

Coordinador:

Dr. Fabio Salamanca

Elicitores de péptidos antimicrobianos: estrategia potencial contra infecciones

Ernesto Prado-Montes de Oca*

Laboratorio de Biología Molecular, Unidad Sureste de Servicios Tecnológicos, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., CONACYT, Mérida, Yucatán, México

Recibido en versión modificada: 2 de abril de 2009

Aceptado: 17 de abril de 2009

RESUMEN

Los inconvenientes del tratamiento con antibióticos, como el surgimiento de cepas multirresistentes y las reacciones adversas, han llevado a la búsqueda de alternativas. El conocimiento de las rutas de activación de la respuesta inmune innata y sus interacciones con las rutas de señalización de la respuesta inmune adaptativa podría llevar a tratamientos basados en elicidores de péptidos antimicrobianos, sustancias inocuas que producen la sobreexpresión de genes de la respuesta inmune innata, más efectivos, rápidos y seguros para combatir las infecciones, que siguen siendo un problema de salud pública mundial.

Palabras clave:
Inmunidad innata, elicitor, defensina, LL37, catelicidina, enfermedades infecciosas

SUMMARY

The drawbacks associated with antibiotic-based treatment of infectious diseases including an increase in multidrug-resistant strains and adverse reactions have lead to the search of antimicrobial peptide elicitors (APE), harmless substances that boost an over-expression of innate immunity genes. Knowledge on innate immunity activation pathways and their interactions with adaptive immunity would lead to more effective, faster and safer APE-based treatments to battle infections which still are a common public health problem worldwide.

Key words:

Innate immunity, elicitor, defensin, LL-37, cathelicidin, infectious diseases

El tratamiento tradicional de las infecciones bacterianas en la práctica médica ha sido por más de 65 años la administración de antibióticos. Sin embargo, el uso indiscriminado de éstos ha llevado al surgimiento de cepas multirresistentes¹ y con frecuencia a reacciones adversas a estos medicamentos, que van desde las fiebres inducidas por betalactámicos y sulfonamidas, toxicidades irreversibles que incluyen la ototoxicidad inducida por aminoglucósidos, síndrome de Stevens-Johnson, la toxicidad secundaria a la nitrofurantoína, síndrome de alergia a múltiples antibióticos, hasta las reacciones fatales como anafilaxis y necrosis hepática secundaria a trovafloxacina.^{2,3}

Como alternativa al uso de antibióticos, recientemente se ha propuesto la estrategia de administrar elicidores inocuos de la respuesta inmune innata, los cuales en minutos producen la síntesis de los péptidos antimicrobianos que sintetiza nuestro organismo. En humanos, los péptidos antimicrobianos más estudiados son las defensinas alfa (α),

beta (β) y la catelicidina LL37, las cuales se expresan principalmente en linfocitos circulantes y epitelios. Algunos péptidos antimicrobianos como la β -defensina 1 humana (hBD1) son expresados principalmente de manera constitutiva y otros como la β -defensina 2 humana (hBD2) son inducibles.⁴

La shigelosis, también conocida como disentería bacilar, es una de las principales enfermedades infecciosas causantes de morbilidad, mortalidad y retardo del crecimiento en niños en países desarrollados.¹ Se ha propuesto que la patogénesis de la shigelosis radica en que *Shigella sp.* transfiere un plásmido al hospedero bloqueando la expresión de LL37 y hBD1.⁵ Más aún, se ha demostrado la importancia de los péptidos antimicrobianos *in vivo* en un modelo de shigelosis en conejos a los que se les administró un elicitor de la respuesta inmune innata. En éste se estimuló la cubierta epitelial del colon y recto para producir el péptido antimicrobiano CAP18 (el análogo a LL37 en humanos), bactericida

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: Ernesto Prado-Montes de Oca. Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Unidad CONACYT, Calle 30, núm. 151, por 7 y 7^a (interior CANACNTRA), Col. García Gineres, 97070 Mérida, Yucatán, México. Correo electrónico: eprado@ciatej.net.mx

contra *Shigella* sp. La sustancia administrada fue butirato de sodio, la sal de un ácido graso de cadena corta que normalmente se produce en el colon y que por sí mismo no tiene actividad antibacteriana; su única función conocida era suministrar energía a los enterocitos del colon.⁶ En conejos, la administración de butirato de sodio produjo una reducción en la inflamación en colon, sobreexpresión significativa de CAP18 y disminución de los títulos de *Shigella* sp. en heces aproximadamente 100 veces menos a las 48 horas, y aproximadamente 10 mil veces menos a las 72 horas, en comparación con los animales control que solo recibieron solución salina.¹

Otras sustancias más comunes, incluyendo aminoácidos y sus derivados, producen efectos similares. En ensayos *in vitro* en células humanas, la isoleucina, la arginina y la albúmina de suero bovino generan la sobreexpresión de la hBD1 en células de colon humano (HCT116).⁷ Incluso muchos probióticos (suplementos alimenticios que promueven el crecimiento o actividad de bacterias principalmente del colon) utilizados actualmente actúan de forma similar, pero sus rutas de activación no se conocen a detalle, como sucede con fórmulas que se anuncian como "fortalecedoras del sistema inmune", que pudieran hacerlo por la sobreexpresión de defensinas que reclutan a la respuesta inmune adaptativa⁷ o por la inducción de linfocitos T reguladores, los cuales inhiben la diferenciación de linfocitos T efectores que de otra manera producirían la inflamación.⁸

Estos hallazgos en modelos animales y células humanas llevan a la pregunta, ¿qué tan efectivo sería utilizar elicidores de péptidos antimicrobianos para tratar enfermedades humanas? Una de las enfermedades donde el conocimiento de los elicidores tendría una aplicación es la enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal crónica resultado en parte de un defecto en el sistema sensor de microbios utilizado por las células intestinales, que lleva a la producción deficiente de péptidos antimicrobianos, específicamente hBD2, hBD3,⁹ α-defensina 5 (HD5)⁹ y α-defensina 6 (HD6).¹⁰

Este sensor de microbios es la proteína 2 de oligomerización y unión a nucleótidos (NOD2), el cual reconoce el dipéptido muramil bacteriano y promueve la expresión inducible de la hBD2.¹¹ Además, la enfermedad de Crohn es significativamente más común en pacientes que tienen ≤ 3 copias (variantes en número de copias) del gen *DEFB4* (codifica para hBD2)¹² y se ha encontrado un polimorfismo de un solo nucleótido en el gen *DEFB1* (codifica para la hBD1) asociado a la enfermedad de Crohn.^{13,14} Estos datos serán útiles si en un futuro cercano el tratamiento de la enfermedad de Crohn tuviera un enfoque más individualizado con bases farmacogenéticas, ajustándolo a las variantes en número de copias o polimorfismos de un solo nucleótido.

Por otro lado, los probióticos (microorganismos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedero) como la *Escherichia coli* Nissle 1917, mediante la flagelina,¹⁵ *Pediococcus*¹⁶ o *Lactobacillus*,¹⁷ producen sobreexpresión de hBD2. Teóricamente la administración de estos probióticos o la flagelina misma en células de epitelio intestinal, mejoraría la respuesta a la enfermedad, sin embargo, éste es un campo que

apenas se comienza a explorar y falta mucho por investigar, ya que el elicitor ideal debe restaurar el balance huésped-microbio y no solo suprimir la inflamación y la respuesta inmune adaptativa.¹⁸

Aunque se siguen utilizando modelos murinos para las enfermedades donde intervienen las defensinas, la expresión y el procesamiento de las α-defensinas intestinales (llamadas criptidinas porque se expresan en las criptas de Lieberkühn del ratón) son muy diferentes a los del humano,¹⁹ por ende se deben tomar con reserva los resultados obtenidos²⁰ y buscar modelos con mayor homología respecto a la respuesta inmune innata humana.

En resumen, un conocimiento más completo de las rutas de señalización que llevan a la expresión de péptidos antimicrobianos mediante la administración de elicidores inocuos podría ser muy útil para combatir las infecciones con el propio armamento interno de la respuesta inmune innata, disminuyendo el riesgo potencial de reacciones adversas por xenobióticos y la multirresistencia de los patógenos. Este conocimiento no solo podría ser aplicado en los ejemplos mencionados, sino a muchas otras enfermedades infecciosas que continúan siendo un problema de salud pública en el mundo.

Agradecimientos

El autor recibe apoyo del Sistema Nacional de Investigadores (SNI 41290) y agradece al doctor Luis Figuera (CIBO-IMSS, Guadalajara) los comentarios al manuscrito.

Referencias

- Raqib R, Sarker P, Bergman P, Ara G, Lindh M, Sack DA, et al. Improved outcome in shigellosis associated with butyrate induction of an endogenous peptide antibiotic. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:9178-9183.
- Baldo BA, Zhao Z, Pham NH. Antibiotic allergy: immunochemical and clinical considerations. Curr Allergy Asthma Rep 2008;8:49-55.
- Cunha BA. Antibiotic side effects. Med Clin North Am 2001;85:149-185.
- Schroder JM, Harder J. Antimicrobial skin peptides and proteins. Cell Mol Life Sci 2006;63:469-486.
- Islam D, Bandholz L, Nilsson J, Wigzell H, Christensson B, Agerberth B, et al. Downregulation of bactericidal peptides in enteric infections: a novel immune escape mechanism with bacterial DNA as a potential regulator. Nat Med 2001;7:180-185.
- Zasloff M. Inducing endogenous antimicrobial peptides to battle infections. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:8913-8914.
- Sherman H, Chapnik N, Froy O. Albumin and amino acids upregulate the expression of human beta-defensin 1. Mol Immunol 2006;43:1617-1623.
- Boirivant M, Strober W. The mechanism of action of probiotics. Curr Opin Gastroenterol 2007;23:679-692.
- Wehkamp J, Fellermann K, Stange EF. Human defensins in Crohn's disease. Chem Immunol Allergy 2005;86:42-54.
- Wehkamp J, Wang G, Kubler I, Nuding S, Gregorieff A, Schnabel A, et al. The Paneth cell alpha-defensin deficiency of ileal Crohn's disease is linked to Wnt/Tcf-4. J Immunol 2007;179:3109-3118.
- Voss E, Wehkamp J, Wehkamp K, Stange EF, Schroder JM, Harder J. NOD2/CARD15 mediates induction of the antimicrobial peptide human beta-defensin-2. J Biol Chem 2006;281:2005-2011.
- Fellermann K, Stange DE, Schaeffeler E, Schmalzl H, Wehkamp J, Bevins CL, et al. A chromosome 8 gene-cluster polymorphism with low human beta-defensin 2 gene copy number predisposes to Crohn disease of the colon. Am J Hum Genet 2006;79:439-448.
- Kocsis AK, Lakatos PL, Somogyvari F, Fuszek P, Papp J, Fischer S, et al. Association of beta-defensin 1 single nucleotide polymorphisms with Crohn's disease. Scand J Gastroenterol 2008;43:299-307.

14. Lakatos PL, Altorjay I, Mandi Y, Lakatos L, Tumpek J, Kovacs A, et al. Interaction between seroreactivity to microbial antigens and genetics in Crohn's disease: is there a role for defensins? *Tissue Antigens* 2008;71:552-559.
15. Schlee M, Wehkamp J, Altenhoefer A, Oelschlaeger TA, Stange EF, Fellermann K. Induction of human beta-defensin 2 by the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is mediated through flagellin. *Infect Immun* 2007;75:2399-2407.
16. Wehkamp J, Schmid M, Fellermann K, Stange EF. Defensin deficiency, intestinal microbes, and the clinical phenotypes of Crohn's disease. *J Leukoc Biol* 2005;77:460-465.
17. Schlee M, Harder J, Koten B, Stange EF, Wehkamp J, Fellermann K. Probiotic lactobacilli and VSL#3 induce enterocyte beta-defensin 2. *Clin Exp Immunol* 2008;151:528-535.
18. Wehkamp J, Stange EF. A new look at Crohn's disease: breakdown of the mucosal antibacterial defense. *Ann NY Acad Sci* 2006;1072:321-331.
19. Selsted ME, Ouellette AJ. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol* 2005;6:551-557.
20. Shi J, Aono S, Lu W, Ouellette AJ, Hu X, Ji Y, et al. A novel role for defensins in intestinal homeostasis: regulation of IL-1beta secretion. *J Immunol* 2007;179:1245-1253.