

Účinky antimikrobiálních peptidů

Markéta Komínková^a, Ondřej Zítka^{a,b}, René Kizek^{a,b}

^a Ústav chemie a biochemie Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

^b Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno, Česká republika

Effect of antimicrobial peptides

Organisms can produce substances which act as protection against the negative effects of microorganisms. Many of these substances belong among the peptides and represent an important mechanism of innate immunity. Peptides having activity against bacteria, fungi, parasites, viruses and cancer are collectively referred to as antimicrobial peptides (AMPs). Due to the increasing resistance of pathogenic microorganisms to antibiotic treatment, AMPs come to the forefront as a suitable alternative. Out of an antimicrobial activity, also the possible use for the treatment of fungal, parasite and virus diseases are studied. Also it has a significant potential use for the treatment of cancer, as some AMPs demonstrated significant antitumor activity.

Přijato k publikování: 2. 6. 2014

Klíčová slova: antimikrobiální aktivita, antimikrobiální peptidy, mechanismus účinku, protinádorová aktivita

Úvod

Bezobratlí, rostliny i živočichové vykazují schopnost produkovat látky na ochranu proti působení mikroorganismů. Mnohé z těchto látek patří mezi peptidy a představují důležitý mechanismus vrozené imunity^{1,2}. Peptidy s aktivitou proti bakteriím, houbám, parazitům, virům a rakovinným buňkám jsou souhrnně označovány jako antimikrobiální peptidy (AMPs)³. AMPs zauímají 4 základní struktury, a to α -helix, β -skládaný list, smyčku a přímou strukturu. Podle fyzikálně-chemických vlastností jsou charakterizovány jako kationtové, aniontové, hydrofilní a amfipatické⁴. Nejběžnější jsou AMPs kationtové a amfipatické ve struktuře α -helix⁵. Velikost se pohybuje v rozmezí 6 – 100 aminokyselin, jejichž složení i pořadí je velice proměnlivé. Tepelná stabilita těchto molekul je velmi vysoká, odolávají teplotám 100 °C po dobu 15 minut⁶. Tyto látky se dostávají do popředí zájmu zejména kvůli zvyšující se rezistenci patogenních organismů na konvenční antibiotika. Právě kvůli zvyšující se rezistenci patogenních organismů je zájem o využití AMPs pro farmakologickou aplikaci^{7,8}. Díky existenci skupiny AMPs, které vykazují

schopnost inhibice nádorových buněk, jako další farmaceutická aplikace přichází v úvahu využití AMPs jako protinádorových léčiv⁹. I přes významné kladné vlastnosti mají AMPs i vedlejší účinky, mezi ty nejvýznamnější patří hemolýza. Zlepšení vlastností AMPs a snížení vedlejších účinků lze docílit i využitím nano-transportérů, které zajistí cílenou dopravu k místu účinku a také ochranu zdravých tkání¹⁰.

AMPs s antimikrobiálním účinkem

Nejrozšířenější skupinou AMPs jsou peptidy s antibakteriálním účinkem. Antibakteriální efekt je umožněn díky integraci AMPs s mikroorganismy na základě elektrostatických sil pozitivně nabitého aminokyselinového zbytku s negativně nabitým povrchem buněk. Tento mechanismus tvoří i základ selektivity a citlivosti prokaryotických a eukaryotických buněk, jelikož u eukaryotických buněk jsou na extracelulární membráně přítomny zejména neutrálně nabitě lipidy, jako jsou fosfatidylcholin a sfingomyelin. U prokaryotických buněk je membrána složena zejména z negativně nabitých lipidů jako jsou fosfatidylglycerol (PG), kardiolipin a obojetně iontový fosfati-

dylethanolamin (PE) ^{11,12}. Po interakci kladně nabitých oblastí peptidu s negativně nabitým povrchem buněk dojde k penetraci buněčné membrány. Interakce peptid-membrána hraje klíčovou roli v antimikrobiální aktivitě peptidů ¹³. V současné době existují 4 obecné modely popisující způsob antimikrobiální činnosti peptidů, a to prstencový a kobercový model, model sudové skruže a model micelárních agregátů ⁶. Největší část doposud známých AMPs účinkuje jak proti grampozitivním, tak proti gramnegativním bakteriím ^{14,15}, jsou však i takové, které působí pouze proti grampozitivním ¹⁶⁻¹⁸ nebo gramnegativním ¹⁹.

AMPs s antimykotickým účinkem

Mykózy jsou schopné ohrozit zdraví člověka. Jejich vysoký výskyt je spoluzodpovědný za zdravotní a ekonomické problémy v tropické oblasti, ale ani celosvětový dopad není zanedbatelný ²⁰. Vzhledem ke zvýšenému výskytu plísní a omezenému výběru antimykotik jsou AMPs velmi atraktivní variantou, jak proti těmto původcům bojovat ²¹. Jako velmi účinný proti několika druhům kvasinek se ukázal syntetický čtyřmocný peptid B4010. Kromě toho tento peptid nevykazuje toxicitu ani hemolytickou aktivitu u myší ²². Mezi další peptidy, které vykazují antimykotickou aktivitu, ale nezpůsobují hemolýzu, patří např. bactrocerin-1 ²³ a drozomycin ²⁴. AMPs působí i proti onychomykózám způsobeným původci jako jsou *Epidermophyton ssp.* a *Trichophyton ssp.*, které postihují nehtové ploténky a nehtová lůžka. Zajímavá je přirozená přítomnost peptidů s antimykotickým účinkem v lidských nehtech. Tyto peptidy odpovídají za prevenci infekcí nehtových jednotek ²⁵.

AMPs s antiprotozoálním účinkem

Obdobně jako mykózy i onemocnění způsobená parazity jsou velkým problémem zejména v tropických oblastech. Tato onemocnění mají významný podíl na sociálně-ekonomické devastaci těchto oblastí a odráží se i celosvětově. AMPs mohou být použity ke kontrole nemocí, a to jak při léčbě infikovaných hostitelů, tak k zabránění přenosu nemocí tím, že interferují s prvky přímo na hmyzích přenašečích ²⁶. Aktivitu proti prvokům vykazuje phylloseptin

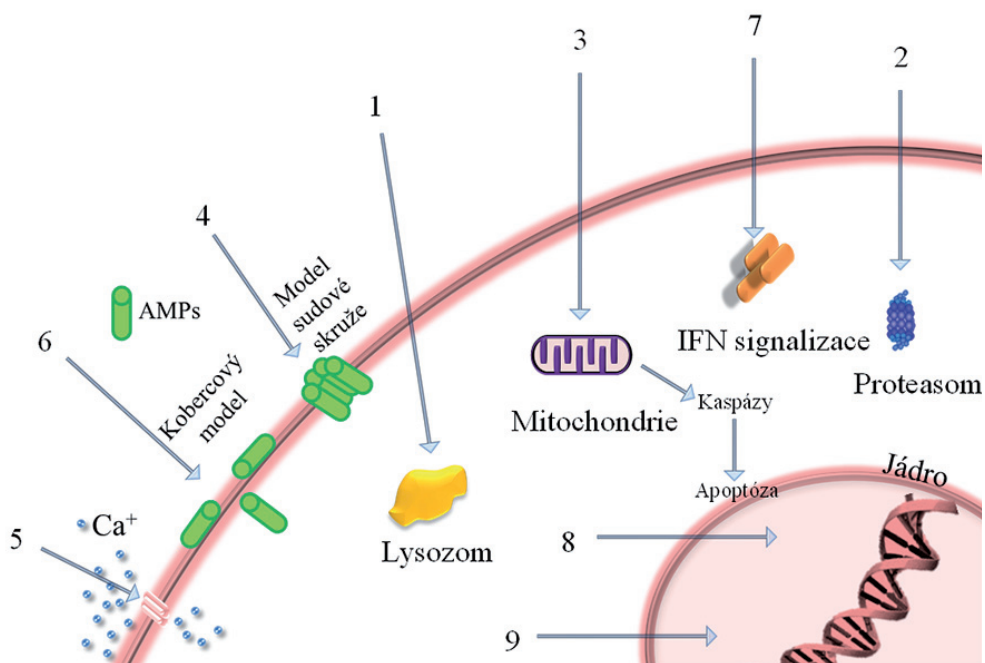
4 a 5 ze sekretu kůže dvou žab druhu *Phyllomedusa* (*Phyllomedusa oreades* a *Phyllomedusa hypochondrialis*) ²⁷. Mezi AMPs s účinkem proti prvokům rodu *Trypanosoma*, kteří způsobují africkou trypanozomíazu (spavá nemoc), patří např. leucinostatin, alamethicin I, tshushimycin ²⁸, attacin ²⁹, protegrin a ovispirin ³⁰. Malárie je onemocnění způsobené jednobuněčným parazitem zimničkou tropickou (*Plasmodium falciparum*), který je přenášen samičkami komárů rodu *Anopheles*. Aktivitu proti malárii vykazují např. peptidy defensin, stomoxyn, drosomycin, gambicin, cecropin a magainin ³¹⁻³³. Proti původcům leishmaniózy působí peptid DSR 01 a další ³⁴.

AMPs s antivirovým účinkem

Viry mohou napadat jak živočichy včetně člověka, tak rostliny, některé napadají i bakterie. Řada virů způsobuje závažná lidská onemocnění, jejichž léčba je komplikovaná až nemožná. Při napadení organismu virem dochází uvnitř buněk k replikaci tohoto viru, případně dojde k začlenění virové genetické informace do buněčného genomu. AMPs získávají protivirový efekt díky blokaci membránových receptorů hostitelské buňky nebo vazbou na virion ^{35,36}. Mezi peptidy, které by mohly být použity při prevenci nebo léčbě virových onemocnění, jako jsou virus lidské imunodeficiency (HIV), herpes simplex virus (HSV), virus hepatitidy C (HCV), lidský cytomegalovirus (HCMV), patří lactoferricin ^{35,37,38}, melittin ^{39,40}, Retrocyclin-101, Protegrin-1 ⁴¹, thymopentin ⁴².

AMPs s protinádorovými účinky

Konvenční chemoterapeutika vykazují velké množství vedlejších účinků a často podporují rozvoj lékové rezistence. Nedostatky současné léčby by mohly vyřešit AMPs, jelikož řada studií ukazuje i na selektivní cytotoxickou aktivitu AMPs vůči širokému spektru nádorových buněk ⁴³. Potenciál využití AMPs v léčbě nádorových onemocnění je i v oblasti kombinace peptidů s konvenčními chemoterapeutiky ⁴⁴. Pro tuto aktivitu byly navrženy tři mechanismy, mezi které patří lyze buněčné membrány, aktivace vnějších apoptotických drah a inhibice angiogeneze ⁴⁵. Dle současných poznatků jsou



Obr. 1: Schéma mechanismu účinku protinádorových kationtových peptidů. Údaje uvedené v závorce představují příklady peptidů působící daným mechanismem. 1 – Modifikace lysozomální membrány, která vede k okyselení intracelulárního prostoru a buněčné smrti (Kahalalid F). 2 – Amplifikace proteazomální aktivity (Magainin II). 3 – Indukce mitochondriální dráhy pro apoptózu přes uvolnění cytochromu c do cytoplasmy nebo přes aktivaci kaspázové kaskády (Lactoferricin B). 4 – Tvorba pórů koberečným modelem (Cecropin). 5 – Zvýšení příjmu Ca^{2+} (Melittin). 6 – Tvorba pórů modelem sudové skruže (Cecropin, Melittin, Lactoferricin B). 7 – Aktivace imunitní modulační dráhy indukci nukleových kyselin a interferonů (Alloferon). 8 – Inhibice genů zapojených v replikaci DNA (Kahalalid F). 9 – Zastavení buněčného cyklu v G0, G1 nebo S fázi (AGAP). Přepřacováno podle ⁴⁸.

peptidy s protinádorovou aktivitou amfipatické s hydrofobními a kationtovými zbytky. Tyto peptidy mohou tvořit póry v membráně, narušovat buněčné orgány (Obr. 1) a tím působí díky apoptóze či nekróze buněčnou smrt. Schopnost peptidů narušovat a cílit nádorové buňky umožňuje nést biologicky aktivní látky přímo do nádorů anebo do nádorového krevního řečiště ^{46,47}.

Mezi peptidy s protinádorovou účinností patří např. Cecropin A a B, který působí selektivně cytotoxicky na proliferaci nádorových buněk močového měchýře, bez negativního dopadu na fibroblasty ⁴⁹. Selektivní aktivitu proti solidním nádorům vykazuje Kahalalid F ⁵⁰.

Obdobně magainin II inhibuje proliferaci nádorových buněk močového měchýře, na které působí cytotoxicky, vůči fibroblastům je bez efektu ⁵¹. Peptid AGAP inhibuje proliferaci a indukuje apoptózu lidských nádorových buněk tlustého střeva ⁵². Alloferon má sám o sobě protinádorovou účinnost nižší, než je tomu u konvenčních chemoterapeutik, ale v kombinaci s nimi dochází k výraznému zvýšení protinádorové aktivity ⁵³. Lactoferricin B způsobuje u neuroblastomových buněk buněčnou smrt ⁵⁴. Mere15 výrazně potlačuje růst plicního adenokarcinomu ⁵⁵. CPAP působí proti nádorům jater ⁵⁶

Závěr

Široká skupina antimikrobiálních peptidů představuje nové možnosti v léčbě celé řady onemocnění, ať už se jedná o onemocnění bakteriálního původu, nebo o onemocnění způsobená houbami, parazity, viry. Výrazný potenciál představuje také protinádorová aktivita AMPs. Protinádorová aktivita je způsobena řadou mechanismů, mezi které patří stejně jako u antibakteriální aktivity narušení membrány buňky, ale také např. spuštění apoptózy, aktivity imunitní dráhy, zastavení replikace DNA a buněčného cyklu. Přestože jsou některé AMPs schopné působit na širokou škálu nádorových buněk a mají specifický účinek na tyto buňky, nebyl doposud objeven peptid, který by nevykazoval žádné vedlejší účinky. Jako vhodná cesta aplikace AMPs se jeví kombinace s dalšími léčivy, případně kombinace s nanotransportéry.

Tato práce byla financována z projektu PGS21_2013

The authors declare they have no potential conflicts of interests concerning drugs, products, services or another research outputs in this study.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

Literatura

- Brogden K. A.: Nature Reviews Microbiology, 3, 238 (2005).
- Zasloff M.: Nature, 415, 389 (2002).
- Lopez-Abarrategui C., Figueroa-Espi V., Reyes-Acosta O., Reguera E., Otero-Gonzalez A. J.: Current Protein & Peptide Science, 14, 595 (2013).
- Peters B. M., Shirtliff M. E., Jabra-Rizk M. A.: Plos Pathogens, 6, (2010).
- Epanand R. M., Vogel H. J.: Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes, 1462, 11 (1999).
- Li Y. M., Xiang Q., Zhang Q. H., Huang Y. D., Su Z. J.: Peptides, 37, 207 (2012).
- Hassan M., Kjos M., Nes I. F., Diep D. B., Lotfipour F.: Journal of Applied Microbiology, 113, 723 (2012).
- Lu Y. F., Wang J. J., Gao H., Wang Z. Y., Dong N., Ma Q. Q., Shan A. S.: Plos One, 9, (2014).
- Cerovsky V., Budesinsky M., Hovorka O., Cvacka J., Voburka Z., Slaninova J., Borovickova L., Fucik V., Bednarova L., Votruba I., Straka J.: ChemBiochem, 10, 2089 (2009).
- Urban P., Valle-Delgado J. J., Moles E., Marques J., Diez C., Fernandez-Busquets X.: Current Drug Targets, 13, 1158 (2012).
- Lohner K.: General Physiology and Biophysics, 28, 105 (2009).
- Guilhelmelli F., Vilela N., Albuquerque P., Derengowski L. D., Silva-Pereira I., Kyaw C. M.: Frontiers in Microbiology, 4, (2013).
- Pandey B. K., Srivastava S., Singh M., Ghosh J. K.: Biochemical Journal, 436, 609 (2011).
- Knappe D., Cassone M., Nollmann F. I., Otvos L., Hoffmann R.: Protein and Peptide Letters, 21, 321 (2014).
- Berthold N., Hoffmann R.: Protein and Peptide Letters, 21, 391 (2014).
- Imamura M., Wada S., Ueda K., Saito A., Koizumi N., Iwahana H., Sato R.: Developmental and Comparative Immunology, 33, 1120 (2009).
- Snyder A. B., Worobo R. W.: Journal of the Science of Food and Agriculture, 94, 28 (2014).
- Herbinier J., Brauquart-Varnier C., Greve P., Strub J. M., Frere J., Van Dorsselaer A., Martin G.: Developmental and Comparative Immunology, 29, 489 (2005).
- Yoe S. M., Kang C. S., Han S. S., Bang I. S.: Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology, 144, 199 (2006).
- Lupi O., Tying S. K., McGinnis M. R.: Journal of the American Academy of Dermatology, 53, 931 (2005).
- Fjell C. D., Hiss J. A., Hancock R. E. W., Schneider G.: Nature Reviews Drug Discovery, 11, 37 (2012).
- Lakshminarayanan R., Liu S. P., Li J. G., Nandhakumar M., Aung T. T., Goh E., Chang J. Y. T., Saraswathi P., Tang C., Safie S. R. B., Lin L. Y., Riezman H., Lei Z., Verma C. S., Beuerman R. W.: Plos One, 9, 1 (2014).
- Dang X. L., Tian J. H., Yang W. Y., Wang W. X., Ishibashi J., Asaoka A., Yi H. Y., Li Y. F., Cao Y., Yamakawa M., Wen S. Y.: Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 71, 117 (2009).
- Cohen L., Moran Y., Sharon A., Segal D., Gordon D., Gurevitz M.: Journal of Biological Chemistry, 284, 23558 (2009).
- Dorschner R. A., Lopez-Garcia B., Massie J., Kim C., Gallo R. L.: Journal of the American Academy of Dermatology, 50, 343 (2004).
- Harrington J. M.: Parasite Immunology, 33, 461 (2011).
- Leite J., Silva L. P., Rodrigues M. I. S., Prates M. V., Brand G. D., Lacava B. M., Azevedo R. B., Bocca A. L., Albuquerque S., Bloch C.: Peptides, 26, 565 (2005).
- Ishiyama A., Otoguro K., Iwatsuki M., Namatame M., Nishihara A., Nonaka K., Kinoshita Y., Takahashi Y., Masuma R., Shiomi K., Yamada H., Omura S.: Journal of Antibiotics, 62, 303 (2009).
- Hu Y. J., Aksoy S.: Insect Biochemistry and Molecular Biology, 35, 105 (2005).
- McGwire B. S., Olson C. L., Tack B. F., Engman D. M.: Journal of Infectious Diseases, 188, 146

- (2003).
31. Villa-Hernandez O., Hernandez-Orihuela L., Rodriguez M. D., Zamudio-Zuniga F., Castro-Franco R., Pando V., Batista C. V. F.: *Protein and Peptide Letters*, 16, 1371 (2009).
 32. Tian C. H., Gao B., Rodriguez M. D., Lanz-Mendoza H., Ma B., Zhu S. Y.: *Molecular Immunology*, 45, 3909 (2008).
 33. Gao B., Xu J., Rodriguez M. D., Lanz-Mendoza H., Hernandez-Rivas R., Du W. H., Zhu S. Y.: *Biochimie*, 92, 350 (2010).
 34. Eaton P., Bittencourt C. R., Silva V. C., Veras L. M. C., Costa C. H. N., Feio M. J., Leite J.: *Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine*, 10, 483 (2014).
 35. Andersen J. H., Osbakk S. A., Vorland L. H., Traavik T., Gutteberg T. J.: *Antiviral Research*, 51, 141 (2001).
 36. Orsi N.: *Biomaterials*, 17, 189 (2004).
 37. Jenssen H.: *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 3002 (2005).
 38. Andersen J. H., Jenssen H., Gutteberg T. J.: *Antiviral Research*, 58, 209 (2003).
 39. Falco A., Barrajon-Catalan E., Menendez-Gutierrez M. P., Coll J., Micol V., Estepa A.: *Antiviral Research*, 97, 218 (2013).
 40. Gee M. L., Burton M., Grevis-James A., Hossain M. A., McArthur S., Palombo E. A., Wade J. D., Clayton A. H. A.: *Scientific Reports*, 3, (2013).
 41. Lee S. B., Li B. C., Jin S. X., Daniell H.: *Plant Biotechnology Journal*, 9, 100 (2011).
 42. Wang Y., Ke X. Y., Khara J. S., Bahety P., Liu S. Q., Seow S. V., Yang Y. Y., Ee P. L. R.: *Biomaterials*, 35, 3102 (2014).
 43. Mader J. S., Hoskin D. W.: *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 15, 933 (2006).
 44. Riedl S., Zweytick D., Lohner K.: *Chemistry and Physics of Lipids*, 164, 766 (2011).
 45. Dobrzynska I., Szachowicz-Petelska B., Sulkowski S., Figaszewski Z.: *Molecular and Cellular Biochemistry*, 276, 113 (2005).
 46. Boohaker R. J., Lee M. W., Vishnubhotla P., Perez J. M., Khaled A. R.: *Current Medicinal Chemistry*, 19, 3794 (2012).
 47. Paredes-Gamero E. J., Nogueira-Pedro A., Miranda A., Justo G. Z.: *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 5, 130 (2013).
 48. Mulder K. C. L., Lima L. A., Miranda V. J., Dias S. C., Franco O. L.: *Frontiers in Microbiology*, 4, (2013).
 49. Suttman H., Retz M., Paulsen F., Harder J., Zwergel U., Kamradt J., Wullich B., Unteregger G., Stockle M., Lehmann J.: *BMC urology*, 8, 5 (2008).
 50. Hamann M. T., Otto C. S., Scheuer P. J., Dunbar D. C.: *Journal of Organic Chemistry*, 61, 6594 (1996).
 51. Lehmann J., Retz M., Sidhu S. S., Suttman H., Sell M., Paulsen F., Harder J., Unteregger G., Stockle M.: *European Urology*, 50, 141 (2006).
 52. Gu Y., Liu S. L., Ju W. Z., Li C. Y., Cao P.: *Oncology Letters*, 5, 483 (2013).
 53. Chernysh S., Irina K., Irina A.: *International Immunopharmacology*, 12, 312 (2012).
 54. Eliassen L. T., Berge G., Leknessund A., Wikman M., Lindin I., Lokke C., Ponthan F., Johnsen J. I., Sveinbjornsson B., Kogner P., Flaegstad T., Rekdal O.: *International Journal of Cancer*, 119, 493 (2006).
 55. Wang C. C., Liu M., Cheng L. Y., Wei J. T., Wu N., Zheng L. H., Lin X. K.: *Experimental Biology and Medicine*, 237, 442 (2012).
 56. Wang X. Q., Zhang X. W.: *Biotechnology Progress*, 29, 681 (2013).



Článek je volně šiřitelný pod licencí Creative Commons (BY-NC-ND). Musí však být uveden autor a dokument nelze měnit a používat pro komerční účely.