

Peptydy przeciwdrobnoustrojowe – rys historyczny i mechanizm ich działania*)

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

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

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

Antimicrobial peptides – outline of the history of studies and mode of action

Summary

By now, over 800 different antimicrobial peptides have been identified in fauna and flora. Antimicrobial peptides (AMPs) are an important part of the innate immunity of all living organisms. The first animal AMP was found in 1962 by Kiss and Michl in the venomous skin secretion of the orange speckled frog *Bombina variegata*. Most known AMPs are multifunctional as effectors of innate immunity and have direct antimicrobial activity against various bacteria, enveloped viruses, and fungi. Most of them share a common mechanism of antimicrobial action: permeabilization of the cell membrane of the pathogen. There is a real chance to use these peptides for developing a new generation of medicines. The present review outlines the history of studies on antimicrobial peptides and the current state of knowledge about their activity.

Keywords: antimicrobial peptides, activity, animals

Zastosowanie antybiotyków w leczeniu chorób wywołanych drobnoustrojami było jednym z największych osiągnięć medycyny XX wieku, jednak zdolność do nabywania przez bakterie oporności stanowi jeden z najpoważniejszych problemów leczenia antybiotykami. Naukowcy całego świata podejmują wiele prób opracowania strategii przewycięzania lekooporności patogennych szczepów bakterii. Jedną z przewidywanych strategii jest wykorzystanie „bójczych” zdolności licznej grupy peptydów (11, 18), nazwanych peptydami przeciwdrobnoustrojowymi (Antimicrobial Peptides, AMP). Celem niniejszego opracowania było przedstawienie historii badań nad substancjami bakteriobójczymi pochodzenia biologicznego, do jakich można zaliczyć przeciwdrobnoustrojowe peptydy, oraz omówienie dotychczas poznanych lub hipotetycznych mechanizmów ich działania.

Zarys historii badań nad przeciwdrobnoustrojowymi peptydami

Za prekursora badań nad przeciwdrobnoustrojowymi peptydami i białkami można uznać rosyjskiego zoologa i mikrobiologa Ilję Miecznikowa (1845-1916)

*) Praca wykonana w ramach projektu „BIOŻYWNOSĆ – innowacyjne, funkcjonalne produkty pochodzenia zwierzęcego” nr POIG.01.01.02-014-090/09 współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013.

– odkrywcę zjawiska fagocytozy. W 1883 r. wysunął on teorię, według której fagocytoza odgrywa główną rolę w zjawiskach odporności oraz przedstawił fagocytarną teorię zapalenia. Miecznikow stwierdził, że substancje przeciwdrobnoustrojowe muszą być obecne w fagocytach. Zostały one nazwane „fermentami” (enzymami). Z kolei odkrywca penicyliny, szkocki lekarz i mikrobiolog Aleksander Fleming, prowadzący badania nad środkami bakteriobójczymi pochodzenia biologicznego, również w latach dwudziestych ubiegłego wieku stwierdził, że substancje tworzące warstwę okrywającą nabłonek zawierają enzymy o działaniu przeciwbakteryjnym i bakteriolitycznym; w 1929 r. nazwał je lizozymem. Fleming stwierdził, że te same substancje są obecne również w fagocytach (12). Lizozym jest enzymem z grupy hydrolaz glikozydowych, rozkładającym glikozydowe wiązania w polisacharydach, które zawierają kwas muraminowy występujący w ścianie komórkowej bakterii. Na jego działanie wrażliwe są przede wszystkim bakterie Gram-dodatnie.

Pierwsze doniesienia o wyizolowaniu 24-aminokwasowego antybakteryjnego i hemolitycznego peptydu, nazwanego bombiną, obecnego w skórnej wydzielinie żab *Bombina variegata* pochodzą z 1962 r. (20). W 1972 r. Habermann (17) opisał również antybakteryjny i hemolityczny peptyd melittyne, wyizolowany z jadu pszczoły. W 1973 r. Araki i wsp. (2) wyizolo-

wali ze skóry afrykańskiej żaby *Xenopus laevis* aktywny peptyd, nazwany przez nich Xenopsin. Obecność ksenopsyny stwierdzono w wielu organach tej żaby, włączając skórę, jelita i mózg. Na podstawie jej dystrybucji i biologicznej aktywności wyciągnięto wniosek, że peptyd ten odgrywa ogromną rolę przy gojeniu się ran, w procesach zapalnych jako regulator lokalnego przepływu krwi i przepuszczalności naczyń krwionośnych (8). Po dziesięciu latach pracy nad odpornością u owadów w 1980 r. wyizolowano z tkanek ćmy *Hyalophora cecropia* kolejny peptyd – cekropinę (4). Peptyd ten zakwalifikowano do rodziny katelicydyn, stanowiących grupę przeciwdrobnoustrojowych prekursorów peptydowych, różniących się strukturą, sekwencją aminokwasową oraz długością (od 12 do 79 reszt aminokwasowych). U zwierząt gospodarskich pierwszą katelicydynę, o nazwie cekropina P1, zidentyfikowano w 1989 r. u świń (28). Wykazuje ona wysoką aktywność przeciwko bakteriom Gram-ujemnym i niektórym bakteriom Gram-dodatnim. Propeptydy te zostały następnie zidentyfikowane u wielu zwierząt, włączając ssaki naczelne, kopytne i gryzonie (14).

W 1980 r. Lehrer wraz ze współpracownikami wyizolowali z króliczych makrofagów pierwszych sześć peptydów o podobnej strukturze β -antyharmonijkowej, o wielkości od 32 do 34 reszt aminokwasowych, w tym 6 reszt cysteinowych i od 4 do 10 reszt argininowych (12). Wkrótce peptydy te zostały zidentyfikowane również w króliczych granulocytach (PMN), a następnie w fagocytach niektórych ssaków, w tym człowieka. Z azurochłonnych ziarnistości neutrofilów ludzkich wyizolowano trzy peptydy o masie molekularnej < 3.500 Da, wykazujące aktywność podobną do działania antybiotyków. Nazwano je ludzkimi, neutrofilowymi peptydami (human neutrophil peptide): HNP-1, 2 i 3, zawierającymi, odpowiednio, 30, 29 i 30 reszt aminokwasowych, zaś całej grupie nadano nazwę „defensyny” (13) (obecnie α -defensyny). Te trzy ludzkie defensyny wykazały wysoki konserwatyzm strukturalny i wysoką homologię sekwencji (11 identycznych reszt aminokwasowych, włączając 6 cystein) do wspomnianych wyżej peptydów wyizolowanych z króliczych makrofagów (29). Defensyny te zidentyfikowano również w neutrofilach wielu innych gatunków ssaków, takich jak: świnki morskie, króliki, szczury, myszy i chomiki oraz makaki (12). Wykazują one aktywność przeciwko bakteriom, grzybom i wirusom (13).

Równie ważnym było odkrycie w 1987 r. magainin, wydzielanych przez skórę żaby *Xenopus laevis* przez Michaela Zasloffa (35). Zespół Zasloffa, przeprowadzający zabiegi chirurgicznego pozyskiwania oocytów żab zwrócił uwagę na fakt, że mimo braku sterylnych warunków operacji oraz natychmiastowego umieszczenia operowanych żab w pojemnikach z niesterylną wodą następowało szybkie gojenie się ran pooperacyjnych, a ich infekcje zdarzały się niezwykle rzadko. Sposób gojenia się ran wskazywał na przeciwdrobnoustrojową aktywność nieznanych czynników obecnych

w skórze żab. Szczegółowe badania doprowadziły do wyizolowania dwóch peptydów – magaininy 1 i 2. Z jednego grama wilgotnej skóry żaby z części brzusznej uzyskano 2 mg magainin, co świadczy o tym, że peptydy te stanowią główny składnik ochrony przeciwbakteryjnej, zlokalizowany w skórze. Peptydy te nie są wydzielane na powierzchnię skóry, lecz są obecne wewnątrz tej tkanki i uwalniane do płynów ustrojowych. Późniejsze badania wykazały obecność magainin również w przewodzie pokarmowym tego gatunku zwierząt (15). Magaininy wykazują aktywność w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych, grzybów i pierwotniaków (4). Baker i wsp. (3) wykazali również działanie antynowotworowe magaininy-2. Peptydy te zakwalifikowano do rodziny katelicydyn. W 1988 r. zespół Michaela Zasloffa opisał dwa kolejne peptydy obecne w skórze żab *Xenopus laevis*: peptyd PGLa oraz peptyd pochodzący z prekursora ksenopsyny XPF. Mimo że sekwencje aminokwasowe tych peptydów odbiegają znacznie od sekwencji magainin, ich aktywności biologiczne są podobne (31). Badania nad peptydami wydzielanymi przez różne gatunki żab, zwłaszcza pod kątem ich aktywności przeciwko wirusom, m.in. HIV, trwają nadal. Peptydy o nazwach: caerin-1.1, caerin-1.9 i maculatin-1.1, wyizolowane z tkanek różnych gatunków żab z rodziny rzekotkowatych (amerykańska rzekotka zielona, chwytnica czerwonoooka i żaba *Litoria genimaculata*) hamują zakażenie komórek T i zapobiegają przemieszczaniu się wirusa HIV z komórek dendrycznych do komórek T. Peptydy te ponadto wykazują aktywność w stosunku do tych wirusów, nawet gdy są one ukryte w komórkach dendrycznych (5). Kolejny peptyd wyizolowany ze skóry żaby – dermaseptyna S4 (DS4) – wykazuje szerokie spektrum aktywności w stosunku do bakterii, drożdży, grzybów oraz wirusów otoczkowych, między innymi do HIV-1. Mechanizm działania DS4 przeciwko wirusom polega na przerwaniu ciągłości ich otoczki białkowej. Zmodyfikowana DS4 inhibuje wychwytywanie wirusa HIV-1 przez komórki dendryczne, ułatwiając jednocześnie przenoszenie go do komórek T (25).

Kolejne peptydy ze strukturą β -antyharmonijkową (obecnie nazywane β -defensynami) wyizolowano na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku (24). Zawierają one 38-42 reszt aminokwasowych, w tym dużą liczbę reszt argininowych (7). Pierwszą odkrytą w 1991 r. u ssaków β -defensyną był peptyd wyizolowany z tkanki nabłonkowej tchawicy bydła (11). Nazwano go przeciwdrobnoustrojowym peptydem tchawicowym (tracheal antimicrobial peptide – TAP). Następnie, w 1993 r. zespół Selsteda przedstawił dane o trzynastu strukturalnie homologicznych peptydach, wyizolowanych z neutrofilów krwi bydłowej. Te kationowe peptydy, zawierające 38-42 reszt aminokwasowych, z wysoce konserwatywną sekwencją konsensusową, która została znaleziona również w TAP, wykazały antybakteryjną aktywność w warunkach *in vitro*.

Ta sekwencja konsensusowa okazała się jednak różna od tych, które zostały ustalone w klasie α -defensyn. Jednak aktywność niektórych bydłowych peptydów neutrofilowych dorównywała aktywności najsilniej działającej, neutrofilowej defensyny króliczej (NP-1). Ze względu na duże podobieństwo struktury i pełnionej funkcji do defensyny króliczej, lecz w odróżnieniu od klasy α -defensyn autorzy zaproponowali dla odkrytej przez siebie rodziny przeciwdrobnoustrojowych peptydów nazwę „ β -defensyny” (30).

Ostatnią zidentyfikowaną grupą defensyn wyizolowanych z leukocytów rezusa są θ -defensyny, charakteryzujące się kolistą strukturą. Wiele kolistych defensyn wyizolowano wcześniej z roślin (24), podczas gdy u zwierząt pierwszą kolistą minidefensynę (RTD-1) wyizolowano w 1999 r. (32). Ta minidefensyna ma dwa różne prekursorów mRNA. Każdy z nich kodowany jest przez dwa zmutowane geny α -defensyn; między trzecim a czwartym kodonem cysteinowym występuje „stop” kodon, który powoduje, że każdy z prekursorów zawiera tylko trzy cysteiny. Prekursor α -defensyn, zwane RTD1a i RTD1b, składają się z 76 reszt aminokwasowych. Część produktu translacji tych genów jest obcinana tak, że każdy z prekursorów (demidefensin) jest dawcą 9 reszt aminokwasowych, w tym trzech cystein. Końce dwóch skróconych prekursorów łączą się ze sobą, tworząc końcowy kolisty produkt, złożony z 18 aminokwasów, z trzema wewnątrzcząsteczkowymi mostkami disiarczkowymi.

W 2001 r. zostały opisane dwie następne minidefensyny koliste, tj. RTD-2 i RTD-3, wyizolowane ze szpiku kostnego rezusa (9). Łączące się w pary prekursorów θ -defensyn mogą być homologiczne lub heterologiczne. Występują więc różnice w ich składzie aminokwasowym. Częstocząsteczkowa RTD-1 ma strukturę heterodimeryczną, natomiast peptydy RTD-2 i RTD-3 mają strukturę homodimeryczną. Ilość θ -defensyny RTD-1 izolowanej z leukocytów jest 10 razy większa niż obu pozostałych θ -defensyn. W 2002 r. Cole i wsp. (9) podali informację o ekspresji pseudogenu w ludzkim szpiku kostnym, który koduje przeciwdrobnoustrojowy peptyd homologiczny do kolistej minidefensyny (θ -defensyny), zidentyfikowanej u rezusa i nazwali ją retrocykliną. Na poziomie nukleotydowym retrocyklina jest w 88,9% identyczna z demidefensyną zidentyfikowaną u rezusa oraz wykazuje homologię do prekursorów RTD-1: 1a i 1b. Autorzy ci wykazali aktywność retrocykliny *in vitro* w stosunku do HIV-1. Peptyd ten jednak nie działa bezpośrednio na wirusa, ale jest inhibitorem odwrotnej transkrypcji lub innych poprzedzających ją procesów, np. wiązania czy wychwytywania wirionu. Mimo iż transkrypty θ -defensyny są obecne w szpiku kostnym człowieka, śledzienie, grasicy, jądrach i mięśni szkieletowym, przedwczesny „stop” kodon uniemożliwia ich translację. W ludzkim genomie zidentyfikowano 6 pseudogenów θ -defensyn (DEFT), pięć w chromosomie 8p23 i jeden w chromosomie 1. Wszystkie te pseudogeny, jak

również ich homologi u szympanów i goryli zawierają ten sam przedwczesny, powstały wskutek mutacji „stop” kodon. Ponadto wyniki cytowanych badań wskazują, iż gen DEFT i gen θ -defensyny pojawiły się u małp Starego Świata przez mutację istniejącego wcześniej genu α -defensyny. Chociaż niezmienny gen DEFT przetrwał u niektórych naczelnych (z wyjątkiem człowieka), przodkowie *homo sapiens* po rozdzieleniu się ewolucyjnych linii orangutana i hominidów utracili zdolność wytwarzania θ -defensyn. Możliwe, chociaż trudne do udowodnienia jest przypuszczenie, że ta mutacja uczyniła nasz gatunek bardziej podatnym na infekcje HIV-1.

Podobieństwo struktury trzeciorzędowej oraz umiejscowienie genów α - i β -defensyn u człowieka w chromosomie 8 w regionie 22-23 wskazuje na wspólne pochodzenie obu grup genów (24). Geny α -, β - oraz θ -defensyn wywodzą się od wspólnych genów pierwotnych, które prawdopodobnie istniały w okresie przed rozdzieleniem się gromad gadów i ptaków (9). Rodzina β -defensyn jest filogenetycznie starsza niż rodzina α -defensyn (23).

Niezależnie od siebie Krause i wsp. (21) oraz Park i wsp. (27) opisali 25-aminokwasowy, antybakteryjny peptyd, zawierający nie 6 jak u defensyn, lecz 8 cystein, tworzących 4 mostki disiarczkowe. Krause i wsp. (21) wyizolowali ten peptyd z krwi ludzkiej, jednak najwyższą jego ekspresję stwierdzili w wątrobie i z tego względu nadali mu nazwę Liver-expressed antimicrobial peptide (LEAP-1). Park i wsp. (27) natomiast wyizolowali taki peptyd z ludzkiego moczu, stwierdzając jednocześnie, że jest on syntetyzowany w wątrobie i tam też występuje jego najsilniejsza ekspresja, dlatego też nazwali go hepcydyną (hHEPC).

Sposób działania peptydów antybakteryjnych

Ganz i Lehrer (12) definiują przeciwdrobnoustrojowe peptydy jako substancje kodowane przez geny i syntetyzowane w rybosomach, o wielkości mniejszej niż 100 reszt aminokwasowych. Definicja ta wydaje się niepełna, gdyż, jak podają Hancock i Chapple (18), część tych peptydów nie jest syntetyzowana w rybosomach. Do tej grupy zaliczyli oni m.in.: gramicydyny, polimyksyny, bacytracyny i glikopeptydy. Wymienione peptydy są produkowane przez bakterie i grzyby. Niektóre z nich, np. bacytracyna, gramicydyna S czy polimyksyna B, są już od dawna wykorzystywane w medycynie ludzkiej. Peptydy syntetyzowane w rybosomach produkowane są przez wszystkie organizmy żywe (włączając bakterie) jako główny komponent naturalnej odporności tych organizmów (34).

Na uwagę zasługuje fakt, iż peptydy te działają cytotoksycznie w stosunku do różnych patogenów, natomiast większość z nich charakteryzuje się niską cytotoksycznością w stosunku do komórek ssaków, nawet przy wyższej ich koncentracji niż jest wymagana do aktywności przeciwko patogenom. Początkowo sądzono, że omawiane peptydy wykazują aktywność jedy-

nie w stosunku do komórek *Prokariota*. To selektywne działanie uzasadniano istniejącą różnicą w budowie błon komórkowych organizmów eukariotycznych i prokariotycznych. Zewnętrzna błona wyższych *Eukariota*, dzięki obecności fosfolipidów, np. fosfatydylocholine i sfingomieliny, jest elektrycznie obojętna, podczas gdy membrany bakterii mają ujemny ładunek tydyloglicerolu i kardiolipiny (difosfatyloglicerol). W błonach komórkowych bakterii, w przeciwieństwie do błon komórkowych *Eucariota*, nie występuje cholesterol (26). Jednak w wysokich stężeniach ($\geq 100 \mu\text{g/mL}$) peptydy te, np. defensyny, mogą niszczyć również zmienione chorobowo komórki eukariotyczne np. komórki rakowe (19).

Charakterystyczną cechą przeciwdrobnoustrojowych peptydów jest ich amfifilność (lub inaczej amfipatyczność), która jest konieczna do przzerwiania błony komórkowej patogenu i tworzenia w niej porów (33). Mimo znacznej różnorodności budowy przeciwdrobnoustrojowych peptydów, wspólną ich cechą jest grupowanie hydrofobowych i kationowych reszt aminokwasowych, tworzących amfipatyczną strukturę (22).

Sposób działania większości peptydów antybakteryjnych polega na doprowadzeniu do zwiększenia przepuszczalności błon komórkowych (1). Za hipotezą atakowania błon komórkowych przez peptydy przemawiają takie przesłanki, jak np. indukcja wycieku jonów K^+ i innych składników komórek, ochrona komórki przed działaniem peptydów dzięki czynnikom depolaryzującym błonę komórkową, takim jak m-chlorofenylhydrazon karbonylocyanidu (carbonylcyanide m-chlorophenylhydrazone – CCCP) oraz ich aktywność przeciwko komórkom *Prokariota* i niektórym komórkom *Eukariota* oraz wirusom osłonkowym, a brak aktywności przeciwko wirusom nieosłonkowym (10, 19).

Stwierdzono podobieństwo w działaniu antybiotyków i antybakteryjnych peptydów, takich jak: defensyny, magaininy, cekropiny, baktenciny oraz dermaseptyny (1). Bakteriobójcze działanie defensyn przypomina również zabijanie bakterii indukowane przez białkowe toksyny tworzące kanały w błonach komórkowych, zwane kolicynami (19). Pierwszym etapem działania peptydów jest elektrostatyczna interakcja między kationowym peptydem i ujemnie naładowaną błoną komórkową patogenów. Stąd też wzrost dodatniego ładunku peptydów zwiększa ich przeciwbakteryjną czy przeciwwirusową aktywność. Bezpośrednią korelację między kationowym charakterem peptydów a poziomem aktywności przeciwbakteryjnej i przeciwwirusowej stwierdzono w odniesieniu do analogów magaininy i cekropiny. Niekiedy jednak mniejszy ładunek dodatni peptydu nie powoduje zmian jego aktywności, jak w przypadku defensyny szczerzej z brakującą jedną resztą argininową. Znane są również przypadki obniżenia aktywności peptydu w przypadku zwiększenia jego dodatniego ładunku (np. wysokokationowy analog magaininy). Na aktywność peptydów wpływa

również budowa błony komórkowej patogenu, m.in.: skład fosfolipidów, zawartość steroli, potencjał błony czy obecność polianionów (1). Kagan i wsp. (19) wykazali, że α -defensyna królicza NP-1 ma zdolność tworzenia kanałów w błonach komórkowych, zbudowanych z: fosfatydyloetanolamin, fosfatydylocholin (lecytyna), fosfatydyloseryn (serynofosfatyd) oraz mieszaniny tych lipidów. Ponadto zredukowana i karbamylowana defensyna, która nie wykazuje właściwości cytotoksycznych, nie ma żadnego wpływu na błony komórkowe. Ludzka α -defensyna HNP-1 wykazuje podobne własności jak królicza α -defensyna związane z aktywnością obu badanych peptydów zależną od napięcia błon komórkowych patogenów i koncentracji samych peptydów.

Naukowcy sugerują istnienie kilku mechanizmów przenikania peptydów przez błonę cytoplazmatyczną. Są to:

- mechanizm klepek beczki (kumulacja peptydów na kształt klepek beczki – niepolarne części łączą się lipidami błony komórkowej, a wewnętrzna, hydrofilowa powierzchnia tworzy szczeliny),
- mechanizm łączących się kanałów (peptydy tworzą skupiska, a następnie wytwarzają szczeliny w błonie, wnikając do wnętrza komórki),
- mechanizm dywanowy (peptydy pokrywają szczelnie powierzchnię błony wywierając nacisk, w efekcie powodując załamanie się konstrukcji błony),
- robakowe zagięcie zewnętrznej ściany komórkowej (zewnętrzna powierzchnia błony zagina się do tyłu, na kształt wnętrza wału, formując szczelinę w regionie głównych grup dwuwarstwy lipidowej) (6, 34).

Mimo wielu badań naukowych mechanizm działania peptydów nie jest jeszcze całkowicie wyjaśniony (6). Niewykluczone jest istnienie innych, nie poznanych jeszcze mechanizmów działania przeciwdrobnoustrojowych peptydów (16). Prawdopodobnie formowanie porów w membranie patogenów nie jest jedynym mechanizmem ich niszczenia. Niektóre obserwacje sugerują, że peptydy przeciwdrobnoustrojowe mogą hamować syntezę błon komórkowych, kwasów nukleinowych, białek lub aktywność enzymów (6).

Dotychczas zidentyfikowano ponad 800 różnych peptydów zarówno w organizmach roślinnych, jak i zwierzęcych. Wszystkie poznane peptydy mają własności umożliwiające skuteczne niszczenie bakterii, otoczkowych wirusów oraz grzybów. Istnieje zatem realna szansa na wykorzystanie przeciwdrobnoustrojowych własności peptydów przy produkcji leków nowej generacji (7, 18).

Piśmiennictwo

1. Andreu D., Rivas L.: Animal antimicrobial peptides: An overview. *Biopolymers (Peptide Sciences)* 1998, 47, 415-433.
2. Araki K., Tachibana S., Uchiyama M., Nakajima T., Yasuhara T.: Isolation and structure of a new active peptide „Xenopsin” on the smooth muscle, especially on a strip of fundus from a rat stomach, from the skin of *Xenopus laevis*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1973, 21, 2801-2804.

3. Baker M. A., Maloy W. L., Zasloff M., Jacob L. S.: Anticancer efficacy of magainin 2 and analogue peptides. *Cancer Res.* 1993, 53, 3052-3057.
4. Boman H. G.: Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 1995, 13, 61-92.
5. Bradbury J.: Frog skin hope for HIV prevention. *Drug Discov. Today* 2005, 22, 1489-1490.
6. Brogden K. A.: Antimicrobial peptides: pore formation or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* 2005, 3, 238-250.
7. 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.* 2003, 22, 465-478.
8. Carraway R. E., Cochrane D. E., Ruane S. E.: Isolation, structures, and biologic activity of neurotensin-related peptides generated in extracts of avian tissue. *J. Biol. Chem.* 1987, 262, 15886-15889.
9. Cole A. M., Hong T., Boo L. M., Nguyen T., Zhao C., Bristol G., Zack J. A., Waring A. J., Yang O. O., Lehrer R. I.: Retrocyclin: A primate peptide that protects cells from infection by T- and M-tropic strains of HIV-1. *PNAS USA* 2002, 99, 1813-1818.
10. Daher K. A., Selsted M. E., Lehrer R. I.: Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins. *J. Virol.* 1986, 60, 1068-1074.
11. Diamond G., Jones D. E., Bevins C. J.: Airway epithelial cells are the site of expression of a mammalian antimicrobial peptide gene. *PNAS USA* 1993, 90, 4596-4600.
12. Ganz T., Lehrer R. I.: Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. *Mol. Med. Today* 1999, 5, 292-297.
13. Ganz T., Selsted M. E., Szklarek D., Harwig S. S. L., Daher K., Bainton D. F., Lehrer R. I.: Natural peptide antibiotics of human neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1985, 76, 1424-1435.
14. Gazit E., Boman A., Boman H. G., Shai Y.: Interaction of the mammalian antibacterial peptide cecropin P1 with phospholipid vesicles. *Biochemistry* 1995, 34, 11479-11488.
15. Gerritsen V. B.: When a frog swallows a fly. *Protein Spotlight* 2001, 7
16. Gordon Y. J., Romanowski E. G.: A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. *Curr. Eye Res.* 2005, 30, 505-515.
17. Habermann E.: Bee and wasp venoms. *Science* 1972, 177, 314-322.
18. Hancock R. E. W., Chapple D. S.: Peptide antibiotics. Minireview. *Antimicrob. Agents* 1999, 43, 1317-1323.
19. Kagan B. L., Selsted M. E., Ganz T., Lehrer R. I.: Antimicrobial defensin peptides form voltage-dependent ion-permeable channels in planar lipid bilayer membranes. *PNAS USA* 1990, 87, 210-214.
20. Kiss G., Michl H.: On the venomous skin secretion of the orange speckled frog *Bombina variegata*. *Toxicon* 1962, 1, 33-39.
21. Krause A., Neitz S., M.H.-J., Schulz A., Forssmann W.-G., Schulz-Knappe P., Adermann K.: LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 2000, 480, 147-150.
22. Leeuw de E., Lu W.: Human defensins: Turning defense into offense? *Infectious Disorders – Drug Targets* 2007, 7, 67-70.
23. Lehrer R. I., Ganz T.: Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defence. *Curr. Opin. Immunol.* 1999, 11, 23-27.
24. Lehrer R. I., Ganz T.: Cathelicidins: a family of endogenous antimicrobial peptides. *Curr. Opin. Hematol.* 2002, 9, 18-22.
25. Lorin C., Saidi H., Belaid A., Zairi A., Baleux F. H., Bèlec L., Hani K., Tangy F.: The antimicrobial peptide deramseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. *Virology* 2005, 334, 264-275.
26. Matsuzaki K.: Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachylepsins as archetypes. *Biochim. Biophys. Acta* 1999, 1462, 1-10.
27. Park C. H., Valore E. V., Waring A. J., Ganz T.: Hepsidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 7806-7810.
28. Ritonja A., Kopitar M., Jerala R., Turk V.: Primary structure of a new cysteine proteinase inhibitor from pig leucocytes. *FEBS Letters* 1989, 255, 211-214.
29. Selsted M. E., Harwig S. S. L., Ganz T., Schilling J. W., Lehrer R. I.: Primary structures of three human neutrophil defensins. *J. Clin. Invest.* 1985, 76, 1436-1439.
30. 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.
31. Soravia E., Martini G., Zasloff M.: Antimicrobial properties of peptides from *Xenopus* granular gland secretions. *FEBS Letters* 1988, 228, 337-340.
32. Tang Y. Q., Yuan J., Osapay G., Osapay K., Tran D., Miller C. J., Outlette A. J., Selsted M. E.: A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated alpha-defensin. *Science* 1999, 286, 489-502.
33. White S. H., Wimley W. C., Selsted M. E.: Structure, function, and membrane integration of defensins. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 1995, 5, 521-527.
34. Wiechula B. E., Tustanowski J. P., Martirosian G.: Peptydy antyrodnoustrojowe. *Wiad. Lek.* 2006, 59, 542-547.
35. Zasloff M.: Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: Isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor (vertebrate peptide antibiotics). *PNAS USA* 1987, 84, 5449-5453.

Adres autora: dr hab. Emilia Bagnicka, prof. IGHZ PAN, IGHZ PAN w Jastrzębcu, 05-552 Wólka Kosowska