

ANTİMİKROBİYEL PROTEİNLER VE BAĞIŞIKLIKTAKİ ÖNEMİ

ANTIMICROBIAL PROTEINS AND THEIR IMPORTANCE IN IMMUNITY

Şinasi Aşkar, Tünay Konaş Aşkar

Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Fakültesi Beslenme Ve Diyetetik Bölümü,
Çankırı

Yazışma Adresi:

Tünay Konaş Aşkar
Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri
Fakültesi Beslenme Ve Diyetetik Bölümü
18200 Çankırı – Türkiye
E posta: tunaykotas@yahoo.com

Kabul Tarihi: 13 Mart 2017

doi: [10.5505/bsbd.2017.13002](https://doi.org/10.5505/bsbd.2017.13002)

Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi
ISSN: 2146-9601
e-ISSN: 2147-2238

bsbd@balikesir.edu.tr
www.bau-sbdergisi.com

ÖZET

Günümüzde antibiyotiklere karşı gelişen direnç yeni antimikrobik etkili kaynakların arayışına yol açmıştır. Bunların arasında üzerinde en fazla araştırma yapılan grup, canlıların doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olan antimikrobiyel proteinlerdir. Bu derlemede antimikrobiyel proteinlerin yapıları, etki mekanizmaları ve bağışıklıktaki önemi hakkında bilgi verilmesi amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyel proteinler, antimikrobiyel protein fonksiyonları, bağışıklık

SUMMARY

Developing resistance to antibiotics has led to the search for new effective antimicrobial sources nowadays. The most studied group among these sources is antimicrobial proteins, which are a part of the natural immune system. In this review, it was aimed to give information about the structure and effect mechanisms of antimicrobial proteins, and their importance in immunity.

Keywords: Antimicrobial protein, functions of antimicrobial proteins, immunity

ANTİMİKROBİYEL PROTEİNLER

Antimikrobiyel proteinler (konak savunma peptidleri-AMP) doğuştan bağışıklığın bir parçası olup genlerle kodlanan doğal antibiyotiklerdir¹. İnsan, bitki ve hayvan türlerinin çeşitli doku ve hücre tipleri tarafından üretilirler. Bu proteinler küçük, 12-50 aminoasit içeren, geniş spektrumlu mikrobiyosidal aktiviteye sahip peptidlerdir. Moleküler ağırlıkları ≤ 5 kDa'dır².

Bu proteinlerin antimikrobiyel aktiviteleri ilk kez 19. yüzyılın sonlarında kan, lökosit ve lenfatik dokularda tanımlanmış ve 1920-1950 yılları arasında bu dokulardan birçok antimikrobiyel bileşen izole edilmiştir³. Daha sonra antimikrobiyel proteinlerin gram negatif ve gram pozitif bakterileri, virüsleri, mantarları ve hatta değişmiş ve kanserleşmiş hücreleri de öldürdüğü gösterilmiştir¹. Bu proteinler yapılarındaki aminoasit kompozisyonlarına göre 2 alt gruba ayrılırlar³.

Anyonik Antimikrobiyel Proteinler

Anyonik antimikrobiyel proteinler insan, sığır ve koyun akciğerlerinde, bronkoalveolar lavaj sıvılarında, solunum

yolu epitel hücrelerinde bulunurlar. 1992 yılında koyun akciğerinde bulunan yüzey proteinlerinin *Mannhemia haemolitica*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* etkenlerini öldürdüğü bildirilmiştir³.

Katyonik Antimikrobiyel proteinler

Katyonik antimikrobiyel proteinler yaygın olarak evcil hayvanlarda bulunurlar. Doğal immun yanıtın anahtar bileşenleridir. Katyonik peptitler % 50 oranında hidrofobik aminoasit içerirler ve sahip oldukları lizin ve arjinin aminoasitlerinin etkisiyle pozitif yüklüdürler. Pozitif yükleri genellikle +2 değerindedir².

Katyonik antimikrobiyel proteinlerin türler arasındaki kompozisyonları, yapıları ve dağılımları büyük farklılık gösterir. Katyonik antimikrobiyel proteinler 3 temel kategoride sınıflandırılırlar. Bunlar prolin bakımından zengin lineer proteinler, α -heliks formundaki lineer proteinler ile sistein içeren β tabaka proteinlerdir^{3,4}.

α –heliks formundaki lineer proteinler

Lineer katyonik α – helikal proteinler; 20-40 aminasit uzunluğunda, sistein içermeyen lineer ve helikal yapıda

ortasında bir kıvrımı olan proteinlerdir. α – helikal yapıya sahip olmaları sebebi ile suda çözünürler ve bakteriyel hücre membranından geçebilirler. Böceklerde bulunan sekproin A ve insanlarda 37 aminoasit ve iki adet lösin içeren LL-37 proteinleri bu gruba dahildir³.

Zengin prolin içeren lineer proteinler:

Bu proteinler lineer formda ve 40-80 aminoasitten oluşurlar. Prolin, arjinin ve glisin aminoasitleri bakımından zengindirler, ancak sistein aminoasiti içermezler. Baktenezinler, profeninler ve indolisidinler bu gruba dahildir^{5,6}.

Sistein içeren β tabaka proteinler:

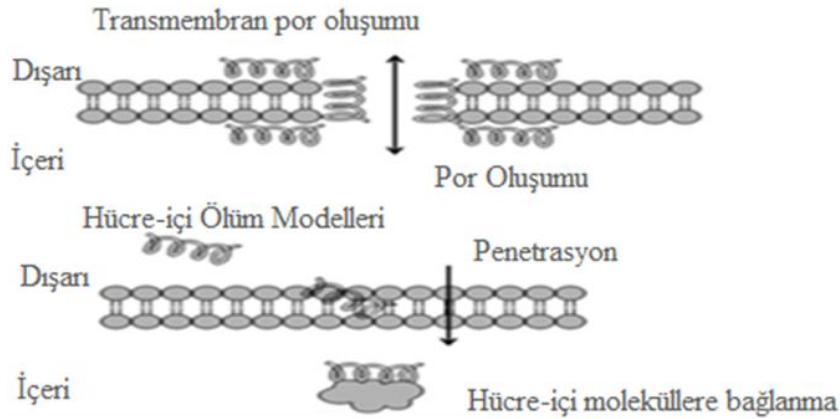
Bu alt grup ise, anyonik ve katyonik proteinlerin 360 üyesinden oluşur. Sistein, disülfid bağları ile β tabakasında yer alır⁵. Antimikrobiyel protein yapılarında, pozitif yüklü aminoasitlerin çoğu bir tarafta lokalize olmuştur. Bu moleküllerin karşısında hidrofobik yapılar bulunur⁷.

ANTİMİKROBİYEL PROTEİNLERİN ETKİ MEKANİZMASI

Antimikrobiyel proteinlerin çoğu antibakteriyel etkilerini mikroorganizmaların membranı ile etkileşerek göstermektedirler. Bu şekilde hücrenin dengesini bozarak hücre ölümüne neden olurlar¹. Antimikrobiyel peptitlerin, bakterinin dış membranından geçmesi, bunların öldürücü etkileri için gerekli ancak yeterli değildir. Bakteriler için asıl öldürücü olan katyonik peptitlerin negatif yüklü sitoplazma membranı ile elektrostatik olarak etkileşmesidir⁸.

Antimikrobiyel proteinlerin mikroorganizma inhibisyonu sırasında hücre membranını etkilemesi iki farklı yolla olmaktadır. Birincisi antimikrobiyel proteinler negatif yükleri sayesinde hedef membranına tutunarak lipid odaklı çift tabakalı bakteri membranından suda çözünen (hidrofilik) protein bölgeleri bir araya gelerek penetre olurlar. Bakterilerin fosfolipit yapısındaki iç membranının da negatif yüklü oluşu antimikrobiyel etkiyi kolaylaştırır^{1,3}.

Şekil 1. Antimikrobiyel proteinlerin hücre membranını etkileme yolları³



İkincisi ise hücre membranını delerek por oluşturulmasıdır (Şekil 1). Bunun için; önce Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkarit (LPS) tabakası ve Gram pozitif bakterilerde bulunan ve asidik bir polisakkarit olan lipoteikoik asit ile AMP'nin bağlanması gerekir⁸. Por oluşturulması ise iki şekilde meydana gelmektedir:

- Halı modeli por oluşturulmasında; antimikrobiyel proteinler bir halı gibi çift tabakalı mikrobiyal membranın hidrofobik kısmına bakacak şekilde yerleşerek membranın parçalanmasına neden olurlar^{1,9}.
- Halka modeli por oluşturulmasında ise, antimikrobiyel proteinler hücre membranına, membranın iç kısmında bir

halka görünümünü verecek şekilde yerleşirler. Bu modelde peptitlerin hidrofilik yüzleri çözücü ile, hidrofobik yüzleri ise membranın lipid kısmı ile temas eder ve sonuçta membranda kanallar ya da porlar meydana gelir^{5,10}.

ANTİMİKROBİYEL PROTEİNLERİN İŞLEVLERİ

Antimikrobiyel proteinler; bakterileri ya doğrudan öldürürler ya da kemokin üretimini teşvik ederek veya kemokin gibi rol alarak bakteriyel lipopolisakkaritlerin indüklediği yangı-öncesi sitokin üretimini baskılayarak, edinilmiş bağışıklık sistemi hücrelerinin yanıtlarını düzenleyerek enfeksiyonu sonlandırılmasında rol alırlar¹¹.

Antimikrobiyel proteinler tarafından bakterilerin öldürülmesi çeşitli şekillerde meydana gelir. Geleneksel antibiyotiklerin tersine bu peptidler bakteriyostatik etki yerine bakteriyosidal (bakteri öldürücü) olarak rol almaktadırlar⁶. AMP'ler gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel etkilidir. AMP'lerin antibakteriyel aktiviteleri yanında, antiviral (bazı zarflı virüsler), antiparaziter (tripanozom, plazmodium gibi), antifungal, antikanser aktiviteleri de vardır. İnsan AMP'lerinin 16'sı antiviral etkili iken, 58'si antifungal etkilidir. Defensin, LL-37, granülizin, CCL2-20-28, CXCL4-6-9-10, RNAaz 2 ve 3 ise antiparaziter etkili olan AMP'lerdir. Ayrıca defensin ve LL-37'nin de dahil olduğu 35 insan AMP'sinin kemotaksiste etkili olduğu belirlenmiştir¹¹.

Ayrıca AMP'ler apoptoza da yol açarlar. Biyolojik duruma göre apoptozu başlatabilir veya durdurabilirler. Örneğin LL-37 damar düz kaslarında apoptozu başlatabilir. LL-37 gibi AMP'ler yara iyileşmesinde yara iyileşmesini hızlandırır. AMP'ler ayrıca antikanser aktivite de göstermektedir. HNP-1,2,3, defensinler, LL-37 ve granülisinin antikanser etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Kanser hastalığı sırasında granülizin ekspresyonu artmaktadır¹².

ÖNEMLİ ANTIMİKROBİYEL PROTEİNLER

Başlıca antimikrobiyel proteinler; katelisinler, defensinler, histatinler, granülizinler, laktoferrin ve hepsidinlerdir.

Katelisidinler (LL-37)

Katelisidinler C-terminal ucunda yapısal olarak değişken antimikrobiyel bölge içeren katyonik peptidlerdir. Domuz ve sığır gibi memelilerde pek çok katelisin gen bulunurken, insan ve farede tek bir gen (CAMP) bulunmaktadır. Katelisinlerin üretimi normal şartlar altında çok azdır, ancak çeşitli mikrobiyel etkenler, enfeksiyon, yangı ve yaralanma katelisin üretiminin artmasına sebep olur¹¹.

İnsandaki öncü protein olan insan katelisin antimikrobiyel protein 18 (hCAP18) deride, bulunan keratinosit, mast hücresi, nötrofil gibi pek çok hücre tarafından üretilir. Nötrofil proteazları hCAP18'i ekstrasellüler olarak aktif antimikrobiyel peptid olan LL-37'e parçalar. Aktif peptid iki lösin aminoasiti ile başlaması ve 37 aminoasit içermesi sebebiyle LL-37 olarak isimlendirilmiştir. LL-37 belirgin antibakteriyel, antifungal ve antiviral etkileri nedeniyle kutanöz konak savunmasında önemli rol oynamaktadır^{11,13}. LL-37 salınımının en önemli tetikleyicilerinden birisi D vitamini'dir.

Defensinler

Memelilerde en önemli antimikrobiyel protein grubu defensinlerdir. Defensinlerin birçok bakteri, mantar,

protozoa ve bazı zarflı virüsleri öldürme veya inaktive etme yetenekleri bulunmaktadır. Bunun yanı sıra monositler, polimorfonükleer lökositler ve T hücreleri için kemotaktik etki gösterirler ve edinsel immün cevabı güçlendirirler¹⁴. Defensinlerin bakteriyosidal etkileri ortamda fizyolojik konsantrasyondaki tuz varlığında azalmaktadır. Bu nedenle defensinlerin *in vivo* antimikrobiyel etkileri iyon yoğunluğunun düşük olduğu fagosit vakuelleri ile deri ve mukoza epitel yüzeylerinde gerçekleşmektedir¹⁵.

Defensinler katyonik özelliklerinden dolayı mikroorganizmaların membranlarındaki negatif yüklü moleküllere etki ederler. Bu moleküller gram negatif bakterilerde lipopolisakaritler, gram pozitif bakterilerde polisakaritler ve lipoteikoik asit ile her iki tip bakterinin iç duvarında bulunan fosfolipidlerdir^{16,17}.

Defensinlerin yapısında 6 sistein aminoasiti bulunmaktadır. Bu aminoasitler arasında oluşan disülfid bağlarının bağlanma şekillerine göre defensinler α -defensinler, β -defensinler, ve θ -defensinler olarak 3 gruba ayrılırlar. İnsanda sadece α ve β -defensinler bulunmaktadır⁷.

Histatinler

Histatinler, insan salyasında bulunan ve histidin yönünden zengin peptidlerdir. Histatinlerin önemli üyeleri olan histadin 1 ve 3 32-38 aminoasit içerirken, histatin 5 24 aminoasit içerir. Histatinler güçlü antifungal etkiye sahip antimikrobiyel peptidlerdir¹⁸. Antimikrobiyel etkisi *Candida albicans* ve *Streptococcus mutans*'i kapsamaktadır. Özellikle diş yüzeyinin korunmasında önemli rol oynarlar¹⁹.

Granülizinler

Granülizinler ekzositoz yoluyla doğal öldürücü hücrelerden salınırlar ve sadece insanda bulunurlar. Gram negatif ve gram pozitif bakterilere, mantarlara, parazitlere ve çeşitli tümör hücrelerine karşı etkilidirler²⁰. Rekombinant granülizin, *Mycobacterium tuberculosis*'in hücre yüzeyini tahrip ederek, hücre içeriğini % 90 oranında lize edebilir^{20,21}.

Laktoferrin

Laktoferrin, transferrin gen ailesinin Fe bağlayan bir üyesidir²². İlk kez süttten elde edildiği için bu isimle anılan laktoferrin sadece süte özgü bir protein değildir. Gözyaşı, eklem sıvısı, pankreas salgıları, safra ve tükürük gibi birçok ekzokrin sıvılarda da bulunmaktadır. Dolaşımdaki laktoferrinin en önemli deposu polimorf çekirdekli nötrofillerdir ve enfeksiyon, yangı ve tümör gelişimi durumlarında nötrofillerden serbest bırakılır²³.

Laktoferrin, parazitler, mantarlar, virüsler ve bakterilere karşı antimikrobiyel aktivite gösterir, aynı zamanda

antiinflamatuvar ve antikanser aktiviteye de sahiptir. Yapılan çalışmalar ile laktoferrinin gram (+) ve gram(-) bakteriler ile mayalara karşı bakterisidal etkisi yanında, bakteriyostatik etkiye de sahip olduğu gösterilmiştir^{22,23}. Laktoferrinin bakteriyostatik ve bakterisidal aktivitesi iki temel mekanizma ile açıklanmaktadır:

-Laktoferrin, bakteriler tarafından Fe kullanılmasını engeller.

-Laktoferrin, gram(-) bakterilerin dış membranlarından lipopolisakkarit salınmasına neden olur²².

Laktoferrin aynı zamanda insanlarda hastalık sebebi olan çoğu virüs üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak inhibe edici etki göstermektedir. Laktoferrin virüsler üzerindeki doğrudan etkisini viral reseptörlere bağlanarak gösterir. Böylece virüsün sağlıklı hücreleri enfekte etmesini engeller²⁴.

Hepsidin

Hepsidin karaciğerde sentezlenen yeni keşfedilmiş bir antimikrobiyel proteindir. İnsan hepsidin geni 19q13.1 kromozomunda yer alır ve hepsidin demir metabolizmasını düzenleyen esas moleküldür^{25,26}.

Hepsidin demir metabolizmasını düzenlemenin yanında, antibakteriyel ve antifungal özellikler de gösterir. Hipoksi ve anemi durumunda karaciğer hepsidin üretimi azalırken, demir depoları yeterli düzeyde olduğunda hepsidin üretimini artırır. Böylece demirin ince bağırsaktan plazmaya geçişini bloke eder^{26,27}. Hepsidin, vücut savunması ve demir metabolizması arasında önemli bir bağ oluşturur²⁸.

SONUÇ

Bakteri popülasyonunun antibiyotik ile ilk temasında ilaç bakteriler üzerinde etkilidir; ancak yinelenen temaslara sonucu bakteri popülasyonunda antibiyotiklere karşı direnç gelişir. Farklı sınıftan birçok antibiyotiğe karşı oluşan bu 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 antibiyotiklere ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda yeni antibiyotik araştırmaları için, doğal antimikrobiyel proteinler ve sentetik türevleri büyük önem teşkil etmektedir. Fakat yeni araştırılan bir konu olması sebebi ile, antimikrobiyel proteinlerle ilgili daha fazla bilimsel çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Carnicelli V., Lizzi A.R., Ponzi A., Amicosante G., Bozzi A. and Di Giulio A. Interaction between antimicrobial peptides (AMPs) and their primary target, the biomembranes. In: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education (A. Méndez-Vilas, Ed.) FORMATEX 2013, pp. 1123-1134.
2. Brogden NK, Brogden KA. Will new generations of modified antimicrobial peptides improve their potential as pharmaceuticals? International journal of antimicrobial agents. 2011;38(3):217-225.
3. 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. 2003;22:465-478.
4. Tzeng Y.L., Ambrose K.D., Zughaier S., Zhou X., Miller Y.K., Shafer W.M., Stephens D.S. Cationic antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis*. Journal of Bacteriology. 2005;187(15): 5387-5396.
5. Brogden, KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 2005;3:238-250.
6. Anonim. 2016 Erişim adresi: http://www.turkcebilgi.com/antimikrobiyal_peptid Erişim tarihi: 01.12.2016
7. Izadpanah A, Gallo RL. Antimicrobial Peptides. Journal of the American Academy of Dermatology. 2005;52:381-390.
8. Hancock RE. The bacterial outer membrane as a drug barrier. Trends Microbiol. 1997;5:37.
9. Shai Y, Oren Z. From "carpet" mechanism to de-novo designed diastereometric cell-selective antimicrobial peptides, Peptides 2001;22:1629.
10. Palffy R, Garglik R, Behuliak M, Kadasi L, Turna J, Celec P. On the physiology and pathophysiology of antimicrobial peptides. Molecular Medicine, 2009;15(1-2): 51-59.
11. Aksoy B. Derinin doğal bağışıklık sistemi. Türkderm, 2013;47(1):2-11.
12. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. Pharmaceuticals 2014; 7: 545-594.
13. Kocuzulla R, Von Degenfeld G, Kupatt C, Krotz F, Zahler S, Gloe T. An angiogenic role for the human peptide antibiotic LL-37/hCAP-18. The Journal of Clinical Investigation 2003;111:1665-1672.
14. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity, Nat. Rev. Immunol. 2003;3:710-720.
15. Yamaguchi Y, Ouchi Y. Antimicrobial peptide defensin: identification of novel isoforms and the characterization of their physiological roles and their significance in the pathogenesis of diseases. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 2012;88(4):152-66.
16. Frye M, Bargon J, Lembecke B, Wagner TO, Gropp R. Differential expression of human alpha- and beta-defensins mRNA in gastrointestinal epithelia. Eur J Clin Invest 2000; 30: 695-701
17. Şabanoğlu E, Türütöğlu H. Hayvanlarda defensinler ve önemleri. MAE Vet Fak Derg, 2016;1 (1): 29-39.
18. Bals, R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infections. Respiratory Research. 2000;1:141-150
19. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity J. Leukoc. Biol. 2004; 75:3948.
20. Gürpınar S, Kırhan Ş. Antimikrobiyel Peptidler. İstanbul Üniv. Vet.Fak.Derg. 2010; 36(2):61-66.
21. Kaspar AA, Okada S, Kumar J, Poulain FR, Drouvalakis KA, Kelekar A. A distinct pathway of cell-mediated apoptosis initiated by granulysin. The Journal of Immunology. 2001;167:350-356.
22. Yılmaz B. Tosun H. Sütte Bulunan Doğal Antimikrobiyel Sistemler ve Bunların Gıda Sanayinde Kullanımı. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi. 2012;8(1):11-20.
23. Avcı G. Laktoferrinin Biyolojik Özellikleri ve Hastalıklarla İlişkisi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 2007;7(1): 23-34.
24. Berlutti F, Pantanella F, Natalizi T, Frioni A, Paesano R, Polimeni A, Valenti P. Antiviral properties of lactoferrin—a natural immunity molecule. Molecules. 2011;16(8):6992-7018.

25. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nature Genet.* 2003; 33:21-22.
26. Rossi E. Hepcidin-the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(3):47-49
27. Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20:665-74.
28. Ganz T. Hepcidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 2005;18 (2):171-82.