

Antimikrobiyel Peptidler#

Saadet Gürpınar¹*, Şükrü Kırkan²

¹ADÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji ABD, Aydın

²ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Aydın

*Sorumlu Yazar: Saadet Gürpınar

ADÜ Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji ABD, Aydın

e-posta: saadetgurpinar@hotmail.com, Tel: 0 543 4654048

Geliş Tarihi / Received: 22.04.2010

ÖZET

Antimikrobiyel peptidler, bakteri, mantar, bitki, vertebralılar ve vertabrasızlardan izole edilen, birçok organizmadaki doğal savunma sistemlerinin önemli bileşenleridir. İnsanlarda bulunan proteinler ve peptidlerin birçoğu, doğal bağışıklıkta önemli rol oynayan antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Katelisin ve defensinler, epidermal antimikrobiyel peptidlerin temel gruplarını oluştururlar. İn vivo ortamda son derece aktif olan antimikrobiyel peptidlerin in vitro ortamda da bakteriyel infeksiyonların tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Bakteri, antimikrobiyel, peptid, doğal bağışıklık

ABSTRACT

ANTIMICROBIAL PEPTIDES

Antimicrobial peptides, which have been isolated from many bacteria, fungi, plants, invertebrates and vertebrates, are important components of the naturel defenses of most living organisms. A wide variety of human proteins and peptides also have antimicrobial activity and play important roles in innate immunity. Cathelicidins and defensins are major groups of epidermal antimicrobial peptides. The highly active nature of antimicrobial peptides in vitro suggests these peptides might be effective in treating bacterial infections in vivo.

Key words: Bacteria, antimicrobial, peptides, innate immunity

Giriş

Antimikrobiyel aktivite, 19. yüzyılın sonlarında, kan, lökosit ve limpatik dokularda tanımlanmıştır. 1920 ve 1950 yılları arasında ise, birçok antimikrobiyel bileşen bu dokulardan izole edilmiştir. Bu izolatlar, Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler için ayırıcı edicilik göstermektedir (Brodgen, 2005). Farklı sınıftaki birçok antibiyotiğe karşı bakteriyel direnç, klinik problemlerin temelini oluşturmaktadır. Bu sebeple, in vivo ortamda aktif, hızlı çalışan, geniş spektrumlu, bakteriyel dirence sebep olmayan ve sınırlı yan etkilere sahip yeni antibiyotikler

araştırılmaktadır. Doğal antimikrobiyel peptidlerin sentetik türevleri yeni antibiyotik araştırmaları için önem teşkil etmektedir (Brodgen ve ark., 2003).

Antimikrobiyel peptidler, çoğunlukla, küçük katyonik polipeptidlerdir ve mikroorganizmaların gelişimini inhibe etme kapasitesine göre sınıflandırılırlar. Doğal immunité efektörleri olan antimikrobiyel peptidler birçok bakteri, mantar ve virus türlerini inhibe etme yeteneğindedirler (Braff ve ark., 2005). Antimikrobiyel peptidlerin büyük bir çoğunluğu evcil hayvanlarda bulunur (Brodgen ve ark., 2003).

#Birinci yazarın doktora seminerinden özetlenmiştir.

Nükleik asit sekanslama çalışmalarında, farklı türde 800'den fazla antimikrobiyel peptid tanımlanmıştır. Tanımlanmış peptidlerin çoğu, vertebrasızların çeşitli doku ve hücrelerinde, bitkilerde, hayvanlardaki sitokin, kemokin ve nöropeptidlerde sentezlenmektedir (Brodgen, 2005).

Antimikrobiyel Peptid Çeşitleri

Antimikrobiyel peptidler, çeşitli molekül yapılarına sahiptirler ve bu yapılardaki aminoasit kompozisyonlarına göre alt gruplara ayrılırlar (Brodgen, 2005).

Anyonik Antimikrobiyel Peptidler

Antimikrobiyel peptidlerin bir alt grubu, anyonik antimikrobiyel peptidleri içerir. İnsan, sığır ve koyun akciğerlerinde, bronkoalveoler lavaj sıvılarında, solunum yolu epitel hücrelerinde bulunurlar (Brodgen, 2005; Williams ve ark., 2002). 1992 yılında koyun akciğerinde bulunan yüzey proteinlerinin *Mannheimia haemolytica*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* etkenlerini öldürdüğü bildirilmiştir (Brodgen ve ark., 2003; Williams ve ark., 2002).

Katyonik Antimikrobiyel Peptidler

Katyonik antimikrobiyel peptidler, yaygın olarak evcil hayvanlarda bulunurlar. Katyonik antimikrobiyel peptidler, türler arasındaki kompozisyonları, yapıları ve dağılımları bakımından büyük oranda farklılık gösterirler. Katyonik antimikrobiyel peptidler, üç temel kategoride sınıflandırılmıştır. Bunlar, prolin bakımından zengin lineer peptidler, helikal peptidler ve β tabakası ile sistein içeren peptidlerdir (Brodgen ve ark., 2003).

Katyonik antimikrobiyel peptidler doğal immün yanıtın anahtar bileşenleridir. Yapısal özelliklerine dayanarak, katyonik antimikrobiyel peptidler farklı kategorilerde sınıflandırılır. Bu kategoriler, α -heliks formundaki lineer, suda çözünen peptidler ve zengin prolin içeren lineer peptidler olarak adlandırılmaktadır (Tzeng ve ark., 2005).

α -heliks formundaki lineer peptidler

Lineer katyonik α -helikal peptidler, böceklerde, sekproin A ve insanlarda iki adet lösin ve 37 adet aminoasit içeren (LL-37) peptidlerini içerir (Brodgen, 2005). Bu peptidler, 20-40 amino asit yapısı ile sistein içermeyen, lineer ve helikal yapıda olup, ortasında bir kıvrımı olan peptidlerdir. α -helikal yapıya sahip olan peptidler, suda çözünürler ve bakteriyel hücre membranından geçebilirler (Brodgen ve ark., 2003).

Zengin prolin içeren lineer peptidler

Bu peptidler, sistein içermezler. Lineer, geniş sargı formunda olan ve 40-80 amino asit içeren bir yapıya sahiptirler. Bu gruptaki peptidler prolin, arjinin ve glisin bakımından zengindir. Baktenezinler, profeninler ve indolisidinlerden oluşmaktadır. Diğer bir alt grup ise, anyonik ve katyonik peptidlerin 360 adet üyesinden oluşur. Sistein, disülfid bağları ile β tabakası içerir (Brodgen, 2005; Brodgen ve ark., 2003). Antimikrobiyel peptid yapılarında, pozitif yüklü amino asitlerin çoğu bir tarafta lokalize olmuştur. Bu moleküllerin karşısında hidrofobik yapılar bulunur (Izadpanah ve ark., 2005).

Önemli Antimikrobiyel Peptidler

Birçok antimikrobiyel peptid, katyonik yüklü bölgeler ile ayrı hidrofobik yapıları barındıran moleküllerdir. Antimikrobiyel peptidler boyut, aminoasit dizisi ve belli yapısal özellikleri açısından farklılıklar gösterir. Yapısal özelliklerine göre memelilerde bulunan antimikrobiyel peptidleri katelisinler, defensinler, histatinler ve granülizinler olarak sınıflandırmak mümkündür (Bals, 2000).

Katelisinler

Katelisinler, antibakteriyel proteinlerin yeni bir grubunu oluşturmaktadır. Son yıllarda insanların ve hayvanların epitel dokuları ile miyeloid hücrelerden tanımlanmıştır (Koczulla, 2003).

Katelisidinler, konak savunmasının başlangıç safhasında önemli rol oynar. Katelisidin üretimi, infeksiyöz değişim ve epitelyal yaralanmayı takiben oluşabilir. *Shigella dysenteriae* gibi belli bazı bakteriyel patojenlerin virulans mekanizmalarıyla katelisidin üretimi baskılanabilir (Palfy ve ark., 2009).

İnsan katelin molekülü, sistein proteinaz inhibitörü işlevini görür. Katelin molekülünün, *Escherichia coli* ve methisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) patojenlerine karşı antimikrobiyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Zaiou ve ark., 2003).

Defensinler

Defensinler, antimikrobiyel peptidlerin geniş bir grubunu oluşturur. Defensinlerin, katelisidinler gibi keratinosit ve mukozal epitelyal hücrelerde bulunduğu bildirilmiştir. Bu katyonik peptidler, 6 ile 8 sistein molekülü içeren karakteristik disülfid köprülerine sahiptir. Disülfid bağlarının dizisi, defensinler içerisinde β -defensinler, α -defensinler ve θ -defensinler olarak ayrı altgruplara ayrılmasında temel teşkil eder. İnsanda, sadece α ve β -defensinler bulunmaktadır (Izadpanah ve ark., 2005).

β -defensinler, α -defensin eşleri ile benzer, 3 disülfid köprüsü ile bağlanmış, 6 sistein molekülü içeren yapılardır (Liu ve ark., 2002; Valore ve ark., 1998).

α -defensinler 29-35 amino asit yapıları içeren ve bu yapılar arasında karakteristik 1.-6., 2.-4., 3.-5. sistein molekülü arasında disülfid köprülerine sahip yapılardır. İnsanlarda bulunan nötrofil peptidleri, tümör nekrozis faktör- α , interlökin-1 hücreleri, *S. aureus* tarafından aktive edilir. İnsanlarda bulunan nötrofil peptidleri, konakçının patojene karşı doğal immun yanıtına ek olarak, patojenin bazı özelliklerini de değiştirirler. α -defensinler, özellikle adenoviruslara karşı güçlü antiviral aktivite sergilerler (Izadpanah ve ark., 2005; Smet ve ark., 2005).

Histatinler

Histatinler, insan salyasında bulunan ve histidin yönünden zengin peptidlerdir. Histatinlerin önemli bir üyesi olan histadin 1 ve 3, 32-38 aminoasit molekülü içerir. Histadinler içerisinde yer alan histatin 5, histatin 1 ile histatin 3 orjininden 24 aminoasit molekülü ile meydana gelmiştir. Histatinler güçlü antifungal etkiye sahip antimikrobiyel peptidlerdir (Bals, 2000).

Granülizinler

Granülizinler, katelisidin ve defensin gibi diğer antimikrobiyel peptidlerden farklı bir yapıya sahiptirler. Granülizin, epitelyum tarafından üretilmezler. Fakat T hücreleri tarafından deriye getirilir (Jongstra ve ark., 1987). Granülizin sadece insanda bulunur. Bu peptid, öncelikle 15kd öncü proteininde sentezlenir sonra aktif 9kd katyonik peptid moleküllerine bağlanır. Granülizin, bakteri, mikobakteri ve mantarlara karşı güçlü bir antimikrobiyel aktiviteye sahiptir. Granülizinler, çeşitli efektör tümör hücrelerine, Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere, mantarlara ve parazitlere karşı etkilidir. Granül eksositozisi ile doğal öldürücü hücreler aracılığı ile salınır. Purifiye perforin ile kombinasyonunda, rekombinant granülizin, *Mycobacterium tuberculosis*'in hücre içeriğini %90 oranında lize eder ve mikobakteriyel hücre yüzeyinde, tahribata sebebiyet verir (Kapsar ve ark., 2001).

Antimikrobiyel Peptid Aksiyon Mekanizmaları

Defensin, katelisidin ve histadin gibi antimikrobiyel peptidler, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, mayalara, mantarlara ve virüslere karşı geniş spektrumlu bir antimikrobiyel aktiviteye sahiptirler. Defensin ve katelisidinlerin genel aktivasyon mekanizmaları, katyonik yük içerek peptidin patojenin dış yüzeyine bir elektrostatik bağ ile bağlanması ve sonrasında, sitoplazmik membrana gömülerek, hücre içeriğine nüfuz etmesi şeklinde açıklanır (Smet ve ark., 2005).

Mikroorganizmaların inhibe edilmesi, antimikrobiyel peptidlerin yapıları ve katyonik yükleri ile ilişkilidir. Katyonik peptid yükleri, bakteri, virus, mantar ve protozoaların lipid membran yüzeylerindeki anyonik komponentler ile antimikrobiyel peptidlerin birbirine tutunmasına hizmet eder (Izadpanah ve ark., 2005).

Patojenlerin direnç geliştirmeleri, antimikrobiyel peptidlerin bakterisidal etkileri için bir tehdit teşkil eder. Bazı bakteriler, antimikrobiyel peptidlerin hücre membranındaki etkilerine karşı, özel savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Fakat bu mekanizmalar, birçok antibiyotiğe karşı kazanılmış hızlı direnç mekanizmaları ile farklılıklar göstermektedir (Groisman ve ark., 1992; Peschel ve ark., 2001). Bakterilerin, antimikrobiyel peptidlere karşı geliştirdikleri savunma mekanizması, bakterinin negatif hücre membran yükünü azaltması ile pozitif yüklü antimikrobiyel peptidlerin bakteri hücre membranına daha az bağlanması ile tahribat etkisinin azalması şeklinde açıklanabilir. *S. aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi deri patojenleri, antimikrobiyel peptidlere karşı direnç gelişimlerini tamamlamıştır (Izadpanah ve ark., 2005).

Antimikrobiyel peptidlerin mikroorganizma inhibisyonu sırasında oluşturduğu por formasyonu üç farklı yolla şekillenir (Brogden, 2005). Delme yöntemi ile porun oluşturulmasında, peptidler negatif yükleri sayesinde hedef membrana tutunarak lipid odaklı çift tabakalı hücre membranından suda çözünen (hidrofilik) peptid bölgeleri bir araya gelerek geçerler. Halı modeli por yapısının oluşturulmasında, antimikrobiyel peptidler, bir halı gibi tüm çift tabakalı lipid hücre membranının yüzeyine yayılarak, membranı keserler. Çember modelinde ise, delme modelinde olduğu gibi hücre membranına tutunurlar ancak bu modelde farklı olarak peptidler, tek tabakalı lipid membranı bükerek bir por yapısı meydana getirirler (Brogden, 2005; Palfy ve ark., 2009).

Deri Hastalıklarında Antimikrobiyel Peptidlerin Roller

Yara tamiri

Antimikrobiyel peptidlerin öncelikli keşfi, memelilerdeki deri yaralarının tamirinde rol oynayan moleküler yapılarının araştırılması esnasındadır (Ho ve ark., 1997). Proteoglikanların üretimindeki değişiklikler, yara iyileşmenin iyileşme durumunu da etkilemiştir. İnsan katelidini LL-37, keratinosid poliferasyonunu ve anjiogenesis uyarısını harekete geçirmektedir (Koczulla ve ark., 2003; Heilborn ve ark., 2003). Tüm bu gözlemler, antimikrobiyel peptidlerin, deri yaralarında bakteri inhibisyonu ile iyileşmede rol oynadıklarını ortaya koymaktadır (Izadpanah ve ark., 2005).

Fareden katelidinin geninin delesyonun, uzun süren ve şiddetli *S. pyogenes* infeksiyonlarına yol açtığı bildirilmiştir. Antimikrobiyel peptidlerin göreceli eksikliği, yaralanmalardan sonra yanıklarda, *Pseudomonas* infeksiyonlarının sıklıkla artışı kısmen açıklayabilir. Antimikrobiyel peptidler, özellikle *P. aeruginosa* infeksiyonlarına karşı güçlü bir aktiviteye sahiptir (Izadpanah ve ark., 2005).

Lepra

Lepralı hastalardan alınan doku parçalarının analiz edilmesi sonucu, *Mycobacterium leprae* için immün yanıtta T hücrelerindeki granülizinin önemli bir role sahip olduğu bildirilmektedir. T hücrelerinin bir salgısı olan granülizin, lokalize tüberküloid örneklerinde bulunmuştur (Izadpanah ve ark., 2005).

Atopik dermatitis

Antimikrobiyel peptidler atopik dermatistide, önemli rol oynadığı öne sürülmektedir. Atopik dermatitis, bakteri virus ve fungal patojenler ile tekrarlayan deri infeksiyonları ile ilişkilidir (Ong ve ark., 2002). *S. aureus* atopik dermatitisli birçok hastanın deri lezyonlarından izole edilmektedir (Heilborn ve ark., 2003). Atopik dermatitisli hastaların %30'unun derilerinde bakteriyel ya

da viral infeksiyonlara rastlanırken sedefli hastalarda bu oranın %7 olduğu bildirilmiştir (**Izadpanah ve ark., 2005**).

Kostmann sendromu

Antimikrobiyel peptidlerin yokluğunda görülen bir diğer etki, Kostmann's sendromlu hastalar için bir çeşit kongenital nötropenidir. Bu hastalar, infeksiyonlardan ve periodontal hastalıklardan sıklıkla ve çabuk etkilenirler. Bu hastalar, granülosit koloni stimülasyon faktörü etkisiyle toplam nötrofil sayılarındaki artışı önyelebilirler. Katelisinlerdeki eksiklik, antimikrobiyel peptid aktivasyonundaki eksiklikle ilişkilendirilmektedir (**Izadpanah ve ark., 2005**).

Sonuç

Antimikrobiyel peptidler, insan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olup, etkin ve koruyucu rolü ile immun sistemin evrimsel atası olarak adlandırılırlar. Antimikrobiyel peptidlerin, antimikrobiyel direnci önlediği ispatlanmıştır. Bununla birlikte, farmakolojik olarak etkisiz birçok antibiyotik türevinin organizmada bulunmaması açısından büyük önem taşımaktadır. Antimikrobiyel peptidler ile ilgili yapılan araştırmalarda, çeşitli deri hastalıklarında antimikrobiyel peptidlerin rolleri daha iyi anlaşılmaktadır. Antimikrobiyel peptidler, deri hastalıklarında potansiyel tedavi edici olarak kullanımları ile önem kazanmaktadır (**Izadpanah ve ark., 2005**).

Hayvanlarda bulunan antimikrobiyel peptidlerin, hastalık ve infeksiyonların tedavisinde, iyileştirici etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Bu peptidler, korunmuş yapıları, fonksiyonları ve hareket mekanizmaları ile gelecekte, mikrobiyel infeksiyon tedavilerinde kullanılmaya aday yapılardır. Öncelikle, bu yapılar, Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler ile mantarların inhibisyonunda geniş spektrumlu bir etkiye sahiptir. Antimikrobiyel peptidlerin sentetik türevleri, bu etkenlerin neden olduğu infeksiyonların tedavi uygulamalarında kullanılabilir. İkinci olarak, infeksiyöz salgın hastalıklar sırasında ya da bu

hastalıkların yayılımından önce, akciğer epitel hücrelerindeki antimikrobiyel peptidlerin, virüslere gen transferi aracılığı ile uygulanması mümkün olabilir (**Brogden ve ark., 2003**).

Antibiyotiklerin klinik uygulamaları sırasında, bakteri ve mantar türlerinin yaygın olarak kullanılan ilaçlara direnç geliştirmesi nedeniyle, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi kritik bir önem kazanmıştır (**Smet ve ark., 2005**).

KAYNAKLAR

- Bals R.** 2000. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infections. *Respiratory Research* 1, 141-150.
- Braff M. H., Bardan A., Nizet V., Gallo R.L.** 2005. Cutaneous defense mechanisms by antimicrobial peptides. *Journal of Investigative Dermatology* 125, 9-13 .
- Brogden K.A.** 2005. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria. *Natura Reviews / Microbiology* 3, 239-250.
- Brogden K.A., Ackermann M., McCray P.B., Tack B.F.** 2003. Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences. *International Journal of Antimicrobial Agents* 22, 465-478.
- Heilborn J.D., Nilsson M.F., Kratz G., Weber G., Sorensen O., Borregaard N.** 2003. The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in re-epithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. *Journal of Investigative Dermatology* 120, 379-389.
- Ho G., Broze G.J., Schwartz A.** 1997. Role of heparan sulfate proteoglycans in the uptake and degradation of tissue factor pathway inhibitor-coagulation factor Xa complexes. *The Journal of Biological Chemistry* 27, 16838-16844.
- Izadpanah A., Gallo R.L.** 2005. Antimicrobial Peptides. *Journal of the American Academy of Dermatology* 52, 381-390.
- Jongstra J., Schall T.J., Dyer B.J., Clayberger C., Jorgensen J., Davis M.M.** 1987. The isolation and sequence of a novel gene from a human functional T cell line. *The Journal of Experimental Medicine* 165, 601-614.
- Kaspar A.A., Okada S., Kumar J., Poulain F.R., Drouvalakis K.A., Kelekar A.** 2001. A distinct pathway of cell-mediated apoptosis initiated by granulysin. *The Journal of Immunology* 167, 350-356.

- Koczulla R., Von Degenfeld G., Kupatt C., Krotz F., Zahler S., Gloe T.** 2003. An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18. *The Journal of Clinical Investigation* 111, 1665-1672.
- Liu A.Y., Destoumieux D., Wong A.V., Park C.H., Valore E.V., Liu L.** 2002. Human beta-defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria, and the state of differentiation. *Journal of Investigative Dermatology* 118, 275-281.
- Ong P.Y., Ohtake T., Brandt C., Strickland I., Boguniewicz M., Ganz T.** 2002. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *The New England Journal of Medicine* 347, 1151-60.
- Palffy R., Garglik R., Behuliak M., Kadasi L., Turna J., Celec P.** 2009. On the physiology and pathophysiology of antimicrobial peptides. *Molecular Medicine*, 15 (1-2), 51-59
- Peschel A., Jack R.W., Otto M., Collins L.V., Staubitz P., Nicholson G.** 2001. *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor MprF is based on modification of membrane lipids with l-lysine. *The Journal of Experimental Medicine* 193, 1067-1076.
- Smet K.D., Contreras R.** 2005. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnology Letters* 27, 13337-13347.
- Tzeng Y.L., Ambrose K.D., Zughair S., Zhou X., Miller Y.K., Shafer W.M., Stephens D.S.** 2005. Cationic antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis*. *Journal of Bacteriology* 187 (15), 5387-5396.
- Valore E.V., Park C.H., Quayle A.J., Wiles K.R., McCray P.B.Jr., Ganz T.** 1998. Human beta defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *The Journal of Clinical Investigation* 101, 1633-1642.
- Williams A.J.F., Gallup J.M., Romero R.R., Brodgen K.A., Ackermann M.R.** 2002. Increasing anionic peptide distribution and intensity during progression and resolution of bacterial pneumonia. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 9 (1), 28-32.
- Zaiou M., Nizet V., Gallo R.L.** 2003. Antimicrobial and protease inhibitory functions of the human cathelicidin (hCAP18/LL-37) prosequence. *Journal of Investigative Dermatology* 120, 810-6.