*. *Biochemistry (Moscow)* 2006; **71**: 879-883.
- [64] TUNZI CR, HARPER PA, BAR-OS B, VALORE EV, SEMPLE JL, WATSON-MACDONELL J, GANZ T, ITO S. β -defensin expression in human mammary gland epithelia. *Pediatr Res* 2000; **48**: 30-35.
- [65] UZZELL T, STOLZENBERG ED, SHINNAR AE, ZASLOFF M. Hagfish intestinal antimicrobial peptides are ancient cathelicidins. *Peptides* 2003; **24**: 1655-1667.
- [66] VANDIJK A, VELDTHUIZEN EJ, VAN ASTEN AJ, HAAGSMAN HP. CMAP27, a novel chicken cathelicidin-B1, an antimicrobial guardian at the mucosal M cell gateway. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **104**: 15063-15068.
- [67] VANDAMME D, LANDUYT B, LUYTEN W, SCHOofs L. A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide. *Cell Immunol* 2012; **280**: 22-35.
- [68] WANG Y, HONG J, LIU X, YANG H, LIU R, WU J, WANG A, LIN D, LAI R. Snake cathelicidin from *Bungarus fasciatus* is a potent peptide antibiotics. *PLoS ONE* 3, :e3217. Doi:10.1371/journal.pone.0003217.
- [69] WANG Y, WALTER G, HERTING E, AGERBERTH B, JOHANSSON J. Antibacterial activities of the cathelicidins prophenin (residues 63 to 79) and LL-37 in the presence of a lung surfactant preparation. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**: 2097-2100.

- [70] WIECHUŁA BE, TUSTANOWSKI JP, MARTIROSIAN G. Peptydy antybrobnoustrojowe. *Wiad Lek* 2006; **59**: 542-547.
- [71] WITKOWSKA D, BARTYŚ A, GAMIAN A. Defensyny i katelicydyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Post Hig Med Dośw* 2008; **62**: 694-707.
- [72] WÓDZ K, BRZEZIŃSKA-BŁASZCZYK E. Katelicydyny – endogenne peptydy przeciwdrobnoustrojowe. *Post Biochemii* 2015; **61**: 93-101.
- [73] WU H, ZHANG G, MINTON JE, ROSS CR, BLECHA F. Regulation of cathelicidin gene expresie: induction by lipopolysaccharide, interleukin-6, retinoic acid, and Salmonella enterica serovar typhimurium infection. *Infect Immun* 2000; **68**: 5552-5558.
- [74] XHINDOLI D, PACOR S, BENINSCASA M, SCOCCHI M, GENNARO R, TOSSI A. The human cathelicidin LL-37 – a pore-forming antibacterial peptide and host-cell modulator. *Biochim Biophys Acta* 2016; **1858**: 546-566.
- [75] XIAO Y, CAI Y, BOMMINENI YR, FEMANDO SC, PRAKASH O, GILLILAND SE, ZHANG G. Identifikation and functional characterization of three chicken cathelicidins with potent antimicrobial activity. *J Biol Chem* 2006; **281**: 2858-2867.
- [76] YANG D, DE LA ROSA G, TEWARY P, OPPENHEIM JJ. Alarmins link neutrophils and dendritic cells. *Trends Immunol* 2009; **30**: 531-537.
- [77] ZANETTI M. The role of cathelicidins in the innate host defenses of mammals. *Curr Issues Mol Biol* 2005; **17**: 179-196.
- [78] ZASLOFF M. Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 5449-5453.
- [79] ŻELECHOWSKA P, AGIER J, BRZEZIŃSKA-BŁASZCZAK E. Endogenous antimicrobial factors in the treatment of infectious diseases. *Central Europ J Immunol* 2016; **41**: 419-425.
- [80] ŻYŁOWSKA M, WYSZYŃSKA A, JAGUSZTYN-KRYNICKA K. Defensyny – peptydy o aktywności przeciwbakteryjnej. *Post Mikrobiol* 2011; **50**: 223-234.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 11.06.2018

Przyjęto: 13.07.2018

Beata Tokarz-Deptuła

Katedra Immunologii, Wydział Biologii

Uniwersytet Szczeciński

ul. Felczaka 3c, 71-412 Szczecin

tel. 91/ 444-16-10

e-mail: beata.tokarz-deptula@usz.edu.pl

