

PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS CUTÁNEOS

CUTANEOUS ANTIMICROBIAL PEPTIDES

Ximena Escovar Langebeck*, Juan Guillermo Chalela Mantilla**

RESUMEN

Los péptidos antimicrobianos cutáneos son moléculas efectoras del sistema inmune innato que actúan contra gérmenes y además cumplen otras funciones aún mal conocidas. Se hace una revisión sobre su naturaleza, origen, funciones, clasificación, utilidad práctica, así como sobre su futuro desarrollo. Brevemente se describe las defensinas, catelicidinas, bacteriocinas y lantibióticos, y granulicinas.

Palabras clave: Péptidos antimicrobianos cutáneos, defensinas, catelicidinas, antibióticos relacionados

Dermatol peru 2004;14:40-43

SUMMARY

The cutaneous antimicrobial peptides are effectors molecules of the innate immune system that acts against germs and also have other unknown functions. A revision of its nature, origin, functions, classification, practice utility and future development is made; also is briefly described defensins, cathelicidins, related antibiotics.

Key words: Cutaneous antimicrobial peptides, defensins, cathelicidins, related antibiotics

Los péptidos antimicrobianos (PAMs) son moléculas efectoras del sistema inmune innato que tienen funciones contra gérmenes, son de amplio espectro (incluyendo hongos y virus), y juegan un papel importante, aunque poco conocido hasta el momento, en los procesos inflamatorios, liberación de citoquinas, inducción inmune, cicatrización, y seguramente por todas estas razones, en la patogénesis de muchas enfermedades^(1,2).

La primera línea de defensa de la piel es el estrato córneo. Esta barrera física gracias a la acción del sistema inmune innato, y en parte por estos PAMs, puede responder de manera inmediata ante la intrusión de gérmenes y evitar una invasión más profunda⁽³⁾.

Existen en la actualidad más de 700 PAMs que son producidos por organismos de todo tipo, y en este aspecto se ha aprendido mucho de la inmunidad de los insectos, porque sus defensas no dependen de anticuerpos, ni linfocitos ya que no poseen una inmunidad adaptativa⁽⁴⁾.

¿Qué son los PAMs, y dónde se encuentran ?

Los PAMs son oligo o polipéptidos producidos por la segmentación de proteínas de alto peso molecular o péptidos que se sintetizan de forma no ribosomal en la mayoría de las bacterias o, en algunos casos, por medio de ribosomas gracias a genes que codifican para estos péptidos. Una vez producidos son almacenados en las células como propéptidos o péptidos maduros. Algunas ya se usan clínicamente como la Polimixina B y los péptidos precursores de la penicilina y las cefalosporinas^(2,3).

Los PAMs se expresan en los tejidos que están adscritos a reacciones de defensa, como son los tejidos epiteliales. Algunos son producidos de manera constitutiva y otros sintetizados al contacto con productos microbianos o mediadores proinflamatorios⁽⁵⁾.

Se puede encontrar concentraciones alteradas de PAMs en líquidos corporales de pacientes con

* Residente de tercer año de dermatología
Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia

** Médico internista y dermatólogo
Fundación Santa Fe de Bogotá. Bogotá, Colombia



enfermedades infecciosas e inflamatorias como neumonías y fibrosis quística⁽⁶⁾. También se conoce que las lesiones cutáneas inducen la liberación de catelicidina, un PAM activo contra el estreptococo del grupo A, o que la detección de lipopolisacáridos por receptores toll-like inducen la cascada de NF-KB con el consecuente aumento de beta-defensinas⁽⁷⁾.

¿Cómo se clasifican?

Los PAMs se pueden agrupar de acuerdo a su tamaño, estructura dimensional, sus aminoácidos predominantes, etc. Universalmente se pueden agrupar en cuatro grupos principales^(2,5):

- Grupo I: péptidos lineales con estructura alfa helicoidal
- Grupo II: estructuras plegadas en forma beta, estabilizadas por puentes disulfuro
- Grupo III: péptidos con predominancia de uno o mas aminoácidos
- Grupo IV: péptidos con estructuras circulares o en asa

Una clasificación mas sencilla con base en su homología estructural es la diferenciación por familias:

I- Defensinas: son péptidos catiónicos, no glicosilados, ricos en arginina, con un peso molecular entre 3.5 y 4.5 KDa y que contienen en su estructura tres cisternas que forman puentes disulfuro intramoleculares muy característicos.

a) La alfa-Defensinas tienen entre 29 a 35 aminoácidos. Fueron las primeras en ser aisladas en humanos a partir de neutrófilos en 1985. Se reconocen seis de estos PAMs en humanos, los péptidos neutrofilicos humanos 1, 2, 3 y 4 (HNP) localizados en los gránulos azurófilos de los neutrófilos, y las alfa-Defensinas 5 y 6 que se encuentran en las células de Panneth del intestino delgado controlando el sobrecrecimiento de bacterias a este nivel.

b) Las beta-Defensinas tienen de 36 a 42 aminoácidos. Sus tres puentes disulfuro están distanciados en forma diferente a las alfa-Defensinas y por eso se les dio el nombre beta. La primera beta-Defensina fue aislada de la lengua de vaca hacia 1991, pero en los humanos fue aislada por primera vez a partir de hemofiltrados. La beta-Defensina humana 1 (hBD-1) se expresa constitutivamente a nivel del tracto génito urinario y respiratorio. La hBD-2 se expresa en el epitelio de casi todas las superficies humanas internas y

en la piel. Los genes de las alfa y beta Defensinas se ubican en el cromosoma 8p23⁽⁸⁾. Recientemente se han aislado 28 nuevos genes de Defensinas humanas y 43 en el ratón pero se desconoce su función⁽⁹⁾.

c) Las teta-Defensinas se han aislado únicamente del mono rhesus y fueron nombradas así por su configuración circular. No hay evidencia sobre su presencia en otros tejidos, ni sobre sus funciones hasta el momento⁽¹⁰⁾.

II- Catelicidinas: esta familia tiene secuencias altamente conservadas, con una gran heterogeneidad en su dominio C-terminal que codifica para péptidos maduros que pueden tener entre 12 y 80 aminoácidos⁽¹¹⁾.

La única catelicidina humana conocida actualmente (LL-37) fue aislada de células mieloides, pero también se ha aislado en la piel inflamada. La LL-37 es producida en el tracto respiratorio por las mismas células productoras de beta-Defensinas en todos los epitelios y funcionan igual que éstas. En los neutrófilos es almacenada en gránulos en forma de propéptidos y segmentada por la proteasa -3 después de su liberación. Su gen se localiza en el cromosoma 18⁽¹²⁾.

III- Bacteriocinas y lantibióticos: son sintetizados ribosomalmente por muchos microorganismos. Concitan gran atención en la actualidad ya que la nisina, un tipo de lantibiótico, es un PAM muy prometedor como preservativo de alimentos.

IV- Granulicina: producida por linfocitos T citotóxicos y NK. Es muy activa contra gérmenes Gram positivos, negativos, hongos y parásitos. Está relacionada con las saponinas, pequeñas proteínas lipídicas presentes en el sistema nervioso central, pero se desconoce su actividad exacta⁽²⁾.

Se han descrito e identificado otras familias de PAMs como la democidina en la piel humana, pero tampoco se conoce su función⁽²⁾.

Funciones de los PAMs

Su principal acción es la actividad antimicrobiana contra gérmenes Gram positivos, Gram negativos, hongos y virus⁽²⁾.

Los receptores toll-like que se encuentran en las células de superficies epiteliales, células circulantes, dendríticas



y macrófagos reconocen la presencia de patrones moleculares asociados a patogenicidad en microbios o tejidos dañados y producen la activación de vías intracelulares que inducen la expresión de PAMs. La unión inicial se cree que se debe a la interacción electrostática entre los PAMs cargados positivamente y las moléculas negativas de la superficie celular. Los PAMs se depositan en forma de barril, canal o tapete, formando un poro en la membrana celular, alterando su permeabilidad y produciendo la pérdida de componentes intracelulares, iones y metabolitos que finalmente llevan a la muerte celular^(2,5).

Además de su toxicidad inespecífica, algunos PAMs, al unirse a sus receptores, activan señales intracelulares que estimulan diferentes funciones como por ejemplo la LL-37 al unirse a su receptor FPRL-1 activa la proteína G unida al receptor y produce al final una acción quimioatrayente de neutrófilos, linfocitos y monocitos e induce la liberación de IFN, IL-6 y 10 por las células T⁽¹²⁾.

La hBD-1 y 2 se une al receptor CCR6 expresado por células dendríticas inmaduras y células T de memoria; ésto se interpreta como la unión entre el mecanismo de defensa innato y adaptativo mediado por Defensinas⁽¹³⁾.

La PP-39 es una catelicidina de los neutrófilos porcinos que estimula la angiogénesis, y contribuye a la cicatrización estimulando la expresión de proteoglicanos y sindecanos.

En adición a su actividad antimicrobiana las Defensinas y Catelicidinas pueden unir lipolisacáridos e inactivar directamente las funciones de esta endotoxina⁽⁶⁾.

El impacto de estos PAMs en la patogénesis de enfermedades es completamente desconocido, pero con la evidencia nombrada anteriormente es indudable que su alteración debe desempeñar un papel muy importante en varias enfermedades en humanos y animales.

Se sabe que en la fibrosis quística el contenido de agua y sal de la biocapa que cubre el epitelio, contiene PAMs que no funcionan adecuadamente; el *Estafilococo aureus* y la *Pseudomona aeruginosa* proliferan fácilmente y se produce una respuesta inflamatoria que destruye el tejido⁽⁶⁾.

En las infecciones por *Shiguella*, este patógeno suprime la expresión de PAMs por los enterocitos, permitiendo su entrada y supervivencia en el intestino⁽³⁾.

Ong y cols.⁽¹⁴⁾ tomaron la piel lesional de pacientes con dos enfermedades inflamatorias, la psoriasis y la dermatitis atópica, y ya que las infecciones complican frecuentemente a la dermatitis atópica y no a la psoriasis, las compararon en cuanto a la expresión de PAMs hBD-2 y LL-37. El análisis inmunohistoquímico confirmó la presencia de abundante LL-37 y hBD-2 en la epidermis superficial de los pacientes con psoriasis y fue significativamente menor al compararlo con la piel lesional de los pacientes atópicos agudos ($p = 0.006$) y crónicos ($p = 0.03$). Estos péptidos actúan sinérgicamente para controlar el crecimiento de *S. aureus*, y los microorganismos en la piel de los atópicos generalmente son sensibles a estos PAMs. También se estudió el efecto de la IL4 y 13 que están anormalmente elevadas en los atópicos, sobre la LL-37 y hBD-1 y se encontró que inhiben el TNF alfa que normalmente produce un aumento en el RNA mensajero de estos dos PAMs.

Por último se midió la actividad citotóxica del LL-37 y hBD-1 y se vio que es muy buena para ambos, pero mucho mejor para el LL-37, ésto sugiere que la falta de estos PAMs en los pacientes atópicos puede contribuir a la susceptibilidad clínica que presentan al *S. aureus*⁽¹⁴⁾.

El desarrollo de resistencias contra PAMs es muy raro. Se desconoce el por qué, pero puede deberse a que los PAMs destruyen estructuras que son altamente conservadas a través de la evolución de los microorganismos por ser importantes para su crecimiento y supervivencia. No es tan fácil para los microbios cambiar la organización de sus fosfolípidos de membrana para hacer resistencia a los PAMs a diferencia de los que se observa con los antibióticos convencionales.

Por esta razón y por su amplio espectro de acción son un blanco muy atractivo para la realización de nuevos fármacos. Se han usado muchos métodos para la sustitución de aminoácidos que produzcan una mayor actividad antimicrobiana y menos citotoxicidad, pero a pesar de los múltiples reportes promisorios en la literatura, muy pocos PAMs han alcanzado niveles de estudio clínico hasta el momento. Una de las principales desventajas es que la síntesis química de estos compuestos es extremadamente costosa y se desconoce su labilidad y toxicidad in vivo.

El pexiganan (MSI-78), un derivado de la magainina, aislado de la piel de sapos africanos, fue investigado en un estudio fase III con 926 pacientes, demostrando en forma tópica una equivalencia antibiótica a la ofloxacina vía oral en el tratamiento de úlceras



polimicrobianas de pie diabético. Sin embargo no obtuvo aprobación de la FDA por requerir niveles muy altos del péptido, cercanos a los niveles tóxicos del mismo para producir su acción. Posteriormente se utilizó contra el impétigo pero no tuvo buenos resultados⁽¹⁵⁾.

El MBI-226, investigado en estudios fase II en pacientes con sepsis asociada a catéteres centrales, ha demostrado disminuir satisfactoriamente la frecuencia de infecciones por bacterias y hongos aplicado tópicamente, y sin reacciones locales serias hasta el momento⁽¹⁵⁾.

El MBI-549AN un PAM para el tratamiento del acné, finalizó estudios fase II y demostró disminuir tópicamente tanto el acné inflamatorio como el no inflamatorio⁽¹⁵⁾.

Con el extenso campo que se asoma con la reciente identificación de los péptidos antimicrobianos, se vislumbra un amplio y promisorio campo de acción e investigación que nos lleve al reconocimiento, entendimiento y aplicación de estas moléculas en el campo clínico para el futuro tratamiento de múltiples enfermedades de la piel y otros órganos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 2002; 415:389-95.
2. Hancock RE. Peptide antibiotics. *Lancet* 1997; 349:418-22.
3. Nizet V, Ohtake T, Lauth X, et al. Innate antimicrobial peptide protects the skin from invasive bacterial infection. *Nature* 2001; 414 :454-7.
4. Lehrer RI, Ganz T. Antimicrobial peptides in mammalian and insect host defense. *Curr Opin Immunol* 1999; 11:23-7.
5. Van't Hof W, Veerman EC, Helmerhorst EJ, et al. Antimicrobial peptides: properties and applicability. *Biol Chem* 2001; 382:597-619
6. Ernst RK, Yi EC, Guo L, et al. Specific lipopolysaccharide found in cystic fibrosis airway *Pseudomonas aeruginosa*. *Science* 1999; 286:1561-5.
7. Birchler T, Seibl R, Buchner K, et al. Human Toll-like receptor 2 mediates induction of the antimicrobial peptide human beta-defensin 2 in response to bacterial lipoprotein. *Eur J Immunol* 2001; 31:3131-7.
8. O'Neil DA, Porter EM, Elewaut D, et al. Expression and regulation of the human beta-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999; 163:6718-24.
9. Conejo Garcia JR, Jaumann F, Schulz S, et al. Human beta defensin 3 is an inducible antimicrobial peptide expressed in epithelial and non-epithelial tissues. *Cell Tissue Res* 2001; 306:257-64.
10. Krisanaprakornkit S, Kimball JR, Dale BA. Regulation of human beta-defensin-2 in gingival epithelial cells: the involvement of mitogen-activated protein kinase pathways, but not the NF-kappa B transcription factor family. *J Immunol* 2002;168:316-24.
11. Dorschner RA, Pestonjamas VK, Tamakuwala S, et al. Cutaneous injury induces the release of cathelicidin antimicrobial peptides active against group A *Streptococcus*. *J Invest Dermatol* 2001; 117:91-7.
12. Yang D, Chen Q, Schmidt AP, et al. LL-37, the neutrophil granule- and epithelial cell-derived cathelicidin, utilizes formyl peptide receptor-like 1 (FPRL1) as a receptor to chemoattract human peripheral blood neutrophils, monocytes, and T-cells. *J Exp Med* 2000; 192:1069-74.
13. Yang D, Chertov O, Bykovskaia S, et al. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 1999; 286:525-8
14. Ong P, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewickz M, Ganz T, Gallo R, Leung D. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Eng J Med* 2002; 347:1151-60
15. Koczulla A, Bols R. Antimicrobial peptides; current status and therapeutic potential. *Drugs* 2003; 63:389-406.