

# Hayvanlarda Defensinler ve Özellikleri

Ezgi ŞABABOĞLU<sup>1</sup>, Hülya TÜRÜTOĞLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Burdur

Geliş Tarihi: 25-03-2016 Kabul Tarihi: 05-04-2016

Makale Kodu: 5000183049

## ÖZET

Antimikrobiyal peptidler, antimikrobiyal, kemotaktik ve immun düzenleyici aktivitelerinden dolayı doğal dirençte önemli rollere sahiptirler. Koruyucu veya terapötik bir ilaç olarak kullanılabileceklerinden dolayı yeni kuşak antibiyotikler olarak da adlandırılmaktadırlar. Memelilerde katelisinler ve defensinler olmak üzere iki önemli antimikrobiyal peptid grubu vardır. Bu iki grup arasında da en yaygın peptidler, beta-tabakalı, üç intramoleküler disülfid bağı içeren defensinlerdir. Bu derlemede hayvanlarda sentezlenen defensinlerin yapısal özellikleri, antimikrobiyal etkinlikleri, bağışıklıktaki rolleri ile gelecekte kullanım alanları üzerine bilgiler sunuldu.

**Anahtar Kelimeler:** *Defensin, doğal direnç, antimikrobiyal aktivite*

## DEFENSINS IN ANIMALS AND THEIR FEATURES

### ABSTRACT

Antimicrobial peptides play an important role in innate immune system due to their antimicrobial, chemotactic and regulatory activities. They are also called “new generation antibiotics” for their possible use in preventive and therapeutic medicine. In mammals, there are two main genetic categories for antimicrobial peptides: cathelicidins and defensins. Among them, defensins are the most common and they contain a beta-sheet structure containing three intra-molecular disulphide bonds. In this review the information on the animal defensins, in regard to their structural characteristics, antimicrobial activities, roles in immunity and use in the future, were presented.

**Keywords:** *Defensin, innate immunity, antimicrobial activity*



İletişim / Correspondence

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İstiklal Yerleşkesi, 15030 Burdur, Türkiye.



0248 213 20 67



ezgisababoglu@mehmetakif.edu.tr

## GİRİŞ

Antimikrobiyal peptidler (AMP) 100 aminoasitten daha az aminoasit içeren polipeptidlerdir (1). Memelilerde katelisinler ve defensinler olmak üzere iki önemli antimikrobiyal peptid grubu vardır (2). Bu iki grup arasında da en yaygın peptidler defensinlerdir (2, 3). Klasik memeli defensinleri yapısal olarak molekül ağırlığı 2-6 kDA arasında olan küçük katyonik ve sisteinden zengin peptidlerdir (2, 4). Üç intramoleküler disülfid bağı içerirler. Korunmuş 6 sistein rezidüleri arasındaki eşleşmeye bağlı olarak  $\alpha$  (alfa),  $\beta$  (beta) ve  $\theta$  (teta) olmak üzere 3 alt sınıfa ayrılmaktadırlar (2, 5).  $\alpha$ -defensinler,  $\beta$ -tabakalı dimer yapıda ve 29-35 amino asit uzunluğunda olup, sistein düzeni C1-C6, C2-C4 ve C3-C5 şeklindedir.  $\beta$ -tabakalı dimer yapıda ve 29-45 amino asit uzunluğunda olan  $\beta$ -defensinler C1-C5, C2-C4 ve C3-C6 sistein düzenine sahiptir (5, 6). Yapısal olarak  $\alpha$  ve  $\beta$  defensinlerden farklı bulunan (1, 2, 7)  $\theta$ -defensinler ise siklik yapıda, C1-C4, C2-C5 ve C3-C6 sistein düzenindedir ve 18 aminoasite sahip olmaları nedeniyle mini defensin olarak da adlandırılırlar (1, 2, 6).

### Defensin Sentezi

Defensinler yaygın olarak mukozal epitel yüzeylerinde, vücut sıvılarında ve yangı hücrelerinin granüllerinde bulunurlar (2, 8, 9). Çoğunlukla patojene maruz kalan doku ve organlardaki hücrelerin özelleşmiş lizozom benzeri sitoplazmik granülleri tarafından lokal olarak sentezlenir (8, 10). Bazı defensinlerin sentezi yapısaldır ve sürekli olarak sentezlenir, bazılarının (indüklenbilir defensinler) ise bakteri ve lipopolisakkarit (LPS) varlığında veya yangısal mediatörler aracılığıyla nükleer faktör kappa-B (NF- $\kappa$ B)'nin aktive edilmesine bağlı olarak üretildikleri belirtilmiştir (11, 12).

$\alpha$ -defensinler ilk olarak tavşan alveolar makrofajlarından izole edilmiş olup (13), daha sonraki yıllarda fare, rat, kobay, tavşan, insan, şempanze, babun, al yanaklı maymun (14) ve atlarda (15, 16) da bulunduğu rapor edilmiştir.  $\alpha$  ve  $\beta$  defensinler farklı dokularda üretilir.  $\alpha$ -defensinler temel olarak ince bağırsağın Paneth hücreleri ile lökositlerden üretilirken,  $\beta$ -defensinler omurgalılarda damaktan rektuma kadar sindirim sistemi boyunca, solunum yolunda, gözün korneasını kaplayan hücrelerde, beyin korteksinde, purkinje hücrelerinde ve deri gibi çeşitli dokuların yüzeyini kaplayan epitel hücrelerinde üretilir (9, 14, 17).  $\theta$ -defensinler ise sadece al yanaklı maymunların lökositleri ile kemik iliğinde identifiye edilmiştir ve 6 farklı  $\theta$ -defensin tanımlanmıştır (7, 18). Primat genomlarında  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\theta$  defensinler için kodlar mevcut olmasına karşın, sığır genomlarında sadece  $\beta$  defensinlerin kodları bulunmaktadır (19). Aynı şekilde kanatlı hayvanlarda da sadece gallinasin olarak bilinen  $\beta$ -defensinler bulunmaktadır (20).

### Sığırlarda Defensinlerin Sentezi

Sığır dokularında şimdiye kadar 20'den fazla  $\beta$ -defensin (bovine  $\beta$ -defensin; BBD) bulunmuştur (21). Trakeal antimikrobiyal peptid (TAP), sığırlarda saptanan ilk  $\beta$ -defensindir. Daha sonra lingual antimikrobiyal peptid (LAP), enterik beta defensin (EBD, DEFB1) tespit edilmiştir (22). Spesifik mikroflora varlığı nedeniyle çeşitli organların yüzeyini kaplayan epitellerde lokal  $\beta$ -defensin üretimi farklılık göstermektedir (22). Ayrıca bakteri varlığına ve türüne göre  $\beta$  defensin üretiminin değişkenlik gösterdiği de bildirilmiştir (21, 23, 24). Sığırlarda üretilen bazı  $\beta$ -defensinler ile salgılandıkları dokular Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Sığırlarda üretilen bazı  $\beta$ -defensinler ve salgılandıkları dokular.

Peptid	Salgılandığı doku	Kaynaklar
TAP	Solunum yolu mukozal membranı, alveolar makrofaj, ince bağırsağın distal kısmı, uterus-endometriyal hücreler, stromal hücreler, konjunktiva	3, 25, 26
LAP	Skvamöz dil epiteli, trakea, ince bağırsağın distal kısmı, damak, özefagus, mide, kolon, rektum, burun deliği, konjunktiva, deri, bağırsağın kolumnar epiteli, serebral koroid pleksus, serebral korteks, serebral purkinje hücreleri, submukozal bez, süt somatik hücreleri, plasenta	3, 26
EBD (DEFB1)	Alveolar makrofajlar, kolon, ince bağırsağın distal kısmı, süt somatik hücreleri	3
BNBD 1-3, 6-11	Nötrofil	21, 27, 28
BNBD 4	Kemik iliği, nötrofil, alveolar makrofaj, akciğer, trakea, dalak, kolon, ince bağırsağın distal kısmı, uterus	3, 27, 28, 29
BNBD 5	Nötrofil, alveolar makrofaj, uterus	3, 21, 25
BNBD 12-13	Kemik iliği, nötrofil, trakea, kolon, ince bağırsağın distal kısmı	28, 29
BBD132, BBD 129, BBD 128, BBD 127, BBD 126, BBD 125, BBD 125a	Epididimis, vas deferens	3, 30
BBD 115, BBD 118	Epididimis	30
BBD 116, BBD 117, BBD 124	Epididimis, dişi üreme sistemi	3, 30
BBD 119, BBD 142	Dişi ve erkek üreme sistemi	3, 30
BBD 120, BBD 122, BBD 122a, BBD 123	Testis, kaput epididimis ve dişi üreme sistemi	3, 30
BBD 121	Erkek üreme sistemi	30
bBD-1	Ürogenital sistem, böbrek, vajina, ovaryum, ovidukt, meme bezi, özefagus, kolon	27
DEFB 401, DEFB 405	Meme bezi	3, 27

BBD: Sığır beta-defensin, bBD1: Sığır beta-defensin, BNBD: Sığır nötrofil beta-defensin, DEFB: Beta-defensin, EBD (DEFB1): Enterik beta defensin, LAP: Lingual antimikrobiyal peptid, TAP: Trakeal antimikrobiyal peptid.

### Koyun ve Keçilerde Defensinlerin Sentezi

Koyunlarda tespit edilen  $\beta$ -defensinler koyun beta-defensin-1 ve -2 (sheep beta-defensin-1/-2; SBD-1/-2)'dir (11, 31, 32). SBD-1 temel olarak solunum, SBD-2 ise sindirim sisteminden salgılanmakta ve üretimleri gelişime bağlı olarak düzenlenmektedir

(11). Koyunlarda SBD-1 üretiminin bakteriyel pnömoni sırasında azaldığı, parainfluenza virus tip 3 (PI-3) enfeksiyonu sırasında ise arttığı saptanmıştır (11, 32).

Keçilerde de keçi  $\beta$ -defensin-1 ve -2 (goat beta-defensin-1/-2; GBD-1/-2) olmak üzere iki  $\beta$ -defensin türü belirlenmiştir (3, 33).

### **Kanatlı Hayvanlarda Defensin Sentezi**

Gallinasin olarak da adlandırılan kanatlı  $\beta$ -defensinlerini (avian beta-defensin, Av $\beta$ D) kodlayan 14 gen sınıfı tanımlanmış ve bu defensinlerin lökosit, heterofil, kemik iliği, beyin, yumurta sarısı, deri, solunum, sindirim ve ürogenital sistem organlarından sentezlendiği ortaya konulmuştur (34, 35). Tavuk, ördek, kaz, bıldırcın gibi birçok kanatlıda 40'tan fazla Av $\beta$ D izoformu saptanmıştır (36). Kanatlı heterofilleri oksidatif mekanizmaya sahip olmadığı için Av $\beta$ D'ler doğal immun yanıtta çok önemli role sahiptir. Heterofil peptidler arasında tavuklarda iki heterofil peptid (chicken heterophil peptides; CHP-1 ve -2) ile üç gallinasin (Gal-1, -2 ve Gal-1 $\alpha$ ), hindilerde üç heterofil peptid (turkey heterophil peptides; THP-1,-2 ve -3) ve deve kuşlarında ostricasin (ostrich beta-defensin-1, OSP-1) sayılabilir (3, 6).

Tavuklarda Av $\beta$ D'lerin *in vivo* folliküller gelişimde, döllenmede ve yeni gelişen yumurtaları mikrobiyal enfeksiyonlardan korumada önemli rol oynadıkları ifade edilmiştir (20). Tavuklarda yumurta kabuğu, vitellin membranı, yumurta beyazı gibi farklı kompartimanlarında bulunan doğal AMP'ler embriyoyu gelişim aşamasında koruyup patojen-free yumurta üretimine katkıda bulunur (37). Yapılan bir araştırmada (38) yumurta beyazında  $\beta$ -defensinle ilişkili olduğu belirlenen ve gallin olarak adlandırılan yeni bir AMP tanımlanmış ve rekombinant olarak üretilen gallinin *Escherichia coli*'nin üremesini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca kanatlı defensinlerinin sperm olgunlaşmasında ve testis ve özellikle epididimis gibi erkek üreme organlarını geçici veya kalıcı infertiliteye yol açan enfeksiyonlardan korumada önemli rol oynadığını açıklanmıştır (20).

### **Diğer Hayvanlarda Defensin Sentezi**

Defensin sentezi at, köpek, balık, fare, rat, çinçilla, domuz gibi hayvanlarda da tes-

pit edilmiştir (3, 13, 39, 40, 41, 42). At  $\beta$ -defensin-1'i (equine beta-defensin-1; eBD-1) karaciğer, kalp, akciğer, dalak, böbrek ve gastrointestinal sisteminde saptanmış ancak bu dokulardaki aktiviteleri konusunda henüz bilgi olmadığına dikkat çekilmiştir (16, 43). Yine atların reproduktif sisteminde 13 farklı eBD tespit edildiği bildirilmiştir (40). Ayrıca atların bağırsağında sentezlendiği belirlenen bir  $\alpha$ -defensinin (DEFA1) antibakteriyel etkili olduğu ortaya konulmuştur (15, 16). Köpeklerde ise bugüne kadar 43 farklı  $\beta$ -defensin (canine beta-defensin; cBD) belirlendiği bildirilmiştir (44)

### **Antimikrobiyal Aktiviteleri**

Defensinler antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiparaziter aktiviteye sahiptirler (2). Mikrobiyal invazyondan hemen sonra aktive olarak etkeni doğrudan öldürebilir veya düzenleyici aktiviteleri ile doğal immun yanıtta katkıda bulunurlar (2, 3). Aktimikrobiyal aktivite mekanizmaları tüm defensin tiplerinde benzerdir. Mikroorganizmaların anyonik olan membran komponentleriyle (LPS, lipoteikoik asit, teikoik asit, viral glikoprotein, mantar hücresine ait kitin, plasma membranı ve aktin filamentleri) etkileşime girerek hücre membranına zarar verir ve membranda por oluşturarak membran permeabilitesini artırırlar (10, 45, 46). Eksternal ve internal membrana penetre olarak, nükleik asit ile protein sentezini inhibe eder ve hücre ölümüne neden olurlar (22). Son zamanlarda defensinlerin yeni bir öldürücü mekanizması tanımlanmıştır. Bu mekanizmaya göre defensinler lipid II gibi bazı prekürsör maddelerle etkileşime girerek bakteriyel hücre duvarı sentezini önledikleri ve böylece bakterinin ölümüne neden oldukları açıklanmıştır (47).

Defensinlerin mikroorganizmalar üzerinde etki gösterebilmeleri için sahip oldukları

elektriksel yükün önemli olduğu (28), ancak belirleyici tek faktör olmadığı (37, 48, 49) ileri sürülmüştür.  $\beta$ -defensinlerin elektriksel yükü,  $\alpha$ -defensinlerden daha fazla olmasına rağmen antiviral aktivitelerinin daha az olduğu ve zarfsızlara oranla zarflı virusların nötrofiller tarafından salgılanan  $\alpha$ -defensinlere daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (49). Defensin konsantrasyonu ile biyolojik aktivite arasında yakın bir ilişki olduğuna dikkat çekilmiştir (3). 1-10  $\mu\text{g/ml}$  arasında değişen konsantrasyonlarda Gram negatif, Gram pozitif bakterilere ve mantarlara karşı geniş antimikrobiyal aktivite gösterdikleri, 25  $\mu\text{g/ml}$ 'de DNA sentezini stimüle ettikleri ve daha yüksek konsantrasyonlarda ( $\geq 100 \mu\text{g/ml}$ ) ise keratinoz gelişimini uyardıkları ve bazı tümör hücrelerinin lizisine yol açtıkları bildirilmiştir (3). Ayrıca antibakteriyel etkilerini en kuvvetli şekilde hipotonik ortamda gösterebilen defensinlerin, antiviral aktivitelerinin tuz konsantrasyonunun normal olduğu hücre kültürlerinde devam ettiği de belirlenmiştir (49).

Defensinlerin viral lipid zarfı doğrudan parçalamada yetersiz olduğu belirlenmiş ve bunun sebebi bakteriyel membranda bulunmayan kolestrol ve nötral lipidlerin viral zarfta yoğun olarak bulunmasına bağlanmıştır (49). Defensinlerin virusların üremesini başka mekanizmaları (virusları hücre dışında durdurma, viral kılıfın oluşmasını engelleme veya nükleusa ulaşan viral genomu bloke etme gibi) da kullanarak engelledikleri düşünülmüştür (3, 36, 49). Ayrıca defensinleri de içeren birçok AMP'nin konakçı savunma yanıtını lektinler gibi hareket ederek düzenleyebilecekleri de ileri sürülmüştür (49).

Defensinlerin antibiyotiklere dirençli olanlar da dahil olmak üzere birçok Gram pozitif ve negatif birçok bakteriye (*Salmonella* sp., *Campylobacter* sp., *E. coli*, *Mycobacterium paratuberculosis*, *Mannheimia haemolytica*, *Staphylococcus aureus* vs.)

karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği araştırmalar sonucunda rapor edilmiştir (3, 6, 16, 19, 41, 47, 50, 51). İnsan bağışıklık yetmezlik virusu, influenza A virusu, sitomegalovirusu, herpes simpleks virus 1 ve 2, veziküler stomatit virusu, adenovirus, insan papilloma virusu (52), parainfluenza virus tip 3 (11), rana grylio virusu, rhabdovirus (39) ve ördek hepatitis virusuna (36) karşı antiviral, *Candida* sp. ve *Aspergillus fumigatus*'a karşı antifungal (6, 41), *Leishmania* sp., *Plasmodium berghei* (53), *Trypanosome brucei* (45), *Cryptosporidium parvum* (3) ve *Giardia lamblia* (22)'ya karşı antiparaziter aktiviteleri de ortaya konulmuştur.

### Defensinlerin Bağışıklıktaki Roller

Büyük oranda epitelyal hücreler ve bazen de lökositler tarafından salgılanan defensinlerin, kemotaktik ve immun düzenleyici aktivitelerinden dolayı doğal dirençte önemli rol oynadıkları ve doğal ile kazanılmış bağışıklık arasında bir köprü görevi yürüttükleri açıklanmıştır (2, 4, 22). Defensinlerin, hücre membranında bulunan reseptörlerle etkileşime girdikleri (3, 22), sitokin salınımında (22) ve antijen sunumunda (3) rol oynadıkları ileri sürülmüştür. İlâveten immun sistem hücreleri üzerinde kemotaktik aktiviteye sahip oldukları, lenfosit proliferasyonunu sağladıkları ve mast hücre degranülasyonunu destekledikleri belirtilmiş, bu fonksiyonlarının yanı sıra defensinlerin endotoksin ve tümörlere karşı da aktivite gösterdikleri açıklanmıştır (3). Ayrıca  $\beta$ -defensinlerin yara iyileşmesi sırasında epitelyal çoğalma ve farklılaşmanın bir parçası olabilecekleri gibi, anjiyogenezisi sağlayabilecekleri de ileri sürülmüştür (3, 22). Glikokortikoidlerin üretimini ve adrenal hücrelerde adrenokortikotropik hormonunun (ACTH) etkisini ATCH reseptörleriyle etkileşime girerek önledikleri de rapor edilmiştir (1, 22). Me-

meli fagositlerinin granüllerinde bulunması nedeniyle defensinlerin konakçı için olası sitotoksitelerini en aza indirmek zorunda oldukları düşünülmekte ve bu nedenle de selektif bir toksisiteye sahip olabilecekleri ileri sürülmektedir (54).

Ökaryotik hücrelerin sahip oldukları yüksek kolesterol düzeyi ve düşük anyonik yük nedeniyle AMP'lerin hedefinden kurtulabilecekleri öne sürülmüştür (10). Nötrofillerin granüllerinde yüksek konsantrasyonda bulunan  $\alpha$ -defensinlerin bakterisidal etkili oldukları, ancak yangı bölgelerinde degradasyonla salındıkları için düşük konsantrasyonda bulunmaları nedeniyle öncelikle immunomodülatör görevi yaptıkları açıklanmıştır (12). Özellikle *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu gibi oksijenin azaldığı durumlarda makrofajlar tarafından üretilen defensin miktarının arttığı bildirilmiştir (19). Çeşitli stres koşullarına maruz kalan sığırlarda, endojen kortikosteroid ve katekolamin düzeyinin yükseldiği ve bu durumda NF- $\kappa$ B sinyalinin inhibe olmasına bağlı olarak epitelial defensinlerin azaldığı ve sonuçta solunum sistemi hastalıklarına karşı duyarlılığın arttığı belirtilmiştir (55). *S. aureus*'un neden olduğu mastitis olgularında da NF- $\kappa$ B aktivasyonunun bozulduğu saptanmıştır (56).

Antimikrobiyal peptidlerin, patojen etkeni canlı vücudunda direk olarak parçalaması ve bağışıklık olaylarını düzenlemesi veya arttırması gibi konakçı savunmasında sayısız görevleri olduğu için, hastalıklara karşı korunmada antijenle birlikte aşı adjuvantı olarak kullanılabilmesi açıklanmıştır (25, 45). Nitekim seçilen bazı kemokinler veya  $\beta$  defensinlerin idiotipik lenfoma antijenlerine bağlanması sonucu oldukça güçlü tümör aşuları geliştirilmiştir (4). Ayrıca sepsis tedavisinde  $\theta$ -defensinlerin immun adjuvant olarak kullanılabilmesi de ileri sürülmüştür (47).

### Defensin Aktivitesinin Engellenmesi

Defensin aktivitesinin ortamdaki tuz (NaCl, Ca ve Mg) ve serum proteini oranına göre değişebildiği açıklanmıştır (3, 21).  $\theta$ -defensinlerden farklı olarak, yüksek orandaki tuz ve plazma proteinleri  $\alpha$  ve  $\beta$ -defensinlerin birçok bakteri ve mantarlara karşı antimikrobiyal aktivitesini önlemektedir (3, 21). Sütün katyonik AMP'leri inhibe edebileceği (57), ksilitol gibi ozmotik maddelerin, ortamda tuz yüksek konsantrasyonda bulunsa dahi, defensin aktivitesini arttırabileceği (11) ileri sürülmüştür. Defensin aktivitesini engellemede stafilokinaz gibi bazı bakteriyel enzimler ile proteinazların varlığı dış membranlardaki negatif yükün azalması, membran akışkanlığındaki değişimler ve bazı bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm ile AMP'leri bağlayan moleküllerin etkili olabileceği açıklanmıştır (58, 59).

### Defensin Eksikliği

Spesifik granül yetmezliğinde (specific granule deficiency: miyelosit granül proteinlerinin azlığı veya yokluğu) defensin sentezi eksikliğin dikkati çektiği, konjenital defensin eksikliği olan kişilerin bakteriler tarafından oluşturulan hastalıklara karşı oldukça duyarlı olduğu ve sonradan gelişen defensin eksikliğin ise kronik myeloid lösemi hastalarında görüldüğü bildirilmiştir (8).

### Defensinlerin Olası Kullanım Alanları

Antimikrobiyal peptidler etkilerini hücrenin DNA, protein veya hücre duvarı sentezi gibi spesifik faaliyetlerinde göstermektedir. AMP'ler hücre membranı ile ilk temastan sonraki saniyeler içinde patojeni öldürebilir (10). Bu nedenle yeni nesil antibiyotikler olarak da tanımlanan AMP'ler üzerine yapılan çalışmalar öncelikle antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların kontrolü üzerin-

de yoğunlaşmıştır (3, 14). Sepsis olgularında geniş antimikrobiyal özellikleri nedeniyle terapötik moleküller olarak defensinlerden yararlanılabileceği ön görülerek, tuza dirençli defensinler ile bunların analogları üzerine çalışmalar yapılmaktadır (47). Sentetik olarak hazırlanmış konakçı savunma peptidlerinin (host defense peptide, HDP) dışarıdan antimikrobiyal madde, aşı adjuvantı veya infertiliteye karşı bir ilaç olarak kullanılabilmesi de düşünülmektedir (52).

Doğal AMP'ler kimyasal maddelere, proteaz gibi enzimlere, pH değişikliğine oldukça duyarlıdır. Dayanıklılıklarını arttırmak için etkili bir ilaç taşıma aracı olarak liposom kullanılabilmesi ve böylece olası toksisitenin de azaltılabileceği ifade edilmiştir (58). Non-peptid antibiyotiklerle birlikte AMP'lerin sinerjik etkili olduğu ve kullanılan antibiyotiklerin dozu ile nefrotoksik etkilerini azaltılabileceği ileri sürülmüştür (45). Birçok şirket ticari AMP ilaçları geliştirmek için girişimde bulunmakta ve birçok AMP de klinik çalışmalarda test edilmektedir. Bir firma (Novozymes) tarafından geliştirilen ve saprofitik mantardan (*Pseudoplectania nigrella*) izole edilen bir defensinin (Plectasin), *in vivo* koşullarda endokarditise yol açan metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA)'a ve pnömoni ile meningitis olgularında da *Streptococcus pneumoniae*'ye karşı oldukça etkili bulunduğu açıklanmıştır (45). Çalışmaları prelinik aşamada olan bu preparatın ilk yeni nesil AMP grubu bir antibiyotik olabileceği ileri sürülmüştür (58).

Defensinlerin, mukoza ve kan hücreleri gibi hayvan dokularından biyokimyasal ve immünolojik teknikler kullanılarak ekstrakte edilebileceği, ancak hayvanlarda çok azının saptanmış olması ve ekstraksiyon maliyetlerinin de oldukça yüksek bulunması nedeniyle doğal defensinlerin çiftlik veya kümes

hayvanlarında kullanımının sınırlı olabileceği ileri sürülmüştür (28). Günümüzde moleküler biyoloji teknikleri kullanılarak, defensinlerin *in vitro* koşullarda (28) veya transjenik canlılarda (28, 60) üretilmesi denmektedir. Defensinlerin moleküler ağırlığı sadece 3-5 kD olduğundan, günümüzde üretimlerini arttırmak amacıyla gen füzyon vektörleri kullanılmaktadır (28). Yeni genetik manüplasyonlar ile üretilen AMP'lerin diyetle antimikrobiyal tedavi için katıllarına olanak sağlayacağı ve *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi zoonoz bakterilerin kolonizasyonlarını önlemede kullanılabilmesi ileri sürülmüştür (34, 52).

## SONUÇ

Antimikrobiyal peptidler konusunda elde edilecek bilgiler, gelecekte AMP'lerin klinik uygulamalar veya tedavide daha fazla yer almasına olanak sağlayacaktır. Ancak tedavide ekzojen olarak bu peptidlerin kullanılmasında hala bazı sorunlar yaşanmaktadır. Bu sorunlar arasında; uygulama yöntemlerinin henüz netleşmemiş olması, yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında toksik etkili olmaları ve olası toksisiteden korunma yollarının bilinmiyor olması, düşük spesifiteye sahip olmaları ve üretilmelerinin pahalı olması gibi nedenler sıralanabilir.

Sentetik olarak üretildikleri veya değişikliğe uğradıklarında AMP'lerin özelliklerinde değişiklik olduğu, hatta çok küçük değişikliklerde bile etkinliklerini kolayca kaybettikleri belirlenmiştir. AMP'lerde şekillenecek değişikliklerin nasıl bir sonuç doğuracağını tahmin etmek güçtür. Bu nedenle yapısal modifikasyonların AMP'lerin fizyo-kimyasal özellikleri üzerindeki etkiler ile antimikrobiyal spektrumları ve aktivitelerinin anlaşılması için yeni araştırmalara gereksinim vardır.

## KAYNAKLAR

1. Ganz T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol.* 2003; 3: 710-721. DOI: 10.1038/nri1180.
2. Hazlett L, Wu M. Defensins in innate immunity. *Cell Tissue Res.* 2011; 343: 175-188. DOI: 10.1007/s00441-010-1022-4.
3. Bagnicka E, Strzałkowska N, Józwiak A, Krzyżewski J, Horbańczuk J, Zwierzchowski L. Expression and polymorphism of defensins in farm animals. *Acta Biochim Pol.* 2010; 57: 487-497.
4. Yang D, Biragyn A, Kwak LW, Oppenheim JJ. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Microbiol.* 2002; 23: 291-296. PMID: 12072367.
5. Lehrer RI, Ganz T. Defensins of vertebrate animals. *Curr Opin Immunol.* 2002; 14: 96-102. PMID: 11790538.
6. Sugiarto H, Yu PL. Avian antimicrobial peptides: the defense role of  $\beta$ -defensins. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004; 323: 721-727. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.08.162.
7. Nguyen TX, Cole AM, Lehrer RI. Evolution of primate  $\theta$ -defensins: a serpentine path to a sweet tooth. *Peptides.* 2003; 24: 1647-1654. DOI: 10.1016/j.peptides.2003.07.023.
8. Ganz T, Lehrer RI. Defensins. *Pharmacol Ther.* 1995; 66: 191-205. DOI: 10.1016/0163-7258(94)00076-F.
9. Stolzenberg ED, Anderson GM, Ackermann MR, Whitlock RH, Zasloff M. Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94: 8686-8690. PMID: PMC23078.
10. Bahar AA, Ren D. Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals.* 2013; 6: 1543-1575. DOI:10.3390/ph6121543.
11. Ackermann MR, Gallup JM, Zabner J, Evans RB, Brockus CW, Meyerholz DK, Grubor B, Brogden KA. Differential expression of sheep beta-defensin-1 and -2 and interleukin 8 during acute *Mannheimia haemolytica* pneumonia. *Microb Pathog.* 2004; 37: 21-27. DOI: 10.1016/j.micpath.2004.04.003.
12. Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19: 491-511. DOI: 10.1128/CMR.00056-05.
13. Kaiser V, Diamond G. Expression of mammalian defensin genes. *J Leukoc Biol.* 2000; 68: 779-784. PMID: 11129644.
14. Patil A, Hughes AL, Zhang G. Rapid evolution and diversification of mammalian  $\alpha$ -defensins as revealed by comparative analysis of rodent and primate genes. *Physiol Genomics.* 2004; 20: 1-11. PMID: 15494476.
15. Bruhn O, Regenhard P, Michalek M, Paul S, Gelhaus C, Jung S, Thaller G, Podschun R, Leippe M, Grotzinger J, Kalm E. A novel horse  $\alpha$ -defensin: gene transcription, recombinant expression and characterization of the structure and function. *Biochem J.* 2007; 407: 267-276. DOI: 10.1042/BJ20070747.
16. Bruhn O, Grötzing J, Cascorbi I, Jung S. Antimicrobial peptides and proteins of the horse - insights into a well-armed organism. *BMC Vet Res.* 2011; 42: 98.
17. Luenser K, Ludwig A. Variability and evolution of bovine  $\beta$ -defensin genes. *Genes Immun.* 2005; 6: 115-122. PMID: 15674371.
18. Münk C, Wei G, Yang OO, Waring AJ, Wang W, Hong T, Lehrer RI, Landau NR, Cole AM. The  $\theta$ -defensin, retrocyclin, inhibits HIV-1 entry. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2003; 19: 875-881. PMID: 14585219.
19. Meade KG, Cormican P, Narciandi F, Lloyd A, O'Farrelly C. Bovine  $\beta$ -defensin gene family: opportunities to improve animal



- health? *Physiol Genomics*. 2014; 46: 17-28. PMID: 24220329.
20. Michailidis G, Argiriou A, Kalivas A, Avdi M, Pappa V. Expression of avian  $\beta$ -defensins in the chicken (*Gallus domesticus*) reproductive tract. *Archiva Zootechnica*. 2008; 11: 33-40.
21. Kościuczuk EM, Lisowski P, Jarczak J, Krzyżewski J, Zwierzchowski L, Bagnicka E. Expression patterns of  $\beta$ -defensin and cathelicidin genes in parenchyma of bovine mammary gland infected with coagulase-positive or coagulase-negative *Staphylococci*. *BMC Vet Res*. 2014; 10: 246. DOI: 10.1186/s12917-014-0246-z.
22. Wojdak-Maksymiec K, Strabel T, Szyda J, Mikolajczyk K. Clinical mastitis and combined defensin polymorphism in dairy cattle. *J Anim Vet Adv*. 2012; 11: 2230-2237. DOI: 10.3923/javaa.2012.2230.2237.
23. Swanson K, Gorodetsky S, Good L, Davis S, Musgrave D, Stelwagen K, Farr V, Molenaar A. Expression of a  $\beta$ -defensin mRNA, lingual antimicrobial peptide, in bovine mammary epithelial tissue is induced by mastitis. *Infect Immun*. 2004; 72: 7311-7314. DOI: 10.1128/IAI.72.12.7311-7314.2004.
24. Whelehan CJ, Meade KG, Eckersall PD, Young FJ, O'Farrelly C. Experimental *Staphylococcus aureus* infection of the mammary gland induces region-specific changes in innate immune gene expression. *Vet Immunol Immunopathol*. 2011; 140: 181-189. DOI: 10.1016/j.vetimm.2010.11.013.
25. Brogden KA, Ackermann M, McCray PB Jr, Tack BF. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. *Int J Antimicrob Agents*. 2003; 22: 465-478. DOI: 10.1016/S0924-8579(03)00180-8.
26. McDermott AM. Defensins and other antimicrobial peptides at the ocular surface. *Ocul Surf*. 2004; 2: 229-247. PMID: 17216098.
27. Aono S, Li C, Zhang G, Kemppainen RJ, Gard J, Lu W, Hu X, Schwartz DD, Morrison EE, Dykstra C, Shi J. Molecular and functional characterization of bovine  $\beta$ -defensin-1. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006; 113: 181-190. DOI: 10.1016/j.vetimm.2006.05.002.
28. Wu J, Wang C, He H, Hu G, Yang H, Gao Y, Zhong J. Molecular analysis and recombinant expression of bovine neutrophil  $\beta$ -defensin 12 and its antimicrobial activity. *Mol Biol Rep*. 2011; 38: 429-436. DOI: 10.1007/s11033-010-0125-z.
29. Yount NY, Yuan J, Tarver A, Castro T, Diamond G, Tran PA, Levy JN, McCulloughi C, Cullori JS, Bevins CL, Selsted ME. Cloning and expression of bovine neutrophil  $\beta$ -defensins. Biosynthetic profile during neutrophilic maturation and localization of mature peptide to novel cytoplasmic dense granules. *J Biol Chem*. 1999; 274: 26249-26258. DOI: 10.1074/jbc.274.37.26249.
30. Narciandi F, Lloyd AT, Chapwanya A, O'Farrelly C, Meade KG. Reproductive tissue-specific expression profiling and genetic variation across a 19 gene bovine  $\beta$ -defensin cluster. *Immunogenetics*. 2011; 63: 641-651. DOI: 10.1007/s00251-011-0551-7.
31. Huttner KM, Brezinski-Caliguri DJ, Mahoney MM, Diamond G. Antimicrobial peptide expression is developmentally regulated in the ovine gastrointestinal tract. *J Nutr*. 1998; 128: 297S-299S.
32. Luenser K, Fickel J, Ludwig A. Evolution of caprine and ovine  $\beta$ -defensin genes. *Immunogenetics*. 2005; 57: 487-498. PMID: 16133452.
33. Zhao C, Nguyen T, Liu L, Shamova

- O, Brogden K, Lehrer RI. Differential expression of caprine  $\beta$ -defensins in digestive and respiratory tissues. *Infect Immun.* 1999; 67: 6221-6224.
34. Meade KG, Higgs R, Lloyd AT, Giles S, O'Farrelly C. Differential antimicrobial peptide gene expression patterns during early chicken embryological development. *Dev Comp Immunol.* 2009; 33: 516-524. DOI: 10.1016/j.dci.2008.10.003.
35. van Dijk A, Veldhuizen EJA, Haagsman HP. Avian defensins. *Vet Immunol Immunopathol.* 2008; 124: 1-18. DOI: 10.1016/j.vetimm.2007.12.006.
36. Ma D, Lin L, Zhang K, Han Z, Shao Y, Liu X, Liu S. Three novel *Anas platyrhynchos* avian  $\beta$ -defensins, upregulated by duck hepatitis virus, with antibacterial and antiviral activities. *Mol Immunol.* 2011; 49: 84-96. DOI: 10.1016/j.molimm.2011.07.019.
37. Hervé-Grépinet V, Réhault-Godbert S, Labas V, Magallon T, Derache C, Lavergne M, Gautron J, Lalmanach AC, Nys Y. Purification and characterization of avian  $\beta$ -defensin 11, an antimicrobial peptide of the hen egg. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010; 54: 4401-4409. DOI: 10.1128/AAC.00204-10.
38. Gong D, Wilson PW, Bain MM, McDade K, Kalina J, Hervé-Grépinet V, Nys Y, Dunn IC. Gallin; an antimicrobial peptide member of a new avian defensin family, the ovodefensins, has been subject to recent gene duplication. *BMC Immunol.* 2010; 11: 1-15. PMID: 20226050.
39. Jin JY, Zhou L, Wang Y, Li Z, Zhao JG, Zhang QY, Gui JF. Antibacterial and antiviral roles of a fish  $\beta$ -defensin expressed both in pituitary and testis. *PLoS ONE.* 2010; 5: e12883. DOI: 10.1371/journal.pone.0012883.
40. Johnson GP, Lloyd AT, O'Farrelly C, Meade KG, Fair S. Comparative genomic identification and expression profiling of a novel  $\beta$ -defensin gene cluster in the equine reproductive tract. *Reprod Fertil Dev.* 2015. DOI: 10.1071/RD14345.
41. 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. DOI: 10.1111/j.1939-1676.2007.0038.x.
42. Maxwell AI, Morrison GM, Dorin JR. Rapid sequence divergence in mammalian  $\beta$ -defensins by adaptive evolution. *Mol Immunol.* 2003; 40: 413-421. DOI: 10.1016/S0161-5890(03)00160-3.
43. Davis EG, Sang Y, Blecha F. Equine  $\beta$ -defensin-1: full-length cDNA sequence and tissue expression. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004; 99: 127-132. DOI: 10.1016/j.vetimm.2003.12.010.
44. van Damme CM, Willemse T, van Dijk A, Haagsman HP, Veldhuizen EJ. Altered cutaneous expression of  $\beta$ -defensins in dogs with atopic dermatitis. *Mol Immunol.* 2009; 46: 2449-2455. DOI: 10.1016/j.molimm.2009.05.028.
45. Hussain S, Mukhopadhyay CS, Arora JS. Applications and implications of mammalian antimicrobial peptides- a review. *Agri Review.* 2014; 35: 299-306.
46. Yasin B, Wang W, Pang M, Cheshenko N, Hong T, Waring AJ, Herold BC, Wagar EA, Lehrer RI.  $\theta$ -defensins protect cells from infection by herpes simplex virus by inhibiting viral adhesion and entry. *J Virol.* 2004; 78: 5147-5156. DOI: 10.1128/JVI.78.10.5147-5156.2004.
47. Xie GH, Chen QX, Cheng BL, Fang XM. Defensins and sepsis. *Biomed Res Int.* 2014. DOI: 10.1155/2014/180109.

48. Ma D, Zhang K, Zhang M, Xin S, Liu X, Han Z, Shao Y, Liu S. Identification, expression and activity analyses of five novel duck beta-defensins. PLoS ONE. 2012; 7: e47743. DOI: 10.1016/j.cimid.2012.01.006.
49. Wiens ME, Wilson SS, Lucero CM, Smith JG. Defensins and viral infection: dispelling common misconceptions. PLoS Pathog. 2014; 10: e1004186. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004186.
50. Erles K, Brownlie J. Expression of  $\beta$ -defensins in the canine respiratory tract and antimicrobial activity against *Bordetella bronchiseptica*. Vet Immunol Immunopathol. 2010; 135: 12-19. DOI: 10.1016/j.vetimm.2009.10.025.
51. Leonard BC, Marks SL, Outerbridge CA, Affolter VK, Kananurak A, Young A, Moore PF, Bannasch DL, Bevins CL. Activity, expression and genetic variation of canine  $\beta$ -defensin 103: a multifunctional antimicrobial peptide in the skin of domestic dogs. J Innate Immun. 2012; 4: 248-259. DOI: 10.1159/000334566.
52. Zhang G, Sunkara LT. Avian antimicrobial host defense peptides: from biology to therapeutic applications. Pharmaceuticals. 2014; 7: 220-247. DOI: 10.3390/ph7030220.
53. Mor A. Multifunctional host defense peptides: antiparasitic activities. FEBS J. 2009; 276: 6474-6482. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07358.x.
54. Yeaman MR, Yount NY. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. Pharmacol Rev. 2003; 55: 27-55. DOI: 10.1124/pr.55.1.2.
55. Mitchell GB, Al-Haddawi MH, Clark ME, Beveridge JD, Caswell JL. Effect of corticosteroids and neuropeptides on the expression of defensins in bovine tracheal epithelial cells. Infect Immun. 2007; 75: 1325-1334. DOI: 10.1128/IAI.00686-06.
56. Schukken YH, Günther J, Fitzpatrick J, Fontaine MC, Goetze L, Holst O, Leigh J, Petzl W, Schuberth HJ, Sipka A, Smith DGE, Quesnelld R, Watts J, Yancey R, Zerbe H, Gurjar A, Zadoks RN, Seyfert HM, members of the Pfizer mastitis research consortium. Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. Vet Immunol Immunopathol. 2011; 144: 270-289. DOI: 10.1016/j.vetimm.2011.08.022.
57. Rainard P, Riollet C. Innate immunity of the bovine mammary gland. Vet Res. 2006; 37: 369-400. DOI: 10.1051/vetres:2006007.
58. Cézard C, Silva-Pires V, Mullié C, Sonnet P. Antibacterial peptides: A review. In: Méndez-Vilas A, editor(s). Science Against Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. Microbiology Series No 3, Vol 1, p: 926-937, Formatex, Spain, 2011.
59. Oviedo-Boyso J, Valdes-Alarcón JJ, Cajero-Juárez M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE, Bravo-Patiño A, Baizabal-Aguirre VM. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. J Infect. 2007; 54: 399-409. DOI: 10.1016/j.jinf.2006.06.010.
60. Yarus S, Rosen JM, Cole AM, Diamond G. Production of active bovine tracheal antimicrobial peptide in milk of transgenic mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1996; 93: 14118-14121.