

МАМЧУР В.И., д.м.н., профессор, ЛЕВЫХ А.Э., к.фарм.н.
ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»
Кафедра фармакологии, клинической фармакологии и фармакоэкономики

ДЕФЕНЗИНЫ — ПЕПТИДЫ С АНТИИНФЕКЦИОННЫМИ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМИ СВОЙСТВАМИ

Резюме. Дефензины — мелкие антимикробные пептиды, продуцируемые лейкоцитами и эпителиальными клетками и имеющие важное значение в функционировании врожденного иммунитета. Эти пептиды обладают широким спектром активности в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, грибов и оболочечных вирусов. Кроме прямого антимикробного действия, дефензины обладают способностью регулировать хемотаксис, оказывать иммуномодулирующий, противоопухолевый и другие эффекты. Дефензины рассматриваются как инновационные лекарства, которые можно будет использовать как антибактериальные средства и при лечении рака.

Эндогенные антимикробные пептиды и белки являются важными компонентами иммунной системы человека и животных. Они играют ключевую роль в обеспечении первой линии защиты макроорганизма от инфекции. Относительно крупные антимикробные белки, содержащие более 100 аминокислот, чаще всего представляют собой литические ферменты, белки, связывающие питательные вещества, или содержащие сайты, направленные против специфических микробных макромолекул. Антимикробные пептиды имеют меньший размер и, как правило, действуют путем нарушения структуры или функции клеточной мембраны микроорганизмов. В настоящее время охарактеризованы сотни антимикробных пептидов, которые выявляются в эпителиальных тканях, фагоцитирующих клетках и биологических жидкостях многих многоклеточных животных — от моллюсков до человека. Учитывая увеличивающуюся резистентность бактерий и грибов к классическим антиинфекционным препаратам, все больше растет интерес к пептидным антибиотикам и/или их синтетическим аналогам [1]. Данные пептиды оказывают ряд разнообразных биологических эффектов. Кроме антибактериального и противогрибкового действия некоторые из них также обладают противовирусными и противоопухолевыми свойствами. Более того, они могут оказывать влияние на процессы воспаления, пролиферации, ранозаживления, продукцию цитокинов, хемотаксис иммунокомпетентных клеток [2]. В данном обзоре рассмотрены биологические свойства дефензинов — ключевых антимикробных пептидов врожденного иммунитета. Интерес к данной теме значительно возрос за последние годы (рис. 1), что связано с разнообразием роли данных веществ в норме и при патологии.

Дефензины представляют собой низкомолекулярные (3,5–6,0 кДа) катионные негликозилированные

пептиды, которые способны обезвреживать широкий спектр патогенов, включающий разнообразные бактерии, грибы, а также оболочечные вирусы. У человека данные антимикробные пептиды представлены α - и β -подсемействами дефензинов.

История открытия и классификация дефензинов

В 1960-х годах при изучении антимикробной активности лейкоцитарных лизатов кроликов и морских свинок благодаря высокой катодной электрофоретической подвижности были обнаружены так называемые катионные пептиды, богатые аргинином. Они привлекли к себе большое внимание из-за их распространенности и широкого спектра антимикробного действия [3]. Последующее развитие техники облегчило их выделение и подробное биохимическое описание [4, 5]. Открытие структурно подобных пептидов в лейкоцитах человека [6, 7] показало, что такие пептиды широко распространены в природе. Впоследствии эти вещества были названы «дефензины» на основании их связи с функцией защиты организма. После их выделения из лейкоцитов было обнаружено, что дефензины также образуются различными типами эпителиальных клеток [8, 9].

Первые α -дефензины были идентифицированы в азурофильных гранулах нейтрофилов в 1980 году. Эти гранулы являются основным депо четырех α -дефензинов. Поэтому их назвали пептидами нейтрофилов человека (HNP — human neutrophil peptides) и присвоили каждому порядковые номера (HNP1–4) [10]. В 1992 и 1993 году были обнаружены в клетках Панета еще два α -дефензина (Human defensin 5 и 6 — HD5 и HD6).

Первый β -дефензин человека был выделен в 1995 году Bensch и сотрудниками при изучении почки

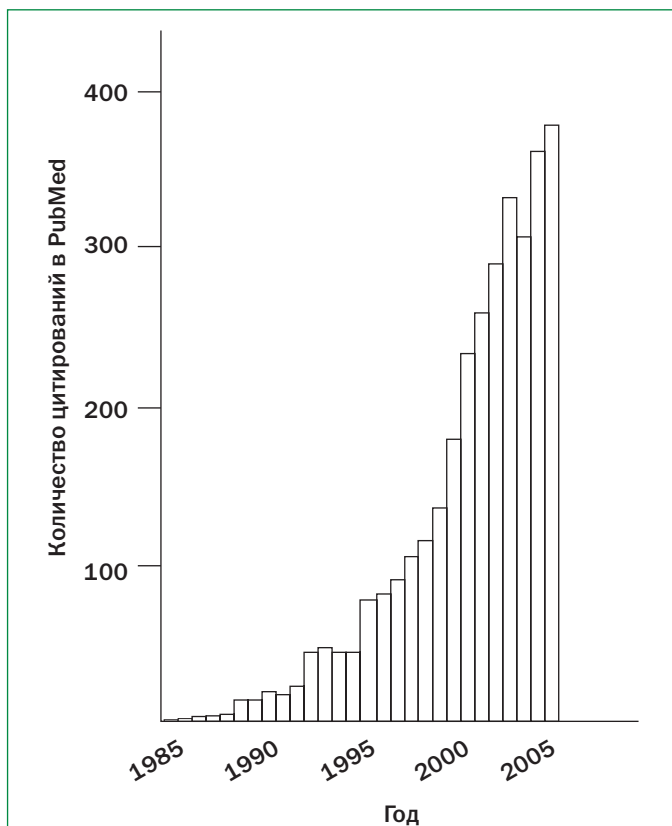


Рисунок 1. Результаты поиска статей в PubMed по ключевому слову defensin

человека из диализата гемофильтрата. Это был пептид из 36 аминокислотных остатков. Его обозначили HBD1 (human beta-defensin 1) [11]. В моче HBD1 был обнаружен в нескольких изоформах (длина их аминокислотных цепочек варьировала от 36 до 47 аминокислотных остатков). Последующие найденные β -дефензины принято обозначать, добавляя к аббревиатуре HBD их порядковый номер по мере их открытия. В 1997 HBD2 (41 аминокислотный оста-

ток) был выделен из кожи больных псориазом [12]. Основными β -дефензинами человека являются HBD1–6.

Недавно было идентифицировано другое, структурно отличающееся подсемейство θ -дефензинов (RTD — rhesus theta-defensin) в лейкоцитах обезьян макак-резусов [13]. Зрелые θ -дефензины образуются путем нехарактерного для человека процесса, который генерирует циклический пептид, соединяя и циклизуя два 9-аминокислотных сегмента, являющиеся предшественниками α -дефензина. Вероятно, θ -дефензин появился у приматов, но инактивировался у людей по причине мутаций, которые кодируют преждевременный стоп-кодон [14].

Молекулярная структура дефензинов

Дефензины — это катионные пептиды, богатые цистеином с β -складчатой антипараллельной структурой, которые стабилизированы тремя внутримолекулярными дисульфидными связями между остатками цистеина (рис. 2). В молекулах α -дефензинов дисульфидные связи находятся между первым и шестым цистеиновыми остатками (цис¹–цис⁶), цис²–цис⁴ и цис³–цис⁵ [15], в то время как у β -дефензинов эти связи между цис¹–цис⁵, цис²–цис⁴ и цис³–цис⁶ [16]. Молекулы θ -дефензинов характеризуются циклической структурой (без свободных N- или C-концов) с дисульфидными связями между цис¹–цис⁶, цис²–цис⁵ и цис³–цис⁴ [13]. Наличие дисульфидных связей обеспечивает сохранение устойчивости молекул дефензинов к многочисленным лейкоцитарным и микробным протеазам и сохранение антимикробных свойств в очаге воспаления и тканевой деструкции [17].

Несколько трехмерных структур, характерных для данных пептидов, были найдены при помощи маг-

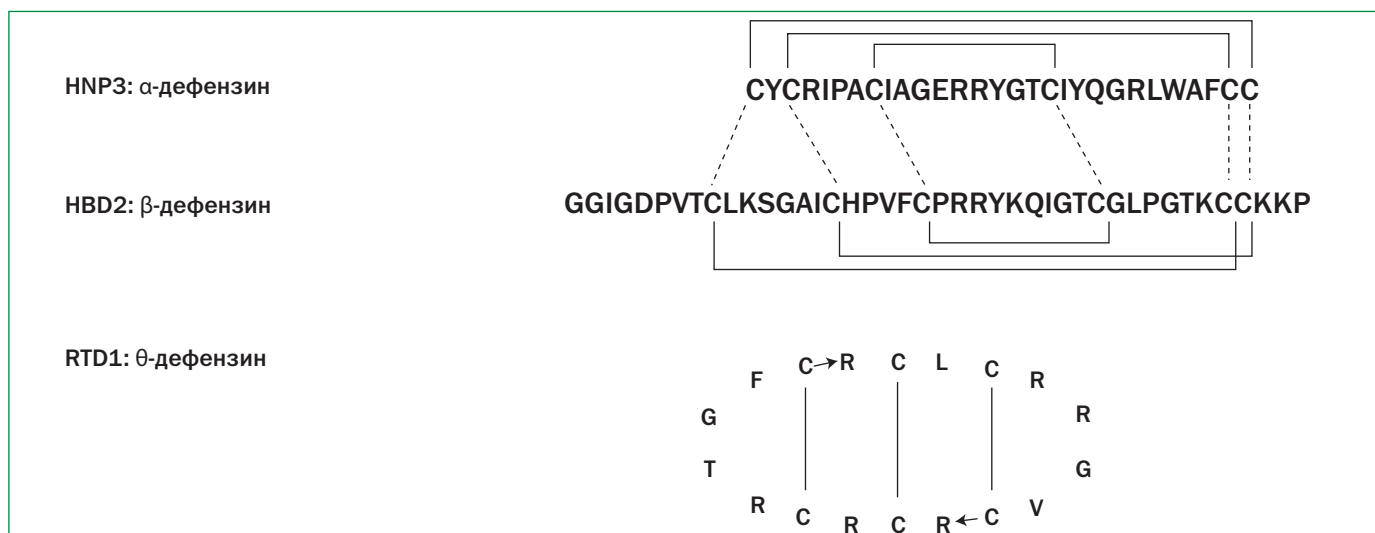


Рисунок 2. Аминокислотная последовательность и дисульфидные связи в молекулах α -, β - и θ -дефензинов: соответствующие цистеины в α - и β -дефензинах показаны пунктирными линиями; дисульфидные связи — непрерывными линиями; в молекуле θ -дефензина пептидные связи, образующиеся между двумя сегментами α -дефензина, показаны стрелками

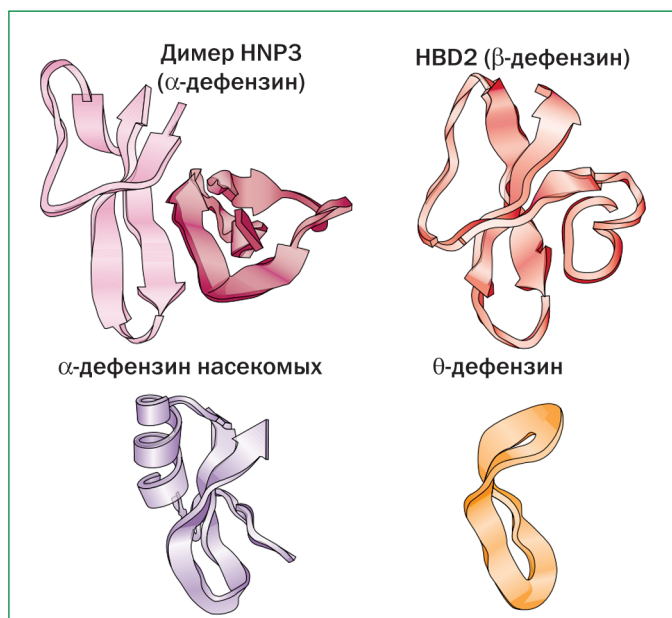


Рисунок 3. Трехмерные структуры различных дефензинов [20]: β -складчатые структуры показаны плоскими лентами и стрелками; α -дефензин (HNP3) формирует димер [18]; человеческий β -дефензин-2 (HBD2) в растворе присутствует в виде мономера [21] и имеет похожую форму молекулы (с характерным дефензиновым сгибом), несмотря на различия в конфигурации дисульфидных связей (рис. 2); кроме того, есть короткий α -спиральный сегмент на N-конце молекулы β -дефензина; структура дефензинов у насекомых характеризуется выступающим α -спиральным сегментом, который связан двумя дисульфидными связями с β -листом C-конца молекулы; θ -дефензин формирует циклическую структуру с простым β -листом

нитно-резонансной томографии и рентгеновской кристаллографии [18, 19]. Хотя кристаллические структуры некоторых дефензинов состоят из димеров или мультимеров, пока еще не ясно, соответствуют ли эти мультимеры биологической форме дефензинов. Однако общим является то, что как α -, так и β -дефензины имеют трехцепочечную β -складчатую структуру с характерным дефензиновым сгибом (рис. 3).

Молекулы дефензинов представляют собой полипептиды, содержащие 29–47 аминокислотных остатков. HNP1 и HNP3 содержат в своем составе всего 30 аминокислотных остатков, эти пептиды идентичны друг другу, за исключением замены аланина на аспарагин в положении 1. HNP2 — протеолитический продукт HNP1 и HNP3, содержащий 29 аминокислотных остатков (отсутствует первая аминокислота с N-конца). В молекуле HNP4 имеются дополнительные аминокислотные остатки на C-конце молекулы. Молекулы β -дефензинов (HBD) — более вариабельные пептиды, они менее консервативны в аминокислотной последовательности. Кроме того, HBD найдены в различных изоформах [22].

Аминокислотная последовательность зрелых дефензинов весьма разнообразна, однако струк-

тура дисульфидных связей в каждом подсемействе дефензинов постоянна. Кластеры из положительно заряженных аминокислот характерны для большинства α - и β -дефензинов, но их конкретное расположение в молекуле дефензина может меняться. В лейкоцитах и клетках Панета тонкого кишечника дефензины содержатся в гранулах — органеллах, выполняющих функцию накопления, которые богаты отрицательно заряженными гликозаминогликанами [23, 24]. Эти α - и β -дефензины содержат аргинин в качестве основной катионной аминокислоты. β -дефензины, выделяемые эпителиальными клетками, содержат одинаковое количество аргинина и лизина. Высокое содержание основных аминокислот (аргинина, лизина, гистидина) придает молекулам дефензинов положительный заряд. Дефензины являются амфипатическими молекулами, то есть гидрофильные и гидрофобные участки молекулы четко отделены друг от друга. Это свойство облегчает связывание и встраивание их в фосфолипидный бислой микроорганизмов [25].

Распределение в организме

Дефензины синтезируются в значительных количествах в клетках и тканях, которые вовлечены в естественную защиту организма от инфекций. У человека самые высокие концентрации α -дефензинов (> 10 мг/мл) обнаруживаются в гранулах лейкоцитов [6, 26]. Когда лейкоциты поглощают микроорганизмы в фагоцитарные вакуоли, гранулы сливаются с этими вакуолями и доставляют их содержимое к микроорганизму. Поскольку в фагоцитарных вакуолях мало свободного пространства, разбавление содержимого гранул минимально, в результате чего инфекционный агент быстро лизируется. Клетки Панета — специализированные клетки иммунной защиты тонкого кишечника — еще одно место высокой концентрации α -дефензинов. Клетки Панета содержат богатые дефензином секреторные гранулы, которые высвобождаются в узкие кишечные углубления, известные как крипты. Концентрация дефензинов в криптах может также достигать > 10 мг/мл [27]. Различные барьерные и секреторные эпителиальные клетки также вырабатывают α - и β -дефензины, в некоторых случаях постоянно [28], а в других случаях — в ответ на инфекцию [12]. Средняя концентрация дефензинов в этих эпителиальных клетках достигает 10–100 мкг/мл [29], но из-за того что пептиды распространяются неравномерно, местные концентрации более высоки.

Генетика дефензинов

У людей существует как минимум 8 генов, кодирующих α - и β -дефензины. Они образуют кластер на хромосоме 8p22-p23 [30–32]. Кроме того,

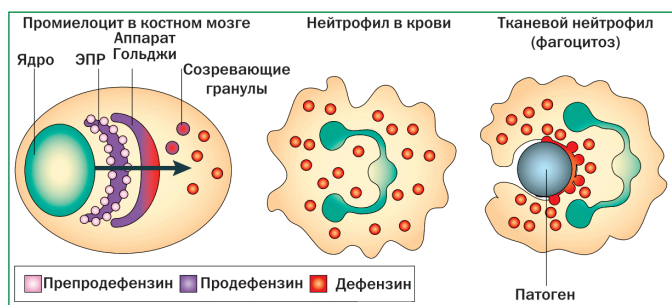


Рисунок 4. Синтез α -дефензина и его секреция нейтрофилом в процессе фагоцитоза: α -дефензины образуются в костном мозге в промиелоцитах. Синтезируемый на рибосомах препродефензин состоит из 94 аминокислотных остатков, путем удаления N-концевой 19-аминокислотной сигнальной последовательности он превращается в 75-аминокислотный продефензин. Последующее отщепление анионного участка приводит к образованию зрелого α -дефензина (29–30 аминокислотных остатков). В нейтрофилах дефензины упаковываются в азурофильные гранулы [45, 46]. Во время фагоцитоза эти гранулы сливаются с фагоцитарными вакуолями, в которых они создают высокую концентрацию дефензинов [47]

гены, кодирующие HBD, найдены еще на 6-й и 8-й хромосомах. Несмотря на сообщения о завершении расшифровки генома человека, кластер дефензинов пока еще не полностью картирован. Вероятно, это связано с полиморфной природой этих пептидов и различиями в количестве копий специфических генов дефензинов [33]. HNP1–3 кодируются двумя генами HDEFA1 и HDEFA3. Установлено, что уровень HNP в нейтрофилах пропорционален числу генных копий [34]. Этот генетический компонент обуславливает индивидуальную устойчивость организма к инфекциям. При сравнении разных популяционных групп людей у них было выявлено достоверное отличие числа генных копий, кодирующих HNP1–3. Это объясняется прежде всего тем, что люди из различных историко-географических районов мира подвергаются различному действию окружающих их инфекционных агентов. Кроме того, в популяциях существуют индивидуумы, у которых наблюдается полное отсутствие HDEFA3 аллели. Количество таких людей в различных регионах колеблется от 10 до 37 %. Это может частично объяснить различия частоты инфекционных и/или аутоиммунных заболеваний, в которых HDEFA3 играет важную роль [25, 35].

Было показано разнообразие числа копий генов дефензинов, что указывает на дубликацию генов в β -дефензиновом кластере на хромосоме 8p23. Исследования показали, что индивидуумы могут иметь от 2 до 12 копий в регионах: DEFB4, DEFB103 и DEFB104, кодирующих HBD2, HBD3 и HBD4 соответственно. Эти повторы регионов не включают гены, кодирующие HNP или HBD1 [35, 36].

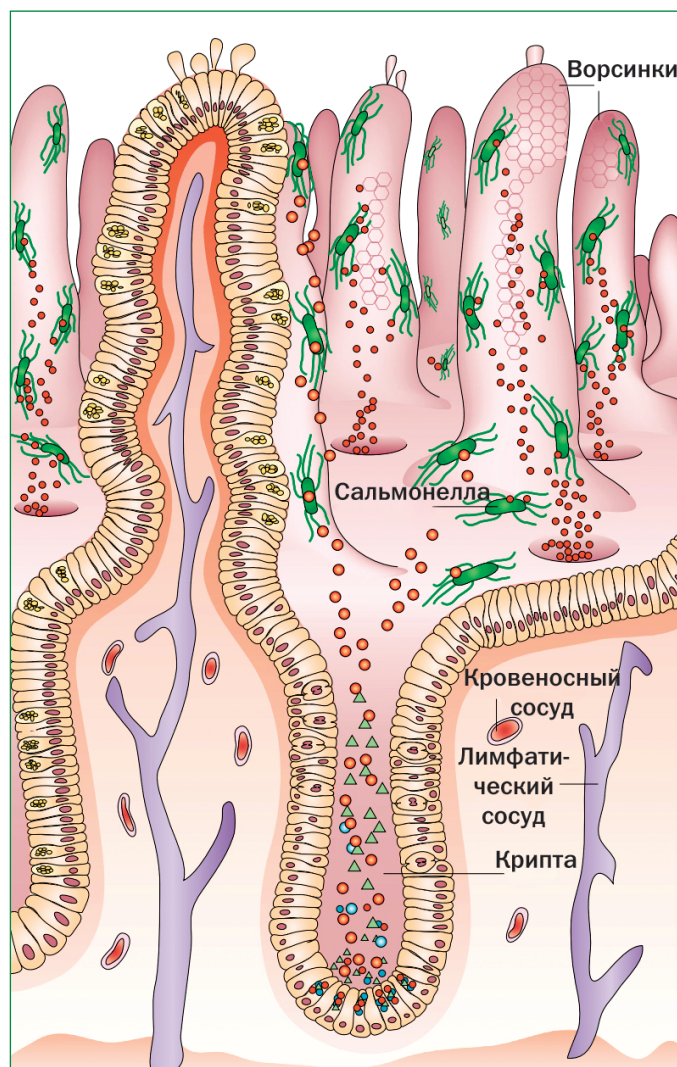


Рисунок 5. Секреция дефензинов клетками Панета: тонкая кишка содержит большое количество абсорбирующих ворсинок, перемежающихся с криптами — узкими трубчатыми углублениями, содержащими в их основании группу богатых дефензином клеток Панета. Гранулы этих клеток содержат большое количество продефензина-5, который состоит из неактивного просегмента (синие кружочки), соединенного с N-концом зрелого человеческого дефензина-5 (красные кружочки). Вместе с продефензином в клетках Панета образуется трипсин (зеленые треугольники). После дегрануляции (например, индуцированной бактериями из просвета кишечника) трипсин активирует дефензин-5, отщепляя от него просегмент. Вероятно, этот процесс служит для защиты абсорбирующего эпителия, а также крипт с их кишечными стволовыми клетками

Синтез дефензинов

Каждый ген дефензинов содержит несколько экзонов, которые кодируют препептид. Вначале α -дефензины синтезируются в виде предшественников, которые содержат 90–100 аминокислотных остатков и состоят из (N)-терминального сигнального участка (~19 аминокислот), анионного участка (~45 аминокислот) и карбокси(C)-терминального «зрелого» катионного дефензина (~30 аминокислот) [37, 38]. Во многих случаях заряды анионного участ-

Таблица 1. Экспрессия дефензинов

Пептид	Сайт	Тип экспрессии	Индуктор
HNP1–4	Нейтрофилы, В- и Т-лейкоциты, НК-клетки, эпителиальные клетки	К	–
HD5	Клетки Панета	К	
HBD1	Кожа, Р, ЖКТ, У	К	IFN γ (исключение)
HBD2	Кожа, Р, ЖКТ	И	IL-17, IL-1 β , TNF- α , ЛПС
HBD3	Кожа, Р, ЖКТ	И	IL-17, TNF- α , ЛПС, IFN γ , IL-1, IL-6
HBD4	Кожа, ЖКТ, У	К И	12-форбол 13-миристат
HBD5	У	К	
HBD6	У	К	

Примечания: Р — респираторный тракт; ЖКТ — желудочно-кишечный тракт; У — урогенитальный тракт; И — индуцибельный; К — конститутивный.

ка и зрелого дефензина примерно равны [39], что может иметь важное значение для образования третичной структуры белка и/или предотвращения внутриклеточных взаимодействий с фосфолипидными мембранами [40, 41]. В результате протеолитического отщепления в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) происходит удаление сигнального участка от препептида и образование продефензина (в среднем 75 аминокислотных остатков). Последующее созревание (отщепление 45 аминокислотных остатков анионного участка) занимает много часов и происходит в зрелых гранулах. α -дефензины нейтрофилов синтезируются в костном мозге (рис. 4) еще на стадии промиелоцитов [42, 43]. В зрелых нейтрофилах, циркулирующих в крови или находящихся в воспаленных тканях, содержится большое количество дефензинов, однако синтез пептидов или их мРНК больше не происходит. В этих клетках обнаруживается лишь небольшое количество частично превращенных промежуточных продуктов («созревающих» дефензинов) [44].

Ключевым ферментом, который отвечает за посттрансляционную модификацию кишечного продефензина HD5, является трипсин. Он выделяется теми же клетками Панета, которые синтезируют, аккумулируют и секретируют HD5 (рис. 5). α -дефензины в клетках Панета хранятся в виде препептида, который подвергается частичному протеолизу при участии трипсина во время или сразу после выделения из клеток Панета.

Структура предшественников β -дефензинов проще: они состоят из сигнальной последовательности, короткого или отсутствующего анионного участка и зрелого дефензина на С-конце. Отсутствие анионного участка в предшественниках β -дефензинов контрастирует с относительно большим анионным участком в предшественниках α -дефензинов — этому отличию еще не найдено удовлетворительного объяснения. В эпидермальных кератиноцитах β -дефензин-2 (HBD2)

секретируется в ламеллярных гранулах [48] — липидсодержащих пузырьках, которые выделяют-ся в межклеточное пространство и делают кожу непроницаемой для воды. Видимо, эти пузырьки также обеспечивают антимикробный барьер эпидермиса.

Регуляция синтеза и выделения дефензинов

Экспрессия дефензинов человека может быть конститутивной и/или индуцибельной. Все HNP (синтез HNP происходит до созревания и дифференцировки нейтрофилов) и HBD1 экспрессируются постоянно. Напротив, для HBD2–4 характерна индуцибельная регуляция экспрессии [25]. Причем для каждого члена семейства характерен преимущественно свой активатор экспрессии (табл. 1).

Синтез α -дефензинов в клетках Панета, по-видимому, является конститутивным. Однако секреция HD5 в просвет кишечной крипты стимулируется холинергическими агонистами, антигенами прокариотических (но не эукариотических) микроорганизмов, бактериальной ДНК (CpG олигонуклеотидами) [49]. Выделение HNP1–3 из НК-клеток (естественных киллеров) также стимулируется бактериальными антигенами, такими как OmpA (outer membrane protein A — протеин А наружной мембраны) или флагеллином [50].

Экспрессия β -дефензинов HBD2–4 индуцируется фактором некроза опухоли α (TNF- α), интерлейкином-1 β (IL-1 β), γ -интерфероном (IFN γ), бактериальным липополисахаридом (ЛПС), форболмиристатацетатом, а также во время кальций-индуцированной дифференциации кератиноцитов [51, 52]. В коже синтез HBD2 значительно усиливается интерлейкином-1, выделяемым ЛПС-стимулированными моноцитами, этот механизм зависит от транскрипции фактора NF- κ B [53]. Экспрессия мРНК β -дефензина-3 в кератиноцитах увеличивается под влиянием γ -интерферона [52]. Бактериальные антигены или форболмиристатацетат путем актива-

Таблица 2. Активность дефензинов в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий и некоторых грибов рода *Candida*

Дефензин	Микроорганизм	Окраска по Граму	МПК (мкг/мл)
HNP1 (α -дефензин)	<i>Listeria monocytogenes</i>	Положительная	39,7
	<i>Staphylococcus epidermis</i>	Положительная	5,2
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Положительная	2,2
	MRSA	Положительная	21,2
	<i>Bacillus subtilis</i>	Положительная	6,4
	VREF	Положительная	11,9
	<i>Escherichia coli</i>	Отрицательная	1,8
	<i>Salmonella typhimurium</i>	Отрицательная	8,4
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Отрицательная	> 250
	<i>Burkholderia cepacia</i>	Отрицательная	> 250
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Отрицательная	4,3
	<i>Proteus mirabilis</i>	Отрицательная	> 250
	<i>Proteus vulgaris</i>	Отрицательная	> 79,1
	<i>Candida albicans</i>	Грибы	> 250
HBD3 (β -дефензин)	<i>Peptostreptococcus micros</i>	Положительная	> 250
	<i>Actinomyces naeslundii</i>	Положительная	7,2
	<i>Actinomyces israelii</i>	Положительная	9,0
	<i>Streptococcus sanguis</i>	Положительная	7,6
	<i>Streptococcus mutans</i>	Положительная	5,0
	<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	Положительная	> 250
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Отрицательная	4,5
	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Отрицательная	5,7
	<i>Escherichia coli</i>	Отрицательная	5,1
	<i>Candida tropicalis</i>	Грибы	3,5
	<i>Candida parapsilosis</i>	Грибы	12,4
	<i>Candida krusei</i>	Грибы	2,0
	<i>Candida glabrata</i>	Грибы	33,8
	<i>Candida albicans</i>	Грибы	7,1

Примечания: МПК — минимальная подавляющая концентрация; MRSA — метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*; VREF — ванкомицин-резистентный *Enterococcus faecalis*.

ции протеинкиназы С усиливают экспрессию мРНК HBD4 в эпителиальных клетках респираторного тракта [54].

Антибактериальное и противогрибковое действие дефензинов

Большинство дефензинов *in vitro* оказывает антимикробное действие в отношении бактерий и грибов (особенно при тестировании в условиях низкой ионной силы [5, 55, 56] и с небольшими концентрациями двухвалентных катионов, плазменных белков или других интерферирующих веществ). При этих оптимальных условиях антимикробная активность проявляется при концентрациях дефензинов порядка 1–10 мкг/мл. В целом метаболически активные бактерии более чувствительны к дефензинам, чем бактерии, которые были инактивированы метаболическими ингибиторами или в связи с недостатком питательных веществ. HNP

имеет свою характерную антимикробную специфичность, даже несмотря на практическую идентичность этих пептидов друг другу [57]. HBD2 и HBD3 показывают большее разнообразие своего действия в отношении различных микроорганизмов, чем HBD1, причем аэробы являются более чувствительными по сравнению с анаэробами. Однако HBD3 активен в отношении большего спектра бактерий, грибов и, кроме того, действует в меньших концентрациях по сравнению с другими членами семейства HBD. Наименьшую противобактериальную активность проявляет HBD4, однако он наиболее активен в отношении *Pseudomonas aeruginosa* [58]. Кроме того, для некоторых дефензинов характерен взаимоусиливающий эффект противомикробного действия. В экспериментах *in vitro* было показано, что комбинация из HBD2 и HBD4 в отношении *Pseudomonas aeruginosa* значительно снижала их МПК₅₀ (минимальную подавля-

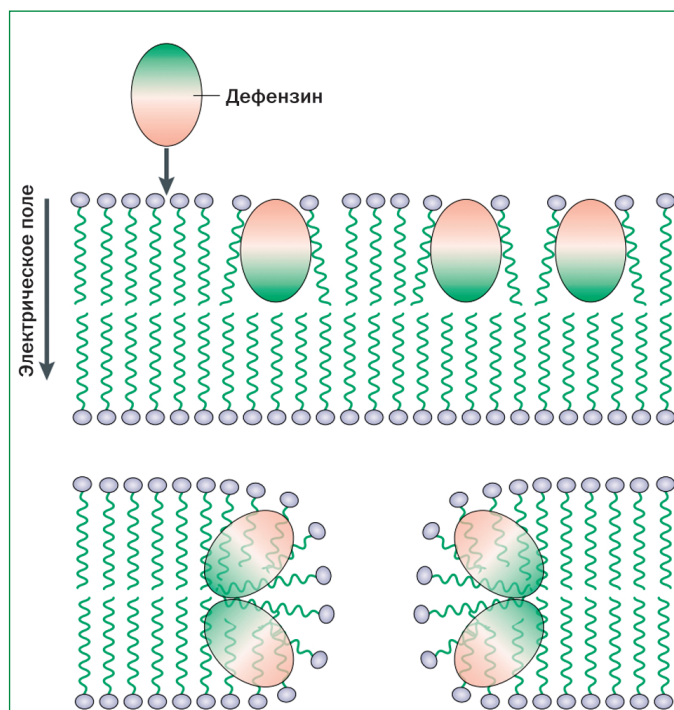


Рисунок 6. Механизм действия дефензинов: большинство дефензинов являются амфипатическими молекулами, имеющими кластеры положительно заряженных аминокислот (розовые) и участки с гидрофобными аминокислотными остатками (зеленые). Это позволяет им взаимодействовать с микробными мембранами, схематически изображенными со своими отрицательно заряженными головками фосфолипидов (синие) и гидрофобными остатками жирных кислот (зеленые). Благодаря трансмембранному электрическому потенциалу молекулы дефензинов притягиваются к мембране микроорганизма. Пептидные молекулы накапливаются в верхней части фосфолипидного бислоя, и это приводит к деформации (напряжению) мембраны. В результате происходит перераспределение молекул дефензинов (показанное в нижней части рисунка), которое снижает деформацию, но приводит к формированию мембранных пор [64–66]

ющую концентрацию, которая ингибирует рост 50 % культуры бактерий). Использование других комбинаций HBD не влияло на их бактерицидное действие [59]. В табл. 2 приведены основные дефензин-чувствительные микроорганизмы [60].

Повышение проницаемости мембран — ключевой механизм антимикробного действия α - и β -дефензинов. Микробицидные свойства дефензинов обусловлены их электростатическим взаимодействием с бактериями [61–63]. Пептиды аккумулируются и ориентируются параллельно поверхности мембраны-мишени, затем электростатически взаимодействуют с анионными группировками фосфолипидных головок во многих участках, покрывая мембрану «коврообразным» образом. По достижении определенной критической концентрации происходит образование сквозных пор в мембране-мишени, что приводит к лизису бактерии (рис. 6). Несмотря на то что взаимодействие дефензинов с клеточными мембранами является

общепринятым механизмом их действия, экспериментальные исследования структуры образующихся комплексов в фосфолипидной мембране микробных клеток пока находятся на начальном этапе. Кроме того, существуют доказательства наличия у дефензинов внутриклеточных мишеней. В частности, проникнув в цитоплазму, они могут ингибировать синтез бактериальных протеинов и нуклеиновых кислот.

Увеличение концентрации солей и плазматических белков конкурентно подавляет антимикробную активность дефензинов. Так, HNP образуют комплексы с α_1 -антитрипсином, α_2 -антихимотрипсином и α_2 -макроглобулином, в результате чего происходит ингибирование HNP [67]. Клиническим подтверждением этого являются пациенты с дефицитом α_1 -антитрипсина. У них были обнаружены деструктивные процессы в нижних отделах респираторного тракта, что является следствием токсического действия HNP [68]. Снижение антимикробной активности отмечено при увеличении ионной силы раствора, в котором находятся дефензины. Вероятно, моно- и дивалентные катионы влияют на связывание с отрицательно заряженной стенкой бактерий. Прямое антимикробное действие дефензинов *in vivo* наблюдается в вакуолях фагоцитов или на поверхности кожи и эпителии слизистых оболочек, где ионная сила не так велика [69]. Другим вариантом изменения активности HNP является АДФ-рибозилирование пептида. В опытах *in vitro* было показано, что АДФ-рибозилирование снижает цитотоксичность и антимикробную активность HNP, сохраняя при этом их хемоаттрактивные свойства и IL-8 стимулирующую активность [70].

Дефензины и иммунная система

Антиинфекционное действие дефензинов не ограничивается только их прямыми противомикробными свойствами. α - и β -дефензины (особенно HBD2) также являются связующим звеном между врожденным (неспецифическим) и приобретенным (адаптивным, специфическим) иммунитетом. HNP и HBD являются сильными хемоаттрактантами для моноцитов, Т-лимфоцитов и незрелых дендритных клеток [71–73].

В случае с HBD1 и HBD2, которые рекрутируют Т-лимфоциты памяти и незрелые дендритные клетки, хемоаттрактантная активность обеспечивается благодаря связыванию дефензинов с хемокиновым рецептором CCR6 (chemokine receptor 6). Хотя физиологическая важность этого взаимодействия еще не показана, высокие концентрации HBD2 в очаге воспаления приводят к конкуренции за CCR6 с его естественным хемокиновым лигандом (CCL20), несмотря на более высокую аффинность последнего для CCR6. Недавний структурный анализ CCL20 показал наличие значительных сходств CCL20 и HBD2 в предполагаемом участке связывания с рецептором. Роль

Таблица 3. Противовирусные эффекты дефензинов

Дефензины	Вирусы	Эффект
α-дефензины		
HNP1–3	ВИЧ-1, ВПГ-1, ВПГ-2, ЦМВ, вирус везикулярного стоматита, вирус гриппа, аденовирус, папилломавирус, вирус гепатита С	Угнетение
HNP1	Эховирус, реовирус, вирус коровьей оспы	Отсутствует
HNP4	ВИЧ-1	Угнетение
HD5	Папилломавирус	Угнетение
β-дефензины		
HBD1	ВИЧ-1, вирус коровьей оспы	Отсутствует
HBD2	ВИЧ-1, аденовирус; риновирус, вирус коровьей оспы	Угнетение Отсутствует
HBD3	ВИЧ-1, вирус гриппа	Угнетение
HBD6	вирус парагриппа (<i>in vivo</i>)	Усиление

этой области в хемотаксической активности HBD2 требует подтверждения, например, путем видоизменения аминокислотных остатков, которые вовлечены во взаимодействие с CCR6.

HNP1–3, как известно, являются хемоаттрактантами для моноцитов [71], непримированных Т-лимфоцитов (naïve T-cells) и незрелых дендритных клеток [73], но конкретный рецептор в этих клетках еще не идентифицирован. Эти данные демонстрируют связь между экспрессией антимикробных дефензинов и вовлечением в очаг инфекции иммунокомпетентных клеток, способных оказывать длительный гуморальный и/или клеточный ответ после попадания потенциального патогена. Последующие исследования показали, что α- и β-дефензины также обеспечивают антиген-специфические иммунные реакции [74]. Дефензины демонстрируют свое хемотаксическое действие в концентрациях, намного меньших (в 10–100 раз), чем требуемые для непосредственного обезвреживания микроорганизмов. При этом их хемотаксический эффект не ингибируется добавлением 5–10 % сыворотки (которая значительно уменьшает микробцидный эффект).

Кроме этого, как показано на мышинных моделях [75], β-дефензины могут регулировать функции дендритных клеток (индуцировать их «созревание») с помощью Toll-подобных рецепторов (TLR — Toll-like receptors). Контакт с антигенами патогенных бактерий, вирусов и грибов, β-дефензины через TLR активируют дендритные клетки и запускают механизмы антиген-специфического антиинфекционного гуморального и клеточного иммунитета. Параллельно активируются макрофаги и усиливаются процессы фагоцитоза.

Противовирусная активность дефензинов

Дефензины играют двойную роль в противовирусном иммунитете. С одной стороны, они взаимодействуют с оболочками вирусов, вероятно, так же, как и у бактерий/грибов. С другой стороны, дефензины

оказывают не прямое противовирусное действие за счет взаимодействия с инфицированными клетками человека. Данный эффект дефензинов, по всей видимости, опосредован связыванием с мембранными гликопротеинами и/или влиянием на сигнальные пути, требуемые для репликации вирусов. В табл. 3 обобщены эффекты α- и β-дефензинов на репликацию различных вирусов [76].

HNP1 — первый дефензин, для которого был доказан прямой противовирусный эффект для некоторых оболочечных вирусов, но не для вирусов, не имеющих липидной оболочки [77]. Среди протестированных вирусов HNP1 оказывал сильное прямое угнетающее действие на вирусы простого герпеса ВПГ-1 и ВПГ-2; умеренный эффект на вирус везикулярного стоматита (VSV — vesicular stomatitis virus) и вирус гриппа; незначительный эффект на цитомегаловирус (ЦМВ). Активность HNP1 в отношении разных оболочечных вирусов может быть обусловлена вариабельностью липидного состава их оболочек аналогично тому, как это происходит у бактерий, у которых способность дефензинов повышать проницаемость мембраны зависит от ее фосфолипидного состава. При этом точный механизм прямой инактивации вириона дефензинами не до конца изучен. В настоящее время предполагается, что это связано с разрушением мембраны вирусов или связыванием с вирусными гликопротеинами.

Интересной представляется перспектива применения дефензинов в лечении вирусных гепатитов. Например, в последнее время активно обсуждается популяционная резистентность вируса гепатита С к лечению экзогенными интерферонами. Доказано, что на определенном этапе вирус начинает синтезировать белок NS5A, который нейтрализует противовирусную активность препаратов интерферона за счет способности избирательно блокировать большинство генов, индуцируемых интерфероном (ISG — interferon stimulated genes) (A. Wohnsland et al., 2007). В отличие от интерферонов дефензины проявляют первичную

противовирусную активность в отношении вируса гепатита, а главное — не подвержены противодействию со стороны протеина NS5A, т.к. их противовирусное действие не зависит от интерфероновой пути.

Особое значение в противовирусном действии дефензинов принадлежит их анти-ВИЧ активности. Угнетение репликации вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) синтетическими α -дефензинами впервые было обнаружено в 1993 году [78]. Исследования показали, что эти пептиды могут подавлять ВИЧ-инфекцию *in vitro*. Механизмы, благодаря которым реализуется такое действие, включают прямую инактивацию вирионов, влияние на прикрепление/проникновение посредством нарушения связывания gp120 с CD4, индукцию β -хемокинов и нарушение репликации вируса на внутриклеточном уровне [79–81]. Примечательно, что при ВИЧ-инфекции дефензины также оказывают иммуномодулирующее действие, выступая в качестве хемоаттрактантов для Т-клеток, моноцитов и дендритных клеток, регулируя их активацию и продукцию цитокинов [71, 73]. Высокий уровень HNP у ВИЧ-положительных пациентов предотвращал прогрессирование СПИДа, а при снижении HNP в плазме крови заболевание у них прогрессировало [82].

HNP не оказывают прямого эффекта на вирусы, не содержащие липидной оболочки, включая экновирусы и реовирусы [77]. Аналогично, HBD2 непосредственно не инактивирует риновирусы [83]. Однако дефензины способны воздействовать на инфицированные клетки и подавлять репликацию таких вирусов после их поступления в клетку. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения механизмов противовирусного эффекта дефензинов на безоболочечные вирусы.

Противоопухолевое действие дефензинов

Одно из первых исследований, посвященных изучению влияния дефензинов на опухолевые клетки, показало, что HNP1–3 индуцируют лизис клеток [84]. Однако этот эффект не является специфичным для опухолевых клеток и может быть устранен компонентами сыворотки.

Человеческий β -дефензин 1 (кодируемый геном DEFBI) постоянно экспрессируется в предстательной железе, почках и люминальном эпителии уrogenитального тракта. Как показывают исследования, у 82 % образцов клеток злокачественной опухоли простаты и 90 % образцов светлоклеточной карциномы почек уменьшена или полностью отсутствует экспрессия DEFBI [85]. Изучение механизмов нарушения экспрессии данного гена в клетках опухоли выявило, что в большинстве случаев в промоторном участке имеется точечная мутация, приводящая к подавлению активности промотора. Если DEFBI повторно ввести в клеточные линии рака простаты, по-

чек и мочевого пузыря, то это приводит к угнетению пролиферации и индукции апоптоза [85, 86]. Данные результаты свидетельствуют о том, что DEFBI — потенциальный супрессор опухолевого роста при некоторых видах рака.

Кроме того, исследования вируса папилломы человека (ВПЧ) и вызываемого им рака шейки матки показали, что экспрессия другого β -дефензина — HBD2 (кодируемого геном DEFBI4) значительно уменьшалась при злокачественном плоскоклеточном интраэпителиальном поражении и плоскоклеточном раке по сравнению с незлокачественным плоскоклеточным интраэпителиальным поражением и нормальным цервикальным эпителием [87]. α -дефензин HNP2 незначительно экспрессируется в этих клетках, и для этого пептида никаких существенных различий между нормальной, предраковой и раковой тканью не обнаружено. Добавление HBD2 или HNP2 [88] к ВПЧ-измененным кератиноцитам *in vitro* стимулирует инфильтрацию CCR6⁺ и CCR6⁻ миелоидными дендритными клетками (mDC) соответственно. HNP2 также индуцирует миграцию CCR6⁻-дендритных клеток в ВПЧ-инфицированные ксенотрансплантаты *in vivo*. В результате этого инициируется антиген-специфический иммунный ответ и индуцируется апоптоз ВПЧ-позитивных атипичных клеток [89]. Эти наблюдения позволяют предположить, что отсутствие или недостаток дефензинов способствуют уклонению раковых клеток шейки матки от иммунного надзора. Предположительно, этот эффект опосредуется уменьшением экспрессии DEFBI4 и введение дефензинов может восстановить нормальный противоопухолевый иммунитет.

Кроме этого, β -дефензины способны взаимодействовать с неиммуногенным фрагментом антигена атипичной клетки NIGsFv и преобразовывать его в иммуногенный IGsFv. Иммуногенный фрагмент связывается с рецептором CCR6 незрелой дендритной клетки. Получив код антигена опухоли, дендритная клетка становится зрелой и готова транслировать информацию другим клеткам. Синтезируя интерлейкины, она активирует Т-хелперы, которые, в свою очередь, стимулируют фагоцитоз и цитотоксическую активность других лимфоцитов. Связываясь через TCR-рецептор с Т-клеткой, дендритная клетка передает тумор-антигенный сигнал, который транслируется В-клеткам через молекулу MHCII. В результате происходит дифференциация плазматических клеток и дальнейшая активация гуморального иммунитета. В комплексе это приводит к гибели атипичных клеток [90].

Изучается также роль α -дефензинов в ангиогенезе. Эти молекулы, а именно HNP1 и HNP3, подавляют образование новых кровеносных сосудов, нарушая связывание фибронектина с интегрином α 5h1 [91]. Тем не менее роль α -дефензинов в контексте опухолевого ангиогенеза достаточно не исследована.

Применение дефензинов в медицине

Несмотря на то что для дефензинов характерна довольно низкая селективность, они обладают рядом преимуществ: способностью быстро и эффективно убивать клетки патогенных микроорганизмов, широким спектром действия, активностью в отношении штаммов, резистентных к классическим антибиотикам, а также относительно медленным развитием устойчивости. В связи с повышением резистентности бактерий к существующим антибиотикам предложено создавать новые противомикробные препараты на основе дефензинов, так как они обладают низкой иммуногенностью, высокой биодоступностью и минимальным токсическим эффектом даже в высоких концентрациях [92]. Лекарственные средства на основе дефензинов (исходя из известных на данный момент их функций) могут использоваться для лечения различных бактериальных, грибковых и вирусных инфекций.

В эксперименте на мышах была показана эффективность применения HNP в комплексе с классическими антитуберкулезными средствами. HNP не только потенцировал эффект антитуберкулезных средств, но и вдвое снижал их терапевтическую дозу [93]. На примере вируса гриппа было показано, что обработка HNP перед инфицированием клеток вирусом ингибирует его репликацию. Эти факты позволяют использовать лекарства на основе HNP для профилактики и лечения бактериальных и вирусных инфекций.

При разработке лекарственных средств на основе HBD возможно использование комбинаций различных представителей этого подсемейства. Как уже было отмечено, в экспериментах *in vitro* показано, что комбинация из HBD2 и HBD4 в отношении *Pseudomonas aeruginosa* значительно снижает их МПК₅₀ [58]. Также обсуждаются компоненты лекарственных средств на основе HBD, предназначенные для предотвращения их инактивации в организме. Для нивелирования эффекта катепсинов предложено добавлять к HBD цистатины (природные ингибиторы катепсинов).

Существуют также наработки по трансфекции генов HBD в соматические клетки. Это обеспечит новые стратегии генной терапии. Безусловно, эта методика еще требует ряда исследований перед внедрением в широкую клиническую практику.

Заметим, что использование препаратов на основе дефензинов не ограничено только антимикробными свойствами этих пептидов. Так, представляется вполне логичным использовать дефензины для лечения раковых заболеваний. Клеточная мембрана опухолевых клеток имеет большой отрицательный заряд на поверхности, поэтому она является более чувствительной к воздействию катионных

пептидов по сравнению с нормальными клетками организма. HBD (при некоторой модификации аминокислотной последовательности) могут индуцировать гибель раковых клеток. Кроме того, HBD могут не только напрямую убивать раковые клетки, но и активировать гены, вызывающие супрессию рака [25].

Обсуждаемые открытия значительно расширяют современные представления о роли дефензинов в механизмах специфической и неспецифической защиты организма. Результаты этих исследований могут стать перспективными в лечении различных инфекционных и онкологических заболеваний человека.

Первые шаги в этом направлении в Украине уже сделаны. Для лечения хронических инфекций и злокачественных новообразований в последние годы применяется отечественный инновационный иммунокорректор Пропес. Пропес содержит биологически активные регуляторные пептиды — α - и β -дефензины, полученные путем контролируемого протеолиза из эмбриональной ткани животных.

Накопленный опыт свидетельствует о способности Пропеса проявлять выраженную антиинфекционную активность и цитопротекторные свойства при вирусных гепатитах, хирургических инфекциях, рецидивирующих формах акне, ВПЧ-инфекции и дисплазии шейки матки, а также индуцировать антиген-специфический иммунный ответ, стимулировать пролиферацию иммунокомпетентных лимфоцитов CD4 и достигать стойкой клинической ремиссии у пациентов с хроническими нейроинфекциями [94]. Пропес продемонстрировал способность повышать эффективность комплексной терапии и увеличивать продолжительность жизни онкологических больных [95, 96].

Очевидно, что подтвержденные биологические эффекты регуляторных пептидов в экспериментальной и клинической медицине открывают для нас новые возможности в лечении социально значимых заболеваний. Скорее всего, в будущем препараты на основе дефензинов могут стать такими же осознанно необходимыми в лечении иммунодефицитов и рака, как сейчас антибиотики при инфекционных процессах или препараты инсулина при диабете.

Список литературы

1. Reddy K.V., Yedery R.D., Aranha C. *Antimicrobial peptides: premises and promises* // *J. Antimicrob. Agents* 24: 536-547 (2004).
2. Bals R. *Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection* // *Resp. Res.* 1: 141-150 (2000).
3. Zeya H.I. & Spitznagel J.K. *Antibacterial and enzymic basic proteins from leukocyte lysosomes: separation and identification* // *Science* 142, 1085-1087 (1963).

4. Lehrer R.I., Selsted M.E., Szklarek D. & Fleischmann J. Antibacterial activity of microbicidal cationic proteins 1 and 2, natural peptide antibiotics of rabbit lung macrophages // *Infect. Immun.* 42, 10-14 (1983).
5. Selsted M.E., Szklarek D. & Lehrer R.I. Purification and antibacterial activity of antimicrobial peptides of rabbit granulocytes // *Infect. immun.* 45, 150-154 (1984).
6. Ganz T. et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils // *J. Clin. Invest.* 76, 1427-1435 (1985).
7. Selsted M.E., Harwig S.S., Ganz T., Schilling J.W & Lehrer R.I. Primary structures of three human neutrophil defensins // *J. Clin. Invest.* 76, 1436-1439 (1985).
8. Ouellette A.J. et al. Developmental regulation of cryptdin, a corticostatin/defensin precursor mRNA in mouse small intestinal crypt epithelium // *J. Cell. Biol.* 108, 1687-1695 (1989).
9. Diamond G. et al. Tracheal antimicrobial peptide, a cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: peptide isolation and cloning of a cDNA // *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 88, 3952-3956 (1991).
10. Selsted M.E., Brown D.M., DeLange R.I., Lehrer R.I. Primary structures of MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics of rabbit lung macrophages // *J. Cell. Biol. Chem.*, 258: 14485-14489 (1983).
11. Bensch K., Raida M., Magert H-J. et al. hBD-1: a novel β -defensin from human plasma // *FEBS Lett.*, 368: 331-335 (1995).
12. Harder J., Bartels J., Christophers E. & Schroeder J.-M. A peptide antibiotic from human skin // *Nature* 387, 861-862 (1997).
13. Tang Y.Q. et al. A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated α -defensins // *Science* 286, 498-502 (1999).
14. Cole A.M. et al. Retrocyclin: a primate peptide that protects cells from infection by T- and M-tropic strains of HIV-1 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 1813-1818 (2002).
15. Selsted M.E. & Harwig S.S. Determination of the disulfide array in the human defensin HNP-2. A covalently cyclized peptide // *J. Biol. Chem.* 264, 4003-4007 (1989).
16. Tang Y.Q. & Selsted M.E. Characterization of the disulfide motif in BNBD-12, an antimicrobial β -defensin peptide from bovine neutrophils // *J. Biol. Chem.* 268, 6649-6653 (1993).
17. Levy O. Antimicrobial proteins and peptides: anti-infective molecules of mammalian leukocytes // *J. of Leukocyte Biology*; 76: 909-926 (2004).
18. Hill C.P., Yee J., Selsted M.E. & Eisenberg D. Crystal structure of defensin HNP-3, an amphiphilic dimer: mechanisms of membrane permeabilization // *Science* 251, 1481-1485 (1991).
19. Hoover D.M. et al. The structure of human β -defensin-2 shows evidence of higher-order oligomerization // *J. Biol. Chem.* 275, 32911-32918 (2000).
20. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity // *Nature Rev. Immunol.* 3, 710-720 (2003).
21. Sawai M. V et al. The NMR structure of human β -defensin-2 reveals a novel α -helical segment // *Biochemistry* 40, 3810-3816 (2001).
22. Pazgier M., Hoover D.M., Yang D., Lu W., Lubkowski J. Human beta-defensins // *Cell. Mol. Life Sci.* 63(11): 1294-1313 (2006).
23. Parmley R.T., Doran T., Boyd R.L. & Gilbert C. Unmasking and redistribution of lysosomal sulfated glycoconjugates in phagocytic polymorphonuclear leukocytes // *J. Histochem. Cytochem.* 34, 1701-1707 (1986).
24. Spicer S.S., Staley M.W., Wetzel M.G. & Wetzel B.K. Acid mucosubstance and basic protein in mouse Paneth cells // *J. Histochem. Cytochem.* 15, 225-242 (1967).
25. Budikhina A.S., Pinegin B.V. Defensins — multifunctional cations peptides of human // *Immunopathology, allergology, infectiousology*, 2, 31-40 (2008).
26. Ganz T. Extracellular release of antimicrobial defensins by human polymorphonuclear leukocytes // *Infect Immun.* 55, 568-571 (1987).
27. Ayabe T. et al. Secretion of microbicidal α -defensins by intestinal Paneth cells in response to bacteria // *Nature Immunol.* 1, 113-118 (2000).
28. Valore E.V et al. Human β -defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues // *J. Clin. Invest.* 101, 1633-1642 (1998).
29. Shi J. et al. Porcine epithelial β -defensin-1 is expressed in the dorsal tongue at antimicrobial concentrations // *Infect. Immun.* 67, 3121-3127 (1999).
30. Liu L., Zhao C., Heng H.H.Q. & Ganz T. The human β -defensin-1 and α -defensins are encoded by adjacent genes: two peptide families with differing disulfide topology share a common ancestry // *Genomics* 43, 316-320 (1997).
31. Sparkes R.S. et al. Assignment of defensin gene(s) to human chromosome 8p23 // *Genomics* 5, 240-244 (1989).
32. Harder J. et al. Mapping of the gene encoding human β -defensin-2 (DEFB2) to chromosome region 8p22-p23.1 // *Genomics* 46, 472-475 (1997).
33. Mars W.M. et al. Inheritance of unequal numbers of the genes encoding the human neutrophil defensins HP-1 and HP-3 // *J. Biol. Chem.* 270, 30371-30376 (1995).
34. Linzemeier R.M., Ganz T. Human defensin gene copy number polymorphisms: comprehensive analysis of independent variation in α - and β -defensin regions at 8p22-23 // *Genomics*, 86: 423-430 (2005).
35. Kaiser V. and Diamond G. Expression of mammalian defensin genes // *Journal of Leukocyte Biology* 68: 779-784 (2000).
36. Dale B.V., Fredericks L.P. Antimicrobial peptides in oral environment: expression and function in Health and disease // *Curr. Issues. Mol. Biol.*, 7(2): 119-133 (2005).
37. Daher K.A., Lehrer R.I., Ganz T. & Kronenberg M. Isolation and characterization of human defensin cDNA clones // *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 85, 7327-7331 (1988).
38. Valore E.V. & Ganz T. Posttranslational processing of defensins in immature human myeloid cells // *Blood* 79, 1538-1544 (1992).
39. Michaelson D., Rayner J., Couto M. & Ganz T. Cationic defensins arise from charge-neutralized propeptides: a mechanism for avoiding leukocyte autotoxicity? // *J. Leukoc. Biol.* 51, 634-639 (1992).
40. Valore E.V, Martin E., Harwig S.S. & Ganz T. Intramolecular inhibition of human defensin HNP-1 by its propiece // *J. Clin. Invest.* 97, 1624-1629 (1996).

41. Liu L. & Ganz T. The pro region of human neutrophil defensin contains a motif that is essential for normal subcellular sorting // *Blood* 85, 1095-1103 (1995).
42. Yount N.Y. et al. Rat neutrophil defensins. Precursor structures and expression during neutrophilic myelopoiesis // *J. Immunol.* 155, 4476-4484 (1995).
43. Arnljots K., Sorensen O., Lollike K. & Borregaard N. Timing, targeting and sorting of azurophil granule proteins in human myeloid cells // *Leukemia* 12, 1789-1795 (1998).
44. Harwig S.S., Park A.S. & Lehrer R.I. Characterization of defensin precursors in mature human neutrophils // *Blood* 79, 1532-1537 (1992).
45. Rice W.G. et al. Defensin-rich dense granules of human neutrophils // *Blood* 70, 757-765 (1987).
46. Faurschou M., Sorensen O.E., Johnsen A.H., Askaa J. & Borregaard N. Defensin-rich granules of human neutrophils: characterization of secretory properties // *Biochim. Biophys. Acta* 1591, 29-35 (2002).
47. Joiner K.A., Ganz T., Albert J. & Rotrosen D. The opsonizing ligand on *Salmonella typhimurium* influences incorporation of specific, but not azurophil, granule constituents into neutrophil phagosomes // *J. Cell Biol.* 109, 2771-2782 (1989).
48. Oren A., Ganz T., Liu L. & Meerloo T. In human epidermis, β -defensin 2 is packaged in lamellar bodies // *Exp. Mol. Pathol.* 74, 180-182 (2003).
49. Rumio C. et al. Degranulation of Paneth cells via Toll-like receptor 9 // *Am. J. Pathol.* 165, 373-381 (2004).
50. Chalifour A. et al. Direct bacterial protein PAMP recognition by human NK cells involves TLRs and triggers α -defensin production // *Blood* 104, 1778-1783 (2004).
51. Harder J., Bartels J., Christophers E. & Schroder J.M. Isolation and characterization of human β -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic // *J. Biol. Chem.* 276, 5707-5713 (2001).
52. Harder J., Meyer-Hoffert U., Wehkamp K., Schwichtenberg L. & Schroder J.M. Differential gene induction of human p-defensins (hBD-1, -2, -3, and -4) in keratinocytes is inhibited by retinoic acid // *J. Invest. Dermatol.* 123, 522-529 (2004).
53. Liu L., Roberts A.A. & Ganz T. By IL-1 signaling, monocyte-derived cells dramatically enhance the epidermal antimicrobial response to lipopolysaccharide // *J. Immunol.* 170, 575-580 (2003).
54. Garcia J.R. et al. Human β -defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity // *FASEB J.* 15, 1819-1821 (2001).
55. Selsted M.E., Szklarek D., Ganz T. & Lehrer R.I. Activity of rabbit leukocyte peptides against *Candida albicans* // *Infect. Immun.* 49, 202-206 (1985).
56. Lehrer R.I., Ganz T., Szklarek D. & Selsted M.E. Modulation of the in vitro candidacidal activity of human neutrophil defensins by target cell metabolism and divalent cations // *J. Clin. Invest.* 81, 1829-1835 (1988).
57. Ericksen B., Wu Z., Lu W., Lehrer R.I. Antibacterial activity and specificity of the six human α -defensins // *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(1): 269-275 (2005).
58. Joly S., Maze C., McCray P.B., Guthmiller J.M. Human β -defensin 2 and 3 demonstrate strain-selective activity against oral microorganisms // *J. Clin. Microbiol.*, 42(3): 1024-1029 (2004).
59. Yanagi S., Ashitani J., Imai K. et al. Significance of human β -defensins in the epithelial lining fluid of patients with chronic lower respiratory tract infections // *Clin. Microbiol. Infect.*, 13: 63-69 (2007).
60. Kris De Smet, Roland Contreras. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins // *Biotechnology Letters*, 27: 1337-1347 (2005).
61. Yount N.Y., Yeaman M.R. *Immunoconsilium: Perspectives in Antimicrobial. Peptide Mechanisms of Action and Resistance* // *Protein and Peptide Letters*. 49-67 (2005).
62. 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 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 210-214 (1990).
63. Fujii G., Selsted M.E. & Eisenberg D. Defensins promote fusion and lysis of negatively charged membranes // *Protein Sci.* 2, 1301-1312 (1993).
64. Lohner K., Latal A., Lehrer R.I. & Ganz T. Differential scanning microcalorimetry indicates that human defensin, HNP-2, interacts specifically with biomembrane mimetic systems // *Biochemistry* 36, 1525-1531 (1997).
65. Huang H.W. Action of antimicrobial peptides: two-state model // *Biochemistry*, 39, 8347-8352 (2000).
66. Shai Y. Mechanism of the binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by α -helical antimicrobial and cell non-selective membrane-lytic peptides // *Biochim. Biophys. Acta* 1462, 55-70 (1999).
67. Panyutich A.V., Hiemstra P.S., van Wetering S. and Ganz T. Human neutrophil defensin and serpins form complexes and inactivate each other // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 12 (3): 351-357 (1995).
68. Zhang H. et al. Neutrophil defensins mediate acute inflammatory response and lung dysfunction in dose-related fashion // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 280, L947-L954 (2001).
69. Yang D., Biragyn A., Kwak L.W. and Oppenheim J.J. *Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal* // *Trends Immunol.*, 23: 291-296 (2002).
70. Paone G., Stevens L.A., Levine R.L. et al. ADP-ribosyltransferase-specific Modification of Human Neutrophil Peptide-1 // *J. Biol. Chem.*, 281 (25): 17054-17060 (2006).
71. Territo M.C., Ganz T., Selsted M.E. & Lehrer R. Monocyte-chemotactic activity of defensins from human neutrophils // *J. Clin. Invest.* 84, 2017-2020 (1989).
72. Chertov O. et al. Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils // *J. Biol. Chem.* 271, 2935-2940 (1996).
73. Yang D., Chen Q., Chertov O. & Oppenheim J.J. Human neutrophil defensins selectively chemoattract naive T and immature dendritic cells // *J. Leukoc. Biol.* 68, 9-14 (2000).
74. Yang D., Biragyn A., Hoover D.M., Lubkowski J. & Oppenheim J.J. Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense // *Ann. Rev. Immunol.* 22, 181-215 (2004).
75. Biragyn A. et al. Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by β -defensin 2 // *Science* 298, 1025-1029 (2002).

76. Klotman M.E., Chang T.L. Defensins in innate antiviral immunity // *Nat. Rev. Immunol.* 6(6): 447-456 (2006).
77. Daher K.A., Selsted M.E. & Lehrer R.I. Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins // *J. Virol.* 60, 1068-1074 (1986).
78. Nakashima H., Yamamoto N., Masuda M. & Fujii N. Defensins inhibit HIV replication in vitro // *AIDS* 7, 1129 (1993).
79. Furci L., Sironi F., Tolazzi M., Vassena L., Lusso P. Alpha-defensins block the early steps of HIV-1 infection: interference with the binding of gp120 to CD4 // *Blood.*, 109: 2928-2935 (2007).
80. Chang T.L., Vargas J.J., DelPortillo A., Klotman M.E. Dual role of alpha-defensin-1 in anti-HIV-1 innate immunity // *J. Clin. Invest.*, 115: 765-773 (2005).
81. Quinones-Mateu M.E., Lederman M.M., Feng Z., Chakraborty B., Weber J., Rangel H.R., Marotta M.L., Mirza M., Jiang B., Kiser P. et al. Human epithelial beta-defensins 2 and 3 inhibit HIV-1 replication // *AIDS.*, 17: F39-48 (2003).
82. Zhang L., Yu W., He T. et al. Contribution of human β -defensin 1, 2, and 3 to the anti-HIV-1 activity of CD8 antiviral factor // *Science*, 298: 995-1000 (2002).
83. Duits L.A. et al. Rhinovirus increases human β -defensin-2 and -3 mRNA expression in cultured bronchial epithelial cells // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 38, 59-64 (2003).
84. Lichtenstein A., Ganz T., Selsted M.E., Lehrer R.I. In vitro tumor cell cytotoxicity mediated by peptide defensins of human and rabbit granulocytes // *Blood.*, 68: 1407-1410 (1986).
85. Sun C.Q., Arnold R., Fernandez-Golarz C. et al. Human β -defensin-1, a potential chromosome 8p tumor suppressor: control of transcription and induction of apoptosis in renal cell carcinoma // *Cancer Res.*, 66: 8542-8549 (2006).
86. Bullard R.S., Gibson W., Bose S.K. et al. Functional analysis of the host defense peptide Human β -defensin-1: new insight into its potential role in cancer // *Mol. Immunol.*, 45: 839-848 (2008).
87. Hubert P., Herman L., Maillard C. et al. Defensins induce the recruitment of dendritic cells in cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions formed in vitro and transplanted in vivo // *FASEB J.*, 21: 2765-2775 (2007).
88. Buck C.B., Day P.M., Thompson C.D., Lubkowski J., Lu W., Lowy D.R., Schiller J.T. Human alpha-defensins block papillomavirus infection // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103 (5): 1516-1521 (2006).
89. Hubert P., Giannini S.L., Vanderplasschen A., Franzen-Detrooz E., Jacobs N., Boniver J. and Delvenne P. Dendritic cells induce the death of human papillomavirus-transformed keratinocytes // *FASEB J.* 15, 2521-2523 (2001).
90. Biragyn A. et al. Mediators of innate immunity that target immature, but not mature, dendritic cells induce antitumor immunity when genetically fused with nonimmunogenic tumor antigens // *J. Immunol.* 167, 6644-6653 (2001).
91. Economidou M., Bdeir K., Cines D.B. et al. Inhibition of pathologic retinal neovascularization by α -defensins // *Blood.* 106: 3831-3838 (2005).
92. Nishimura M., Abiko Y., Kurashige Y. et al. Effect of defensin peptides on eukaryotic cells: primary epithelial cells, fibroblasts and squamous cell carcinoma cell lines // *J Dermatol. Sci.*, 36: 87-95 (2004).
93. Kalita A., Verma I. and Khuller G.K. Role of Human Neutrophil Peptide-1 as a Possible Adjunct to Antituberculosis Chemotherapy // *J. Infectious Diseases.*, 190: 1476-1480 (2004).
94. Волошина Н.П., Терещенко Л.П. Перспективи применения препарата Пронес в стратегии лечения больных с хроническими нейроинфекциями // *Международный неврологический журнал.* — 2011. — № 5 (43). — С. 18-26.
95. Сивкович С.А., Губарева А.А., Павленко Ю.В., Томилина Н.А., Сычева Т.В., Куценко Л.Б., Рудая О.И. Способы улучшения результатов комбинированной химио- и лучевой терапии у больных злокачественными лимфомами. — Киев: Институт онкологии АМН Украины // *Лечебное дело.* — 2005. — № 7. — С. 65-69.
96. Литвиненко. А.А. Рак молочной железы: влияние иммунорекоррекции на эффективность терапии // *Спецвыпуск «Онкология».* — 2012. — № 1. — С. 11-13. □

Мамчур В.І., к.м.н., професор, Лівих А.Е., к.фарм.н.
ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
Кафедра фармакології, клінічної
фармакології й фармакоекономіки

Mamchur V.I., MD, professor, Levykh A.E., candidate
of pharmacological sciences State Institution «Dnipropetrovsk
Medical Academy of Ministry of Public Health
of Ukraine»Chair of Pharmacology, Clinical Pharmacology
and Pharmacoeconomics, Dnipropetrovsk, Ukraine

ДЕФЕНЗИНИ — ПЕПТИДИ З АНТИІНФЕКЦІЙНИМИ ТА ПРОТИПУХЛИННИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

Резюме. Дефензини — маленькі антимікробні пептиди, що продукуються лейкоцитами та епітеліальними клітинами і мають важливе значення у функціонуванні вродженого імунітету. Ці пептиди мають широкий спектр активності у відношенні грампозитивних і грамнегативних бактерій, грибів і оболонкових вірусів. Крім прямої антимікробної дії, дефензини мають здатність регулювати хемотаксис, справляють імуномодуючий, протипухлинний та інші ефекти. Дефензини розглядаються як інноваційні ліки, які можна буде використовувати як антибактеріальні засоби та при лікуванні раку.

DEFENSINS — PEPTIDES WITH ANTIINFECTIVE AND ANTITUMOR PROPERTIES

Summary. Defensins are small antimicrobial peptides produced by leukocytes and epithelial cells that are of significant importance in innate immunity functioning. These peptides have broad-spectrum activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, and enveloped viruses. In addition to their direct antimicrobial action, defensins regulate chemotaxis, have immunomodulating, antitumor and other effects. Defensins are considered as innovative drugs that might be used as antibacterial agents and in cancer therapy.