

Defensyny – alternatywa dla antybiotyków?*)

EMILIA BAGNICKA, ARTUR JÓŻWIK, NINA STRZAŁKOWSKA,
JÓZEF KRZYŻEWSKI, LECH ZWIERZCHOWSKI

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska

Bagnicka E., Jóźwik A., Strzałkowska N., Krzyżewski J., Zwierzchowski L.

Defensins: an alternative for antibiotics?

Summary

The overuse of antibiotics for more than 50 years has led to the resistance of bacteria to most of them. The problem is not only the accumulation of mutations in bacterial genome over time, but also the absence of new classes of antibiotics in recent years. The current strategy to overcome the resistance of bacteria to antibiotics is, among others, using antimicrobial proteins and peptides that are produced by insects, amphibians, mammals, or bacteria. One of the most interesting and promising group of peptides to use in the future in human and animal therapy are cationic peptides with β -sheet structures which are stabilised by cysteine, called defensins. They are wide spread in the organisms of animals and plants. The mammalian defensins can be divided into three main classes: α -, β -, and θ -defensin. The biggest is the class of β -defensins. They were discovered at the beginning of nineties of the last century. They demonstrate a broad-spectrum of cytotoxic activity and activity against bacteria and viruses. Their expression was found in many tissues of humans and animals. At present four human epithelial β -defensins, sixteen bovine, two ovine, two caprine, one porcine, four chicken, and four turkey β -defensins are known. Initially, only antibacterial, antiviral, and antifungal activities were attributed to these peptides. Nowadays, these peptides are known as multifunctional molecules. The type of their biological activity often depends on their concentration. Some of them are potential candidates for clinical applications and therefore the recognition of every aspect of their biological activity can be very important.

Keywords: antimicrobial peptides, β -defensins

Stosowanie w okresie ostatnich dziesięcioleci coraz większych ilości antybiotyków doprowadziło do wzrostu oporności wielu szczepów bakterii na ich działanie. Już w 1939 roku MacLean, Rogers i Fleming opisali pojawienie się szczepu gronkowca opornego na sulfonamidy u pacjenta leczonego sulfapirydyną. W ciągu następnych kilku lat spotyka się coraz więcej informacji dotyczących wzrastającej liczby szczepów opornych na penicylinę, streptomycynę, chloramfenikol i antybiotyki tetracyklinowe. W 1957 roku w Polsce ponad 95% gronkowców wyizolowanych z materiałów klinicznych i pozaklinicznych było opornych na sulfonamidy oraz antybiotyki; w materiałach klinicznych szpitali woj. gdańskiego stwierdzono około 73% szczepów gronkowców opornych na penicylinę, 35% na streptomycynę, 24% na chloramfenikol i około 12% gronkowców opornych na aureomycynę. W latach sześćdziesiątych nastąpiło szybkie zwiększenie oporności pałeczek Gram-ujemnych. Obecnie niemal wszystkie izolowane ze środowiska szpitalnego szczepy *Pseudomonas aeruginosa* są odporne na ogólnie dostępne antybiotyki. Wzrósł odsetek opornych na dzia-

łanie antybiotyków takich szczepów, jak: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium*, *Enterobacter* i innych pałeczek Gram-ujemnych [<http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Mikrobiologia/antybiotyki.html>]. Oporność bakterii na antybiotyki jest już poważnym problemem we wszystkich krajach, osiągając coraz częściej stan alarmujący. Za wysokim tempem powstawania i kumulowania mutacji bakterii nie nadąża pojawianie się nowych, o większej skuteczności klas antybiotyków.

Aktualnie realizowane strategie związane z przezwyciężaniem oporności na antybiotyki opierają się na wykorzystaniu białek lub peptydów produkowanych przez owady, płazy, ssaki czy bakterie, wykazujących właściwości bakteriobójcze lub bakteriostatyczne. Wiele peptydów wykazuje ponadto właściwości cytotoksyczne w stosunku do mykobakterii i grzybów, a także niszczące działanie w stosunku do wirusów; większość z nich charakteryzuje się małą cytotoksycznością w stosunku do komórek ssaków. Selektywne przeciwdrobnoustrojowe działanie peptydów wynika z różnic w budowie błon komórkowych *Eukariota* i *Prokariota*. Zewnętrzna błona *Eukariota* jest elektrycznie obojętna dzięki obecności fosfolipidów (m.in. fosfatydylocholina i sfingomielina), podczas gdy mem-

*) Praca powstała w ramach grantu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr 2P06Z 013 30.

brany bakterii mają ujemny ładunek tydyloglicerolu i kardiolipiny (difosfatydyloglicerol). Różnicę stanowi również brak cholesterolu w błonach komórkowych bakterii (15).

Niektóre peptydy produkowane przez bakterie, grzyby i promieniowce, niesyntetyzowane w rybosomach (bacytracyna, gramicydyna S czy polimyksyna B) wykorzystywane są w terapii już od dawna. Peptydy syntetyzowane w rybosomach produkowane są przez wszystkie organizmy żywe (włączając bakterie) jako główny komponent ich naturalnej odporności, która zapewnia organizmom pierwszą linię obrony przed patogenami. Arsenal odporności wrodzonej stanowią komórki fagocytarne, takie jak neutrofile i makrofagi oraz komórki nabłonka. Oba rodzaje komórek produkują peptydy zapobiegające rozwojowi bakterii. W przeciwieństwie do odporności adaptacyjnej, odporność wrodzona jest mechanizmem zawsze występującym w organizmach zwierząt i człowieka. Jest ona odpowiedzią niespecyficzną, nieklonalną i natychmiastową; komponenty odporności wrodzonej są produkowane w odpowiedzi na wtargnięcie patogenów do organizmu (14).

Dotychczas opisano około tysiąca peptydów, wykazujących aktywność przeciw różnym drobnoustrojom i biorących udział w odporności wrodzonej organizmów wielokomórkowych, zwierzęcych i roślinnych (5, 15). Peptydy te grupowane są według rodzaju ładunku elektrycznego, homologii sekwencji, podobieństwa funkcjonowania i trzeciorzędowej struktury (16). Główną klasą peptydów są peptydy kationowe. Z punktu widzenia potencjalnych możliwości zastosowania w terapii ludzi i zwierząt, najbardziej interesujące są peptydy kationowe, stabilizowane cysteiną, posiadające strukturę β -harmonijki (5). Są one specyficzne gatunkowo (różnią się znacznie składem i strukturą) i są szeroko rozpowszechnione w organizmach ludzi oraz zwierząt, także domowych (16). Peptydy te, o wielkości od 16 do 40 reszt aminokwasowych, z dużą liczbą reszt argininowych, mają dwa lub więcej mostki disiarczkowe (5). Grupa ta obejmuje defensyny α , β i θ (5, 24) oraz protegryny (5). Protegryny są małymi peptydami, posiadającymi strukturę „szpilki do włosów”, stabilizowaną dwoma mostkami siarczkowymi. Wykazują one szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego, m.in. przeciw bakteriom Gram-ujemnym, Gram-dodatnim i grzybom (16). Są one również aktywne w stosunku do niektórych otoczko- wych wirusów (8).

Pierwsze peptydy ze strukturą β -harmonijki wyizolował Lehrer w 1980 roku z króliczych makrofagów. Nieco później peptydy te, nazwane α -defensynami, zostały wykryte również w króliczych granulocytach, a następnie w fagocytach innych ssaków, w tym także u ludzi. Na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku odkryto β -defensyny (17). Ostatnią znaną grupą aktywnych peptydów są θ -defensyny. Pierwsze koliste defensyny wyizolowano z roślin (17).

Obecność pierwszej zwierzęcej kolistej minidefensyny (RTD1) w leukocytach rezusa opisał zespół Selsteda w 1999 (23). Cykliczna struktura minidefensyny RTD-1 determinuje jej skuteczność działania przeciw drobnoustrojom i odporność na hamujące działanie soli fizjologicznej. Ta niewrażliwość na fizjologiczne stężenie soli może mieć duży wpływ na przeciwdrobnoustrojowe funkcje w środowisku wewnątrzkomórkowym (26).

Defensyny tworzą podstawowy system ochrony organizmu. α -defensyny, zwane również defensynami klasycznymi, zidentyfikowano u ludzi oraz u wielu gatunków małych ssaków, takich jak: króliki, świnki morskie, szczury czy myszy. Natomiast β -defensyny dotychczas odkryto u ludzi, u dużych ssaków (bydło, owce, kozy, świnie) oraz u drobiu (5). Największą rodzinę aktywnych peptydów przeciwdrobnoustrojowych stanowią β -defensyny. Geny tych peptydów zlokalizowano u różnych ssaków na ekwiwalentnych chromosomach, tj. u bydła na chromosomie 27, u człowieka – na 8p, z którym 27 chromosom bydła ma wiele fragmentów homologicznych (18), zaś u owiec – na 26, podobnym do 27 chromosomu bydła (13). Gen β -defensyny świń zlokalizowano na chromosomie 15, który jest ekwiwalentny do ludzkiego chromosomu 8 (28).

Pierwszą β -defensyną znaną u ssaków był peptyd TAP (*tracheal antimicrobial peptide*) wyizolowany przez Diamonda w 1991 r. z bydłowej tkanki nabłonkowej tchawicy (6). Największą ekspresję TAP wykazano w błonie śluzowej tchawicy, natomiast nie stwierdzono jej obecności w jajowodach, jelicie cienkim i zarodkach u krów w dwu różnych stadiach rozwoju: 4. i 6. miesiącu ciąży. W badaniach *in vitro* peptyd ten wykazał właściwości bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz silną aktywność przeciwko drożdżom *Candida albicans*.

Pierwsze β -defensyny u ludzi odkryte zostały 1995 r. (HBD-1) oraz 1997 r. (HBD-2). Obecnie znane są cztery ludzkie β -defensyny nabłonkowe (26). Ekspresja HBD-1 została stwierdzona w hodowlach ludzkich komórek nabłonkowych, wyprowadzonych z tchawicy, oskrzeli, dróg oddechowych, gruczołu sutkowego, przyusznicy, błony śluzowej policzków, języka i dziąseł. Ponadto stwierdzono jej ekspresję w jelicie cienkim, trzustce, nerkach, prostaty, jądrach, pochwie, macicy, jajowodach, łożysku i grasicy. Stwierdzona została również silna ekspresja tej defensyny w nabłonku gruczołu sutkowego kobiet (27). Działanie jej skierowane jest przeciwko bakteriom Gram-ujemnym (21). HBD-2 wyizolowana została pierwotnie ze skóry z łuszczykowymi zmianami chorobowymi. Następnie jej ekspresję stwierdzono również w keratynocytach, błonie śluzowej dziąseł i nabłonku tchawicy oraz w zainfekowanym nabłonku płuc u pacjentów z mukowiscydozą (19). Podczas gdy defensyna HBD-1 jest produkowana konstytutywnie, poziom HBD-2 wzra-

sta przy stanach zapalnych (21). Jej działanie jest skierowane przede wszystkim przeciwko bakteriom Gram-ujemnym oraz drożdżakom (11). Silną ekspresję HBD-3, indukowaną przez cytokiny, stwierdzono w keratynocytach i migdałkach, natomiast słabą – w nabłonku dróg oddechowych, przewodzie pokarmowym i drogach moczowo-płciowych (9, 11). Garcia i wsp. (9) stwierdzili ponadto jej ekspresję w leukocytach, mięśniu sercowym i mięśniach szkieletowych. Podobnie jak w przypadku dwóch wyżej wymienionych ludzkich defensyn, działanie HBD-3 jest skierowane przeciwko bakteriom Gram-ujemnym i drożdżakom *Candida albicans*. Ponadto defensyna ta niszczy bakterie Gram-dodatnie (np. *Streptococcus pyogenes* lub *S. aureus*), łącznie z wieloopornymi szczepami *S. aureus*, jak również oporną na wankomycynę *Enterococcus faecium* (9, 11).

Gen ludzkiej β -defensyny-4 (HBD-4) koduje 72 aminokwasowy prepropeptyd (21). Defensyna ta jest tylko w 20-25% identyczna z HBD-1, HBD-2 lub HBD-3 (17). Najwyższą ekspresję tej defensyny stwierdzono w jądrach i zatoce żołądka, niższą zaś, konstytutywną ekspresję – w neutrofilach oraz nabłonku trzustki, płucach, macicy i nerkach (17, 21).

W 1993 r. Selsted i wsp. (23) przedstawili charakterystykę trzynastu strukturalnie homologicznych peptydów, należących do grupy β -defensyn, wyizolowanych z bogatych w granule cytoplazmatycznych frakcji neutrofili krwi bydłej. Antybakteryjną aktywność tych kationowych peptydów wykazano w warunkach *in vitro*. Spośród tych 13 peptydów najlepiej poznane są β -defensyny 4 i 5 (BNBD-4 i BNBD-5). Wykazano silną, konstytutywną ekspresję wymienionych defensyn w alveolarnych makrofagach bydła. Niewielką ekspresję BNBD-4 oraz dwu innych z grupy trzynastu defensyn, tj. BNBD-3 i BNBD-9 wykryto w końcowej części jelita cienkiego, a ekspresję BNBD-3 i BNBD-9 – w szpiku kostnym (25). Badania przeprowadzone w IGHZ PAN w Jastrzębcu wskazują na ekspresję genu BNBD-4 również w komórkach somatycznych mleka (4).

Kolejną bydłą defensynę LAP (*lingual antimicrobial peptide* – językowy peptyd przeciwdrobnoustrojowy) zidentyfikowano w komórkach nabłonkowych języka i tchawicy (22). Niską ekspresję tego genu stwierdzili w końcowej części jelita cienkiego Tarver i wsp. (25). Wyniki badań Schonewettera i wsp. (22) wskazują, że ekspresja tego peptydu w nabłonku języka jest indukowana przede wszystkim w miejscach zranienia. Wysoki poziom ekspresji genu LAP stwierdzono w podniebieniu, przełyku, żołądka, okrężnicy, odbytnicy, nozdrzach, tchawicy, spojówkach i skórze. O ekspresji tego genu w nabłonku walcowatym krypt jelitowych, oponach i splocie naczyńiówkowym mózgu, łożysku, a ponadto w korze mózgowej i mózdkowych komórkach Purkiniego świadczy również obecność matrycowego RNA (mRNA). Wyższą ekspresję LAP w tkankach jelita biodrowego wykazano u krów

zakażonych *Mycobacterium paratuberculosis* w porównaniu z poziomem ekspresji u zdrowych zwierząt. Podobną różnicę w ekspresji genu LAP stwierdzono w nabłonku oskrzeli cieląt zakażonych *Pasteurella haemolytica* w porównaniu ze zdrowymi. Również tkanki krów z BLAD (bovine leukocyte adhesion deficiency), inokulowane *P. haemolytica*, wykazywały wzrost ekspresji genu LAP w nabłonku oskrzeli i gruczole podśluzówkowym, w porównaniu ze zdrowymi tkankami (24). Silną ekspresję tego genu wykazano również w zakażonej tkance gruczołowej wymienia krów oraz w komórkach somatycznych mleka (4).

Z bydłych alveolarnych makrofagów oraz jelita grubego wyizolowano β -defensynę enteric (produkt genu EBD1). Wysoki poziom ekspresji tej defensyny w końcowej części jelita cienkiego i okrężnicy wykazali Tarver i wsp. (25). Ponadto zakażenie cieląt pierwotniakami *Cryptosporidium parvum* spowodowało 5- i 10-krotny wzrost ilości matrycowego RNA defensyny EBD w tkankach jelit w stosunku do ekspresji u zwierząt kontrolnych. W badaniach własnych wykazano ekspresję β -defensyny enteric w komórkach somatycznych mleka, zarówno krów zdrowych, jak i z klinicznymi objawami *mastitis* (4).

U owiec zidentyfikowano dwie β -defensyny nazwane: SBD-1 i SBD-2 (12, 13). Podobieństwo sekwencji nukleotydowych ich genów wynosi 87%, natomiast podobieństwo sekwencji reszt aminokwasowych – 78%. Zróżnicowany poziom ekspresji obu defensyn owczych stwierdzono w tkankach nabłonkowych. U jednych zwierząt najsilniejszą ekspresję defensyn stwierdzono w przedżołądkach, natomiast u innych w jelicie cienkim lub grubym. W życiu poza płodowym najsilniejsza ekspresja w przypadku żwacza wystąpiła w 6.-8. tygodniu życia. Badania prowadzone podczas ciąży wykazały istotne różnice w poziomie ekspresji pomiędzy zwierzętami, jak i pomiędzy różnymi okresami ciąży, z tendencją jednak do najwyższej ekspresji w trzecim tryestrze ciąży. Przy analizowaniu ekspresji w poszczególnych tkankach najsilniejszą ekspresję defensyny SBD-1 wykazano w tkance nabłonkowej języka i jelita grubego, a następnie tchawicy, zaś nieco niższą w tkance nabłonkowej żwacza, czepca i ksiąg. W jelicie cienkim nie stwierdzono jej ekspresji. Transkrypty genu SBD-2 wykryto jedynie w jelicie cienkim i grubym. Ekspresji obu defensyn nie stwierdzono w podniebieniu, śledzionie, sercu i wątrobie (12).

U kóz wyizolowano dotychczas jedynie dwie β -defensyny – GBD-1 i GBD-2. Ich prekursorzy – preproGBD-1 i preproGBD-2 są w 88,2% identyczne pod względem składu aminokwasowego (różnica 8 aminokwasów), natomiast sekwencja nukleotydowa kodujących je genów jest identyczna w 96,8%. Ekspresję defensyny GBD-1 stwierdzono w języku, tchawicy, oskrzelach i płucach, podczas gdy GBD-2 w przewodzie pokarmowym, m.in. w żołądka, jelicie czczym, cienkim i grubym oraz odbytnicy (30). Anbu i wsp.

(1) wykazali ich antybakteryjną aktywność przeciwko bakteriom Gram-dodatnim (m.in. *Streptococcus aureus*), jak i Gram-ujemnym (m.in. *Escherichia coli*). W badaniach własnych największą ekspresję „kozich” β -defensyn stwierdzono w tchawicy, nieco mniejszą w języku, wymieniu i nerkach, a całkiem małą – w rdzeniu kręgowym (3). Zróznicowany poziom ekspresji β -defensyn wykazano również w komórkach mleka koziego (3, 4).

U świń początkowo wyizolowano z nabłonka języka jedną β -defensynę – PBD-1. Defensyna ta wykazuje aktywność przeciwko *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurin*, *Listeria monocytogenes* i *Candida albicans*. Istnieje prawdopodobieństwo, że stanowi ona barierę przeciw drobnoustrojom w tkance nabłonkowej jamy gębowej świń. W procesach zapalnych i infekcji tkanki nabłonkowej języka, tchawicy i jelita cienkiego wykazano konstytutywną ekspresję tej defensyny (28). Sang i wsp. (20) wykazali ekspresję jeszcze jedenastu β -defensyn w różnych tkankach u świń: w wątrobie, jelicie cienkim, płucach i szpiku kostnym, tkance limfatycznej, jądrach, najądrzu, śledzionie, grasicy i skórze.

U ptaków znaleziono dotychczas tylko peptydy z rodziny β -defensyn. Do nich należą cztery β -defensyny występujące u kurcząt (GAL 1/CHP1, GAL1 α /CHP2, GAL2 i GAL3) oraz cztery u indyków (THP1, THP2, THP3 i GPV-1). Defensynę GAL 3 (*Gallinacyne-3*) wyizolowano z nabłonka kurcząt (*Gallus gallus*). U zdrowych ptaków ekspresję peptydu stwierdzono w języku, torbie Fabrycjusza i tchawicy, jak również w skórze, przełyku, workach powietrznych, jelicie grubym i nerkach. Ekspresja GAL3 w tchawicy istotnie wzrastała w przypadku infekcji *Haemophilus paragallinarum*, natomiast w języku, torbce Fabrycjusza i przełyku pozostawała bez zmian (29). Peptydy znalezione u kurcząt: CHP 1 i 2, oraz u indyków – THP1 wykazują antybakteryjną aktywność przeciwko *Staphylococcus aureus* oraz *Escherichia coli*, natomiast THP2 i THP3 jedynie przeciwko *S. aureus*. Wymienione peptydy wykazują również działanie grzybobójcze. Nie wykazały natomiast aktywności przeciwko wirusowi zakaźnego zapalenia oskrzeli (7).

Sposób działania większości peptydów antybakteryjnych polega na zwiększeniu przepuszczalności błon komórkowych. Stwierdzono podobieństwo między działaniem antybiotyków oraz antybakteryjnych peptydów, takich jak: defensyny, magainy, cekropiny, baktenciny oraz dermaseptyny. Pierwszym stadium działania jest elektrostatyczna interakcja między kationowym peptydem i ujemnie naładowaną błoną komórkową patogenów. Stąd też wzrost dodatniego ładunku peptydów zwiększa ich antybakteryjną czy antywirusową aktywność. W niektórych przypadkach jednak mniejsza kationowość peptydu nie powoduje zmian jego aktywności; tak jest w przypadku defensyny szczurzej z brakującą jedną resztą argininową. Znane są również przypadki, gdy zwiększenie dodatniego ła-

dunku peptydu powoduje obniżenie jego aktywności, jak to ma miejsce w przypadku wysoko kationowego analogu magainy. Na aktywność peptydów wpływa również budowa błony komórkowej patogenu, np.: skład fosfolipidów, zawartość steroli, potencjał błony, czy obecność polianionów (2).

Początkowo uważano, że główna rola omawianych peptydów polega na niszczącym działaniu bakterii, wirusów czy grzybów. Obecnie wiadomo, że większość tych substancji pełni także inne funkcje. Kamysz i wsp. (15) wymienia między innymi: hamowanie syntezy białek błon komórkowych, hamowanie syntezy DNA, aktywność przeciwnowotworową, stymulację proliferacji komórek, interferencję ze szlakami wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnałów (signalling pathways), chemotaksję komórek odpornościowych, stymulację ekspresji cytokin oraz cząsteczek adhezyjnych, wpływ na angiogenezę i na transport chlorków. Często rodzaj funkcji poszczególnych defensyn zależy od ich koncentracji. W niskich stężeniach niektóre defensyny stymulują ekspresję cząsteczek adhezyjnych lub produkcję cytokin. W miarę zwiększania się ich stężenia peptydy te działają jak czynnik chemotaktyczny dla komórek odpornościowych i stają się inhibitorami białkowej kinazy C. W wysokim stężeniu stymulują wzrost keratynocytów, liżą drobnoustrojów i komórek nowotworowych.

Poza aktywnością skierowaną przeciw drobnoustrojom, silna ekspresja niektórych peptydów z grupy defensyn podczas chronicznych bądź ostrych stanów zapalnych może być użyta do diagnozy i lokalizacji miejsc infekcji, a farmakologiczna regulacja ich ekspresji może być użyteczna w zapobieganiu i procesie leczenia choroby (24). Istnieje prawdopodobieństwo, że defensyny mogą stymulować również późniejsze reakcje związane z odpowiedzią immunologiczną (16).

Przeciwdrobnoustrojowe peptydy, uczestniczące we wrodzonej odporności organizmów są antybiotykami nowej generacji, które mogłyby być prawdopodobnie użyte zarówno w profilaktyce, jak i w terapii (15). Wytwarzanie syntetycznych peptydów jest obiecującą strategią do uzyskania nowej generacji leków o specyficznym działaniu, które mogłyby mieć zastosowanie zarówno w profilaktyce, jak i w terapii niektórych chorób. Wśród wielu zalet tej grupy peptydów na szczególną uwagę zasługuje szerokie spektrum ich aktywności, natychmiastowe „bójcze” działanie, aktywność fagocytarna, potencjalnie niski poziom wzbudzenia ewentualnej oporności mikroorganizmów oraz współistnienie szerokiej aktywności przeciwzapalnej. Do stron ujemnych można zaliczyć wysokie koszty badań naukowych dążących do zsyntetyzowania peptydów i opracowania sposobów ich osłony przy podawaniu drogą pokarmową lub pozajelitową, ewentualna toksyczność ogólna lub miejscowa, osłabienie aktywności peptydów przy zwiększonym stężeniu soli, wrażliwość na pH, podatność na proteolizę, wywoływanie ewentualnych uczuleń po ponownym podaniu,

naturalną oporność niektórych szczepów bakterii, zakłócenie funkcji biologicznych pacjenta (np. angiogeneza) i wreszcie wysoki koszt produkcji (10).

Prawdopodobieństwo ich wykorzystania w terapii ludzi czy zwierząt zwiększa fakt, iż oporność bakterii na działanie defensyn i innych aktywnych peptydów jest zjawiskiem rzadkim. W związku z tym poznanie każdego aspektu dotyczącego biologicznej aktywności defensyn może przyczynić się w przyszłości do rozwiązania wielu istotnych problemów związanych z leczeniem wielu chorób u ludzi i zwierząt.

Piśmiennictwo

- Anbu K. A., More T., Kumar A.: Isolation and characterisation of cationic antibacterial proteins and peptides from goat tongue epithelium. *Indian J. Anim. Sci.* 2003, 73, 1307-1311.
- Andreu D., Rivas L.: Animal antimicrobial peptides: An overview. *Biopolymers (Peptide Sciences)* 1998, 47, 415-433.
- Bagnicka E., Flisikowski K., Strzałkowska N., Krzyżewski J., Prusak B., Sakowski T., Zwierzchowski L.: Expression level of goat beta-defensin genes in different goat tissues and in somatic cells of goat milk – preliminary study. XI Baltic Animal Breeding and Genetics Conference, May 2005, Palanga, Lithuania 2005, 144-146.
- Bagnicka E., Szreder T., Strzałkowska N., Krzyżewski J., Zwierzchowski L.: Ekspresja defensyn w komórkach mleka kóz i krów w powiązaniu ze stanem zdrowia wymienia. Sympozjum Sprawozdawcze: Molekularne i fizjologiczne aspekty rozrodu i żywienia zwierząt, Jabłonna 2-3.03.2006, 2.
- Brogden K. A., Ackermann M., McCray Jr. P. B., Tack B. F.: Antimicrobial peptides in animals and their role in host defence. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2003, 22, 465-478.
- Diamond G., Zasloff M., Eck H., Brasseur M., Maloy W. L., Bevins C. J.: Tracheal antimicrobial peptide, a novel cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: Peptide isolation and cloning of a cDNA. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1991, 88, 3952-3956.
- Evans E. W., Beach F. G., Moore K. M., Jackwood M. W., Glisson J. R., Harmon B. G.: Antimicrobial activity of chicken and turkey heterophil peptides CHP1, CHP2, THP1, and THP3. *Vet. Microbiol.* 1995, 47, 295-303.
- Ganz T.: Defensins: antimicrobial peptides of vertebrates. *C. R. Biol.* 2004, 327, 539-549.
- Garcia J. R., Jaumann F., Schulz S., Krause A., Rodriguez-Jimenez J., Forssmann U., Adermann K., Kluever E., Vogelmeier C., Becker D., Hedrich R., Forssmann W.-G., Bals R.: Identification of a novel, multifunctional β -defensin (hBD-3) with specific antimicrobial activity: its interaction with plasma membranes of *Xenopus* oocytes and the induction of macrophage chemoattraction. *Cell Tissue Res.* 2001, 306, 257-264.
- Gordon Y. J., Romanowski R. G., McDermott A. M.: A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr. Eye Res.* 2005, 30, 505-515.
- Harder J., Bartels J., Christophers E., Schroeder J. M.: Isolation and characterisation of human β -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 5707-5713.
- Huttner K. M., Bresinski-Caliguri D. J., Mahoney M. M., Diamond G.: Antimicrobial peptide expression is developmentally regulated in the ovine gastrointestinal tract. *J. Nutr.* 1998a, 128, 297S-299S.
- Huttner K. M., Lambeth M. R., Burkin H. R., Burkin D. J., Broad T. E.: Localization and genomic organization of sheep antimicrobial peptide genes. *Gene* 1998b, 206, 85-91.
- Kaiser V., Diamond G.: Expression of mammalian defensin genes. *J. Leukoc. Biol.* 2000, 68, 779-784.
- Kamysz W., Okrój M., Łukasiak J.: Novel properties of antimicrobial peptides. Review. *Acta Biochim. Pol.* 2003, 50, 461-469.
- Lehrer R. I., Ganz T.: Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence. *Cur. Opin. Immunol.* 1999, vol. 11, 23-27.
- Lehrer R. I., Ganz T.: Defensins of vertebrate animals. *Cur. Opin. Immunol.* 2002a, 14, 96-102.
- Liu L., Zhao C., Heng H. Q., Ganz T.: The human β -defensin-1 and α -defensin are encoded by adjacent genes: two peptide families with differing disulfide topology share a common ancestry. *Genomics* 1997, 43, 316-320.
- Mathews M., Jia H. P., Githmiller J. M., Losh G., Graham S., Johnson G. K., Tack B. F., McCray P. B. Jr.: Production of β -defensin antimicrobial peptides by the oral mucosa and salivary glands. *Infect. Immun.* 1999, 67, 2740-2745.
- Sang Y., Patil A. A., Zhang G., Ross C. R., Blecha F.: Bioinformatic and expression analysis of novel porcine beta-defensin. *Mamm. Genome* 2006, 17, 332-339.
- Schneider J. J., Unholzer A., Schaller M., Schaefer-Kortig M., Kortig H. C.: Human defensins. *J. Mol. Med.* 2005, 83, 587-595.
- Schnewetter B. S., Stolzenberg E. D., Zasloff M. A.: Epithelial antibiotics induced at sites of inflammation. *Scien.* 1995, 267, 1645-1648.
- Selsted M. E., Tang Y. Q., Morris W. L., McGuire P. A., Novotny M. J., Smith W., Henschen A. H., Cullor J. S.: Purification, primary structures, and antibacterial activities of β -defensins, a new family of antimicrobial peptides from bovine neutrophils. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 6641-6648.
- Stolzenberg E. D., Anderson G. M., Ackermann M. R., Whitlock R. H., Zasloff M.: Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1997, 94, 8686-8690.
- Tarver A. P., Clark D. P., Diamond G., Russell J. P., Erdjument-Bromage H., Tempst P., Cohen K. S., Jones D. E., Sweeney R. W., Wines M., Hwang S., Bevins C. L.: Enteric β -defensin: Molecular cloning and characterisation of a gene with inducible intestinal epithelial cell expression associated with *Cryptosporidium parvum* infection. *Infect. Immun.* 1998, 66, 1045-1056.
- Tran D., Tran P. A., Tang Y.-Q., Yuan J., Cole T., Selsted M. E.: Homodimeric θ -defensins from Rhesus macaque leucocytes. *J. Biol. Chem.* 2002, 277, 3079-3084.
- Tunzi C. R., Harper P. A., Bar-Oz B., Valore E. V., Semple J. L., Watson-MacDonell J., Ganz, Ito S.: Beta-defensin expression in human mammary gland epithelia. *Pediatr. Res.* 2000, 48, 30-35.
- Zhang G., Hiraiwa H., Yasue H., Wu H., Ross C. R., Troyer D., Blecha F.: Cloning and characterisation of the gene for a new epithelial β -defensin. *J. Biochem. Chem.* 1999, 274, 24031-24037.
- Zhao C., Nguyen T., Liu L., Sacco R. E., Brodgen K. A., Lehrer R. I.: Gallinacin-3, an inducible epithelial β -defensin in the chicken. *Infect. Immun.* 2001, 69, 2684-2691.
- Zhao C., Nguyen T., Liu L., Shamova O., Brodgen K., Lehrer R. I.: Differential expression of Caprine β -defensin in digestive and respiratory tissues. *Infect. Immun.* 1999, 67, 6221-6224.

Adres autora: dr Emilia Bagnicka, ul. Postępu 1, 05-552 Wólka Kosowska;
e-mail: E.Bagnicka@ighz.pl