

Received: 2013.12.01  
Accepted: 2014.08.29  
Published: 2015.01.07

## Udział peptydów antydrobnoustrojowych w patogenezie astmy oskrzelowej

### Antimicrobial peptides in asthma pathogenesis

Krzysztof Pałgan, Marta Tykwińska, Zbigniew Bartuzi

Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum w Bydgoszczy,  
UMK Toruń

#### Streszczenie

Peptydy antydrobnoustrojowe wykazują działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, mają zdolność hamowania infekcji grzybiczych oraz infestacji pasożytniczych. Mogą również modulować odpowiedź immunologiczną wrodzoną i nabytą.

Astma oskrzelowa to częsta choroba, którą charakteryzuje przewlekłe zapalenie toczone się w nabłonku drzewa oskrzelowego oraz nadreaktywność oskrzeli i ataki duszności. Zapalenie ma charakter alergiczny, a komórki uczestniczące w tym procesie to eozynofile, mastocyty, limfocyty Th2 i monocyty. Częstą przyczyną zaostrzeń astmy są infekcje wirusowe. Praca omawia najnowsze doniesienia o znaczeniu peptydów antydrobnoustrojowych w patogenezie astmy oskrzelowej.

**Słowa kluczowe:** peptydy antydrobnoustrojowe • defensyny • katelicydyny • astma oskrzelowa • witamina D<sub>3</sub>

#### Summary

Antimicrobial peptides exhibit activity against bacteria, viruses, fungi, and parasites. They have been described not only as endogenous antibiotics but also as immune modulators with an impact on innate and adaptive immune functions. Asthma is one of the most common diseases, characterized by chronic airway inflammation, bronchial hyperreactivity and asthma attacks. Airway inflammation in asthma is characterized by allergic phenotypes, such as dense infiltration of eosinophils, mast cells, Th 2 lymphocytes and monocytes. Viral infections are often the cause of asthma exacerbation. This review highlights recent observations on the role of antimicrobial peptides in asthma pathogenesis.

**Key words:** antimicrobial peptides • defensins • cathelicidin • asthma • vitamin D<sub>3</sub>

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1135042>

**Word count:** 1333  
**Tables:** –  
**Figures:** –  
**References:** 29

**Adres autora:** dr n.med. Krzysztof Pałgan, Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. J. Ujejskiego 75, 85-188 Bydgoszcz; e-mail: palgank@wp.pl

## WSTĘP

Zainteresowania badaczy od wielu lat skupiają się na wykazaniu działań hamujących rozwój różnych drobnoustrojów chorobotwórczych. Historia odkryć tego typu substancji rozpoczyna się od Aleksandra Fleminga, który wraz z Howardem Floreyem i Ernstem Chainem w 1945 r. otrzymał Nagrodę Nobla za odkrycie penicyliny G [6]. Początkowo z przeróżnych organizmów począwszy od roślin przez pajęczaki, płazy i ssaki izolowano czynniki, które w małych stężeniach wykazywały działanie przeciwbakteryjne. Przeprowadzone analizy dowiodły, że substancje te mają budowę peptydową. W zależności od rodzaju analizowanego czynnika, mogą zawierać 12-100 aminokwasów i zawierają ładunek dodatni [1].

U roślin peptydy antydrobnoustrojowe to tioniny i defensyny. Występują w liściach, kwiatach, nasionach i bulwach [29]. Obronne peptydy występujące u bezkręgowców to ciekropia, melittyna, tachylepsyna i polipeptazyna. Intrygujące jest to, że melittyna występuje zarówno w jadzie pszczoł jak również w miodzie [2,18]. Polipeptazyna natomiast ma właściwości hamowania infekcji HIV [25].

U płazów dobrze poznanym peptydem działającym obronnie przed wirusami, bakteriami Gram-ujemnymi, Gram-dodatnimi oraz grzybami jest magainina. Peptydami o silnym działaniu antybakteryjnym i przeciwgrzybiczym są dermaseptyna, izolowana ze skóry południowoamerykańskich żab oraz buforyny wytwarzane przez ropuchy azjatyckie [9,15].

Dużą i różnorodną grupą endogennych peptydów antydrobnoustrojowych występujących u kręgowców są katelicydyny, które stwierdzono u takich ssaków jak mysz, królik, owca, koń, a także u człowieka. Warto dodać, że katelicydyny były pierwszymi peptydami przeciwbakteryjnymi odkrytymi u człowieka. Czynniki te są wytwarzane przez neutrofile oraz komórki nabłonkowe jamy ustnej, płuc, dróg moczowo-płciowych i skóry [1].

Dotąd odkryto prawie 1700 peptydów o działaniu hamującym drobnoustroje chorobotwórcze, określane w literaturze anglojęzycznej akronimem AMPs (antimicrobial peptides). W pełni zasadna jest propozycja Witkowskiej i wsp., aby określać peptydy antydrobnoustrojowe skrótem PAD, z tego względu, że AMP ma już ugruntowaną pozycję i jednoznacznie kojarzy się z adenylomonofosforanem [28].

PAD są elementem wrodzonej odporności immunologicznej człowieka. Wyróżnia się dwie zasadnicze grupy peptydów drobnoustrojowych: katelicydyny oraz  $\beta$  defensyny.

## Katelicydyny

Katelicydyny są wytwarzane przez neutrofile, komórki nabłonkowe skóry, jamy ustnej, układu oddechowego, układu moczowo-płciowego oraz przewodu pokarmowego. Geny kodujące te peptydy są określane jako CAMP. Katelicydyny są wytwarzane w postaci białek nieaktywnych. Dopiero z udziałem proteaz serynowych, takich jak kalikreina 5 i 7 w keratynocytach, czy proteaza serynowa 3 w neutrofilach stają się funkcjonalnie aktywnymi peptydami określanymi jako LL-37. Do najważniejszych czynników stymulujących wytwarzanie LL-37 należą: uszkodzenia skóry, witamina D<sub>3</sub>, cząstki pochodzenia bakteryjnego - głównie lipopolisacharydy oraz IL-6 i kwas retinowy [24].

Ludzka katelicydyna LL-37 wykazuje zdolności bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych oraz grzybów chorobotwórczych i wirusów. Działanie obronne katelicydyn nie ogranicza się tylko do bezpośredniego działania neutralizującego patogeny, białka te mają także zdolność indukcji odpowiedzi zapalnej. Dowiedziono, że LL-37 działa chemotaktycznie na neutrofile, limfocyty T, bazofile, monocyty oraz komórki śródbłonna naczyniowego. Przez receptory TLR (Toll-like receptor) wpływają na komórki układu APC (antygen presenting cells), głównie na komórki dendrytyczne [7].

## Defensyny

U ssaków rozróżnia się  $\alpha$ -,  $\beta$ - i  $\theta$ -defensyny, natomiast u człowieka występują  $\alpha$ - i  $\beta$ -defensyny. Zależnie od rodzaju defensyny znajdują się w ziarnistościach neutrofilów, w makrofagach, komórkach NK, komórkach Panetha, komórkach nabłonkowych, w skórze, na powierzchni błon śluzowych dróg oddechowych i dróg moczowo-płciowych oraz w płynach ustrojowych [11].

Defensyny, podobnie jak katelicydyny, są wytwarzane w postaci propeptydów i do aktywności biologicznej wymagają modyfikacji potranslacyjnej. Ekspresja defensyn może być konstytutywna, np. ludzka  $\beta$ -defensyna 1 (hBD-1) lub indukowana, jak w przypadku hBD-2, której ekspresja jest stymulowana przez różnego rodzaju czynniki infekcyjne, uszkodzenia tkanek czy cytokiny prozapalne. W wywarzenie defensyn mogą być zaangażowane również TLR, a zwłaszcza TLR2. Defensyny mają zdolność aktywacji komórek tłuszcznych i mogą doprowadzać do degranulacji ziarnistości tych komórek, co powoduje uwalnianie histaminy i innych mediatorów reakcji alergicznej. Oppenheim i wsp. wykazali, że poprzez receptory CCR6, defensyna hBD-2 działa chemotaktycznie na niedojrzałe komórki dendrytyczne i limfocyty T [16]. Jednocześnie zauważono,

że nasilenie chemotaksji zależy od miejscowego stężenia defensyny. Istotnym źródłem chemotaktycznie działających PAD są neutrofile. Komórki te w miejscu zapalenia wydzielają zarówno defensyny jak i katalicydiny - LL-37, które działają chemotaktycznie na monocyty, niezróżnicowane limfocyty T i komórki dendrytyczne [11].

Przytoczone informacje świadczą o tym, że peptydy antydrobnoustrojowe nie działają tylko na drobnoustroje, ale są również ważnym elementem modulującym reakcje obronne układu immunologicznego.

### **ASTMA OSKRZELOWA A PEPTYDY ANTYDROBNOUSTROJOWE**

Przewlekły proces zapalny toczący się w nabłonku drzewa oskrzelowego oraz nadreaktywność oskrzeli, to najważniejsze elementy patogenetyczne astmy oskrzelowej. Objawami klinicznymi astmy są napady kaszlu, duszności i ograniczenia aktywności człowieka. Zapalenie, które pod wpływem różnych czynników ulega zaostrzeniu, doprowadza do uszkodzenia nabłonka oskrzelowego [19]. Dochodzi więc do osłabienia ważnej bariery obronnej układu oddechowego. Zdaniem Panyuticha w destrukcji nabłonka mają swój udział defensyny, ponieważ stwierdzono, że białka te mają zdolność wiązania inhibitorów serynowych – serpin i w ten sposób utrzymuje się duża aktywność elastazy pochodzenia neutrofilowego [20].

U osób zdrowych PAD indukują w nabłonku oskrzelowym wytwarzanie chemokin, takich jak IL-8, leukotrien B<sub>4</sub>, w limfocytach T stymulują uwalnianie interferonów, IL-6, IL-10. Dowiedziono nawet, że defensyny mogą zwiększać ekspresję genów odpowiedzialnych za wytwarzanie śluzu w komórkach nabłonka oskrzeli.

U chorych na astmę oskrzelową, defensyny, oprócz mediatorów zapalnych, podejrzewane są o udział w nadmiernej przepuszczalności i apoptozie nabłonka oddechowego. Osoby dotknięte astmą oskrzelową wykazują zwiększoną skłonność do infekcji [3]. Vega i wsp. wykazali, że w czasie infekcji wzrasta wytwarzanie defensyn w nabłonku oskrzelowym, jednak ich zdolności do neutralizacji drobnoustrojów chorobotwórczych są mocno ograniczone [27]. Wy tłumaczeniem tego, poza zaburzeniami immunologicznymi polegającymi na nadmiernej aktywacji limfocytów Th2, jest zmiana właściwości biologicznych defensyn. Paone i wsp. udowodnili, że u pacjentów chorujących na astmę oskrzelową dochodzi do ADP-rybozylacji defensyn [21,22]. Modyfikacja taka sprawia, że choć białka te są wytwarzane w zwiększonej ilości, to ich zdolności do neutralizacji drobnoustrojów chorobotwórczych są zmniejszone. Inne wytłumaczenie defektu obronnego defensyn przedstawili Levy i wsp., którzy wykazali mutacje w obrębie genów *HBD1* kodujących β-defensyny [12]. Ich zdaniem, istnieje asocjacja między polimorfizmami *HBD1*, a atopią, nadmiernym wytwarzaniem IgE i astmą oskrzelową.

W etiologii astmy oskrzelowej dużą uwagę zwraca się jeszcze na inne elementy odporności nieswoistej. Wykrycie TLRs (Toll-like receptors) umiejscowionych na powierzchni komórek nabłonkowych, było inspiracją do poznania ich roli w rozwoju astmy. Zasadnicza rola TLR polega na rozpoznawaniu struktur charakterystycznych dla czynników infekcyjnych określanymi jako PRRs (pattern-recognition receptors). Wśród TLRs występuje specyfika w rozpoznawaniu ligandów charakterystycznych dla wirusów, bakterii oraz pasożytów. TLR1, 2, 4, 5 i 9 rozpoznają struktury bakteryjne, TLR6 - elementy budowy grzybów chorobotwórczych, natomiast TLR3 i 9 rozpoznają struktury charakterystyczne dla wirusów i pierwotniaków [5]. Najważniejszymi PRRs są lipopolisacharydy, proteoglikany oraz DNA pochodzenia wirusowego bądź bakteryjnego. Badania epidemiologiczne wykazały, że ekspozycja dzieci do szóstego miesiąca życia na lipopolisacharydy bakteryjne zmniejsza ryzyko zachorowania na astmę oskrzelową i inne schorzenia o podłożu atopowym [4]. Badania genetyczne polimorfizmów genowych TLR wskazują na możliwy związek między rozwojem astmy oskrzelowej, a zmianami w ich obrębie. Wyniki badań zwracają uwagę na polimorfizmy genów kodujących TLR4, TLR2 jako ważny element rozwoju astmy oskrzelowej. Polimorfizm genu TLR4 może być odpowiedzialny za zmniejszone wytwarzanie IL-12 i IL-10 już we wczesnym dzieciństwie, co może usposabiać do zwiększonego ryzyka rozwoju astmy oskrzelowej [13].

### **WITAMINA D<sub>3</sub> A EKSPRESJA PAD W ASTMIE OSKRZELOWEJ**

W ostatnim czasie uwagę, przyciąga witamina D<sub>3</sub>, jako ważny element modulujący reakcje układu immunologicznego. Stwierdzono bowiem jej wielokierunkowe działania na układ obronny człowieka [17]. Udowodniono, że witamina D<sub>3</sub> może wyciszać nadmierne reakcje zapalne, a dzieje się tak przez zmniejszoną ekspresję TLR na komórkach dendrytycznych, zmniejszone wydzielanie cytokin prozapalnych i osłabienie prezentacji antygenów. Jednak witamina D<sub>3</sub> wzmacnia fagocytozę w makrofagach i jest stymulatorem wytwarzania PAD w nabłonku dróg oddechowych oraz w skórze [23]. Zachodzi zatem pytanie, czy istnieje związek między niedoborem witaminy D<sub>3</sub>, a rozwojem alergii. Zagadnienie to jest trudne do rozstrzygnięcia, ponieważ częstość występowania chorób alergicznych, jak i obniżone stężenie witaminy D<sub>3</sub> w populacji ogólnej jest bardzo duża. Przeprowadzono jednak badania, które jednoznacznie wskazują na związek między niedoborem witaminy D<sub>3</sub>, a chorobami alergicznymi, takimi jak alergiczny nieżyt nosa, astma oskrzelowa i atopowe zapalenie skóry [10]. Stwierdzono dodatnią korelację między niskimi stężeniami witaminy D<sub>3</sub> (< 25 nmol/l), a nadmiernym wytwarzaniem IgE. W przypadku astmy oskrzelowej wykazano ścisły związek między deficytem D<sub>3</sub>, a częstymi zaostrzeniami i gorszymi wskaźnikami spirometrycznymi [8]. Badania przeprowadzone przez Majaka i wsp. wśród 616 dzieci chorych na astmę oskrzelową wykazały, że około 25% wykazuje deficyt witaminy D<sub>3</sub> [14]. Suplementacja tej witaminy zmniejsza częstość infekcji wirusowych oraz liczbę zaostrzeń astmatycznych [25,26].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Afshar M., Gallo R.L.: Innate immune defense system of the skin. *Vet. Dermatol.*, 2013; 24: 32-38.e8-9
- [2] Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., Battino M.: Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Curr. Med. Chem.*, 2013; 20: 621-638
- [3] Beisswenger C., Kandler K., Hess C., Garn H., Felgentreff K., Wegmann M., Renz H., Vogelmeier C., Bals R.: Allergic airway inflammation inhibits pulmonary antibacterial host defense. *J. Immunol.*, 2006; 177: 1833-1837
- [4] Eder W., Klimecki W., Yu L., von Mutius E., Riedler J., Braun-Falckh C., Nowak D., Holst O., Martinez F.D.; ALEX-Team: Association between exposure to farming, allergies and genetic variation in CARD4/NOD1. *Allergy*, 2006; 61: 1117-1124
- [5] Fekonja O., Avbelj M., Jerala R.: Suppression of TLR signaling by targeting TIR domain-containing proteins. *Curr. Protein Pept. Sci.*, 2012; 13: 776-788
- [6] Fleming A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 1922; 93: 306-317
- [7] Frasca L., Lande R.: Role of defensins and cathelicidin LL37 in auto-immune and auto-inflammatory diseases. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2012; 13: 1882-1897
- [8] Huang H., Porpodis K., Zarogoulidis P., Domvri K., Giouleka P., Papaiwannou A., Primikyri S., Mylonaki E., Spyrtos D., Hohenforst-Schmidt W., Kioumis I., Zarogoulidis K.: Vitamin D in asthma and future perspectives. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2013; 7: 1003-1013
- [9] Jang S.A., Kim H., Lee J.Y., Shin J.R., Kim da J., Cho J.H., Kim S.C.: Mechanism of action and specificity of antimicrobial peptides designed based on buforin IIb. *Peptides*, 2012; 34: 283-289
- [10] Kho A.T., Sharma S., Qiu W., Gaedigk R., Klanderman B., Niu S., Anderson C., Leeder J.S., Weiss S.T., Tantisira K.G.: Vitamin D related genes in lung development and asthma pathogenesis. *BMC Med Genomics*, 2013; 6: 47-58
- [11] Leonard B.C., Affolter V.K., Bevins C.L.: Antimicrobial peptides: agents of border protection for companion animals. *Vet. Dermatol.*, 2012; 23: 177-182
- [12] Levy H., Raby B.A., Lake S., Tantisira K.G., Kwiatkowski D., Lazarus R., Silverman E.K., Richter B., Klimecki W.T., Vercelli D., Martínez F.D., Weiss S.T.: Association of defensin  $\beta$ -1 gene polymorphisms with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2005; 115: 252-258
- [13] Lundberg A., Wikberg L.A., Ilonen J., Vaarala O., Böttcher M.F.: Lipopolysaccharide-induced immune responses in relation to the TLR4(Asp299Gly) gene polymorphism. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2008; 15: 1878-1883
- [14] Majak P., Olszowiec-Chlebna M., Smejda K., Stelmach I.: Vitamin D supplementation in children may prevent asthma exacerbation triggered by acute respiratory infection. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2011; 127: 1294-1296
- [15] Maria-Neto S., Candido Ede S., Rodrigues D.R., de Sousa D.A., da Silva E.M., de Moraes L.M., Otero-Gonzalez Ade J., Magalhaes B.S., Dias S.C., Franco O.L.: Deciphering the magainin resistance process of *Escherichia coli* strains in light of the cytosolic proteome. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2012; 56: 1714-1724
- [16] Oppenheim J.J., Yang D.: Alarmins: chemotactic activators of immune responses. *Curr. Opin. Immunol.*, 2005; 17: 359-365
- [17] Pałgan K., Bartuzi Z.: Czynniki genetyczne i środowiskowe w rozwoju alergii na pokarmy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 385-391
- [18] Pałgan K., Bartuzi Z.: Właściwości biologiczne jadu pszczoł. *Alergia Astma Immunologia*, 2009; 14: 17-19
- [19] Pałgan K., Dziedziczko A., Bartuzi Z.: Remodeling of the basement membrane and airway epithelium in patients with asthma. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2005; 19: 553-555
- [20] Panyutich A.V., Hiemstra P.S., van Wetering S., Ganz T.: Human neutrophil defensin and serpins form complexes and inactivate each other. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1995; 12: 351-357
- [21] Paone G., Stevens L.A., Levine R.L., Bourgeois C., Steagall W.K., Gochuico B.R., Moss J.: ADP-ribosyltransferase-specific modification of human neutrophil peptide-1. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 17054-17060
- [22] Paone G., Wada A., Stevens L.A., Matin A., Hirayama T., Levine R.L., Moss J.: ADP ribosylation of human neutrophil peptide-1 regulates its biological properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 8231-8235
- [23] Roider E., Ruzicka T., Schaubert J.: Vitamin D, the cutaneous barrier, antimicrobial peptides and allergies: is there a link? *Allergy Asthma Immunol. Res.*, 2013; 5: 119-128
- [24] Sirisinha S.: Insight into the mechanisms regulating immune homeostasis in health and disease. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, 2011; 29: 1-14
- [25] Tziveleka L.A., Vagias C., Roussis V.: Natural products with anti-HIV activity from marine organisms. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2003; 3: 1512-1535
- [26] Urashima M., Segawa T., Okazaki M., Kurihara M., Wada Y., Ida H.: Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2010; 91: 1255-1260
- [27] Vega A., Ventura I., Chamorro C., Aroca R., Orovigt A., Gómez E., Puente Y., Martínez A., Asturias J.A., Monteseirín J.: Neutrophil defensins: their possible role in allergic asthma. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, 2011; 21: 38-43
- [28] Witkowska D., Bartyś A., Gamian A.: Defensyny i katelicyny jako naturalne antybiotyki peptydowe. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 694-707
- [29] Zhang Y., Lubberstedt T., Xu M.: The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. *J. Genet. Genomics*, 2013; 40: 23-35

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.