

## СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ОБ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДАХ КАК МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФАКТОРАХ ИММУНИТЕТА

КОКРЯКОВ В. Н., АЛЕШИНА Г. М., ШАМОВА О. В., ОРЛОВ Д. С., АНДРЕЕВА Ю. В.

Лаборатория общей патологии Отдела общей патологии и патофизиологии,  
ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН»,  
Санкт-Петербург

**Кокряков В. Н., Алешина Г. М., Шамова О. В., Орлов Д. С., Андреева Ю. В.** Современная концепция об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета // Мед. акад. журн. 2010. Т. 10. № 4. С. 149–160. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины СЗО РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Обзор посвящен современной концепции об антимикробных пептидах как молекулярных факторах иммунитета человека и животных. На основании собственных и литературных данных обосновывается положение о том, что антимикробные пептиды фагоцитов и барьерных эпителиев (дефенсины, кателицидины и др.) являются молекулами, отобранными в эволюции ответственными за инактивацию микроорганизмов и оболочечных вирусов. Наряду с этим, они также участвуют в регуляции защитно-приспособительных реакций организма при инфекции, стрессе и воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды, как непосредственно, благодаря хемотаксической и опсонизирующей активности, и способности дегранулировать тучные клетки, так и опосредованно, проявляя антиэндотоксиновую, кортикостатическую и иммунопротективную активности.

**Ключевые слова:** антимикробные пептиды, иммунитет, дефенсины, кателицидины, иммуномодулирующая активность.

**Kokryakov V. N., Aleshina G. M., Shamova O. V., Orlov D. S., Andreeva Yu. V.** Modern concept of antimicrobial peptides as molecular factors of the immunity // Med. Acad. Journ. 2010. Vol. 10. № 4. P. 149-160. Institute of Experimental Medicine NWB RAMS, St. Petersburg, Russia, 197376.

This review outlines the modern concept of antimicrobial peptides as molecular immunity factors of human and animals. On the basis of own and literature data the conception that antimicrobial peptides of phagocytes and epithelia (defensins, cathelicidins etc.) are selected in the evolution as the molecules responsible for the inactivation of bacteria and enveloped viruses is proving. In addition, antimicrobial peptides are also involved in the regulation of defense-adaptive reactions of the organism during infection, stress and exposure to adverse environmental factors both directly through chemotactic, opsonization activities and the ability of mast cells degranulation and indirectly, manifesting antiendotoxin, corticostatic and immunoprotective activities.

**Key words:** antimicrobial peptides, immunity, defensins, cathelicidins, immunomodulation.

Для корреспонденции: Алешина Галина Матвеевна, тел: (812)234-0764, факс: (812)234-9394, e-mail: galina\_aleshina@mail.ru

За последние 20 лет в области исследований молекулярно-клеточных механизмов врожденного иммунитета произошло несколько важных открытий, систематизация которых качественно изменила ряд традиционных представлений иммунологической парадигмы. Во-первых, благодаря концепции о патоген-ассоциированных молекулярных паттернах (липополисахариды, липотейхоевые кислоты, пептидогликаны, двухцепочечная РНК вирусов, метилированные по цитозину тандемы CpG ДНК бактерий и вирусов) и распознающих их рецепторах (Toll-подобные рецепторы, лектиновые рецепторы, сквенджер-рецепторы), оставлено устаревшее представление о неспецифическом характере защитных реакций в рамках блока механизмов врожденного (естественного) иммунитета [43, 44]. Во-вторых, в этот период окончательно сформировалась современная концепция о природе молекулярных механизмов, ответственных за реализацию эффекторной, в том

числе киллерной, фазы защитных реакций врожденного иммунитета [3, 4, 52, 83]. В рамках этой концепции представление о совокупности антимикробных пептидов (дефенсины, кателицидины, цекропины, магейнины и др.) и белков (лизоцим, серпроцидины, лактоферрин, пероксидазы и др.) как неотъемлемом молекулярном компоненте противoinфекционного иммунитета животных, является основополагающим. Идеологическая база этого направления исследований была заложена И.И. Мечниковым в его учении о фагоцитозе [9] и существовании гипотетической группы бактерицидных соединений лейкоцитарного происхождения, получивших наименование «цитаз», с которыми он связывал способность фагоцитов инактивировать и переваривать поглощенные микроорганизмы [10].

Наиболее интенсивно изучение антимикробных пептидов (АМП) и белков осуществлялось в течение последних десятилетий рядом научных школ, в числе

которых ведущую роль играли американская – профессора Р. Лерера [51], шведская – профессора Х. Бомана [27], французская – профессора Ж. Хоффмана [41] и канадская – профессора Р. Хэнкока [28]. Важный вклад в разработку этой проблемы внесли и отечественные ученые, которые еще в начале 70-х гг. прошлого века в Отделе Общей патологии Института экспериментальной медицины АМН СССР под руководством профессора В.Е. Пигаревского приняли совместные с кафедрой биохимии ЛГУ (зав. кафедрой профессор И.П. Ашмарин) морфо-биохимические и микробиологические исследования по поиску, выделению и структурно-функциональному анализу антимикробных пептидов (дефенсинов) и белков (гистоны, лактоферрин, миелопероксидаза) и оценке их значимости в противоинфекционном иммунитете [1, 12, 13]. Настоящая статья посвящена изложению наиболее значимых достижений сотрудников лаборатории Общей патологии Отдела Общей патологии и патофизиологи НИИ ЭМ СЗО РАМН в разработке этой проблемы за последние 10 лет.

Поиски эндогенных антимикробных соединений лейкоцитов, обеспечивающих завершенность процесса фагоцитоза, привели к открытию в начале 1960-х гг. группы низкомолекулярных катионных белков [84], первичная структура которых была расшифрована только через 20 лет [64], и которые получили в настоящее время название *дефенсины* (от английского defense – защита, оборона) [36, 52].

Первичная структура дефенсинов характеризуется рядом физико-химических признаков, среди которых необходимо отметить высокое содержание остатков основных аминокислот (аргинин, лизин, гистидин), обуславливающих положительный заряд этих молекул, и шести остатков цистеина, формирующих три дисульфидных мостика, важных в поддержании функционально значимой третичной структуры пептидов, которая характеризуется разобщением в пространстве положительно заряженных и гидрофобных боковых групп аминокислотных остатков, что придает молекулам амфипатический характер (рис. 1).

	1	2	3	4	56																												
HNP-1	A	C	C	R	I	P	A	C	I	A	G	E	R	R	Y	G	T	C	I	Y	Q	G	R	L	W	A	F	C	C				
NP-1	V	V	C	A	C	R	R	A	L	C	L	P	R	E	R	R	A	G	F	C	R	I	R	G	R	I	H	P	L	C	C	R	R
RtNP-1	V	T	C	Y	C	R	R	T	R	C	G	F	R	E	R	L	S	G	A	C	G	Y	R	G	R	I	Y	R	L	C	C	R	

Рис. 1. Первичные аминокислотные последовательности  $\alpha$ -дефенсинов млекопитающих [53].

HNP-1 –  $\alpha$ -дефенсин нейтрофилов человека; NP-1 –  $\alpha$ -дефенсин лейкоцитов кролика; RtNP-1 –  $\alpha$ -дефенсин нейтрофилов крысы. 1, 2, 3, 4, 5, 6 – порядковый номер цистеиновых остатков в молекуле.

Инвариантные аминокислотные остатки отмечены жирным шрифтом. Однобуквенное обозначение аминокислотных остатков: А – аланин, С – цистеин, Д – аспарагиновая кислота, Е – глутаминовая кислота, рЕ – пироглутаминовая кислота, F – фенилаланин, G – глицин, H – гистидин, I – изолейцин, K – лизин, L – лейцин, M – метионин, N – аспарагин, P – пролин, Q – глутамин, R – аргинин, S – серин, T – треонин, V – валин, W – триптофан, Y – тирозин

Именно благодаря последней особенности своего строения дефенсины являются клеточно- и мембранотропными поверхностноактивными соединениями, активно сорбирующимися на поверхности отрицательно заряженных микробных клеток за счет электростатических взаимодействий, а затем внедряющимися в мембраны клеток-мишеней за счет гидрофобных взаимодействий с липофильными хвостами жирных кислот фосфолипидов мембран микроорганизмов, формируя в них поры, нарушающие ионный гомеостаз и дыхательные цепи клеток [56, 66]. Относительная избирательность взаимодействия дефенсинов и других антимикробных пептидов с клеточными мембранами микроорганизмов обусловлена особенностями набора фосфолипидов, среди которых у бактерий широко представлены фосфатидилглицерол, кардиолипин и фосфатидилсерин. В дополнение к этому у грамотрицательных бактерий в наружной мембране значительную структурную роль играют липополисахариды (ЛПС), которые в своем составе содержат отрицательно заряженные остатки фосфорной кислоты, с которыми активно взаимодействуют  $\epsilon$ -аминогруппа лизина и гуанидиновая аргинина, входящие в состав антимикробных пептидов. Таким образом, АМП в ходе реализации своей антибиотической активности, наряду с основным антимикробным действием, проявляют свойства молекул, получивших в литературе название рецепторов, распознающих патоген-ассоциированные молекулярные паттерны [43, 44].

Следует, однако, подчеркнуть, что связывание дефенсинов и большинства других антимикробных пептидов с компонентами оболочек микроорганизмов носит, в отличие от классических лиганд-рецепторных взаимодействий, стереохимически независимый характер, что было показано в специальных экспериментах с использованием химически синтезированных D-энантиомерных пептидных аналогов, которые проявляли антибиотическую активность сопоставимую с таковой природных пептидов [77].

В микромолярных концентрациях дефенсины и другие антимикробные пептиды обладают широким спектром антибиотического действия на бактерии,

грибы, простейших, а также оболочечные вирусы [3, 53, 26.]. В более высоких миллимолярных концентрациях рассматриваемые соединения обычно проявляют цитотоксическую активность в отношении собственных нормальных и трансформированных (опухолевых) клеток [53, 16, 22]. В какой степени в условиях организма реализуется противоопухолевая активность антимикробных пептидов говорить в настоящее время однозначно затруднительно, поскольку во внеклеточной среде дефенсины и некоторые кателицидины (протегрины) вступают в избирательное взаимодействие с ингибиторами сериновых протеиназ (серпинами) с образованием белково-пептидных комплексов функционально неактивных в цитотоксическом отношении [60]. Совокупность этих данных позволяет видеть в дефенсидах и других антимикробных пептидах эндогенные антибиотики широкого спектра действия. Поэтому не случайно именно молекулы этого семейства были и являются предметом всесторонних сравнительно-биохимических и иммунологических исследований [3, 4, 52, 83, 45].

Накопленные в настоящее время данные о структуре этих молекул у представителей разных таксономических групп животных позволяют сделать ряд интересных выводов о закономерностях эволюции молекулярных механизмов врожденного иммунитета. Наиболее древним, из ныне известных представителей суперсемейства дефенсинов, является пептид из тела сцифоидной медузы *Aurelia aurita* – аурелин, описанный нами в совместных исследованиях с коллегами из Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН [8, 59].

Первичная структура аурелина (рис. 2) сочетает в себе признаки дефенсинов (три дисульфидные связи и положительный заряд молекул) и известных пептидов из клеток и тканей других представителей типа Стрекающие (Cnidaria) с нейротоксической активностью, проявляющих свойства блокаторов калиевых каналов [59].

Интересно, что среди обстоятельно изученной группы дефенсинов насекомых [30, 41] также встречаются пептиды (например, сапесцин В из гемолимфы мясной мухи *Sarcophaga peregrina*), проявляющие свойства ингибиторов калиевых каналов и схожие по

структуре с нейротоксинами [50]. Поэтому есть основания предполагать, что дефенсины и пептидные токсины в эволюции животного мира имели общие молекулярно-генетические корни.

Одна из задач нашего исследования была связана с изучением пептидных антибиотиков у представителя типа Кольчатых червей (Annelida) – многощетинкового кольчатого червя пескожила (*Arenicola marina*). Поскольку среди эволюционистов общепринятым является положение о том, что древние представители этого типа дали начало предкам современных членистоногих (тип Arthropoda), в том числе хелицеровым, насекомым и ракообразным, то естественно было ожидать, что в целомочитах пескожила могут быть выявлены молекулы дефенсинового семейства. Однако доминирующими антибиотическими пептидами целомочитов пескожила оказались молекулы, не относящиеся к семейству дефенсинов [7, 58]. Мы назвали их ареницинами. Отличительными структурными свойствами этих пептидов являются высокое содержание основных аминокислот и присутствие только одной дисульфидной связи, формирующей кольцеподобную структуру молекулы (ареницин-1: RWCYAYVVRVGVLRVRRCW). В связи с этим можно говорить, что в эволюции возникли и прошли отбор различные варианты структурной организации антимикробных пептидов, отличные от структуры дефенсинов. В частности, в различных таксономических группах беспозвоночных (насекомые, нематоды, асцидии) распространены пептиды семейства цекропинов [72, 27].

Важный раздел наших исследований в последнее десятилетие был связан с изучением структурно-функциональных свойств дефенсинов позвоночных. Ранее нами совместно с американскими исследователями были впервые описаны дефенсины из лейкоцитов кур, названные галлинацинами [40]. Эти пептиды принадлежат к группе β-дефенсинов. По паттерну расположения цистеинов и их сочетаний в образовании дисульфидных связей дефенсины позвоночных разделяются на три группы – α-, β- и θ-дефенсины. Для α-дефенсинов человека, кролика и крысы, первичные структуры которых были расшифрованы первыми, характерен следующий порядок замыкания дисульфидных связей: 1-6, 2-4, 3-5 (рис. 1) [53].

BgK-токсин	-VCRDWFKETACRHAKSLGNCRTS--Q--KYRAN-CAKTCELC
ShK-токсин	RSCIDTIPKSRCTAF----QCKHS----MKYRLSFCRKTCGTC
Аурелин	AACSDRAHGHICESFK--SFCKDSGRNGVKLRAN-CKKTCGLC

Рис. 2. Первичные аминокислотные последовательности аурелина [59] и токсинов морских анемонов *Stichodactyla helianthus* (ShK-токсин) и *Bumodosoma granulifera* (BgK-токсин) [31].

Инвариантные аминокислотные остатки отмечены жирным шрифтом. Пробелы в аминокислотных последовательностях сравниваемых пептидов введены с целью оптимального сопоставления структур на степень гомологии.

Обозначения аминокислотных остатков такие же, как и на рис. 1

Группа β-дефенсинов, к которой относятся галинацины, характеризуется другим паттерном расположения инвариантных аминокислотных остатков и образования дисульфидных связей: 1-5, 2-4, 3-6 (рис. 3):

В совместном проекте с Институтом биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (руководитель работ Т.В. Овчинникова) и Университетом г. Лейпцига (руководитель работ профессор Р. Хоффманн) нами впервые из лейкоцитов крови прикаспийской популяции болотной черепахи *Emis orbicularis* был выделен пептид (TBD-1, turtle beta-defensin) с универсальной антимикробной активностью, который по своим структурным свойствам может быть отнесен к β-дефенсинам [5, 70].

Следует обратить внимание на то, что отряд черепах относится к одной из древнейших групп современного класса Пресмыкающихся (Reptilia). В связи с этим у нас есть основания предполагать, что гены подобных антимикробных пептидов были в эволюции унаследованы представителями более молодых классов позвоночных – птицами и млекопитающими. Причем в классе млекопитающих впервые в эволюции произошло появление генов, ответственных за синтез α-дефенсинов [52].

У представителей группы животных, предшествующих в эволюции рептилиям – амфибий, – до настоящего времени ни биохимическими, ни молекулярно-генетическими методами не обнаружены пептиды дефенсинового семейства [30, 41]. Возможно, это связано с тем обстоятельством, что пока были исследованы только представители бесхвостых амфибий (лягушки, жабы). Что касается присутствия дефенсинов у рыб, то известна молекулярно-генетическая работа, в которой в тканях костистых рыб (*Danio rerio*, *Takifugu rubripes*, *Tetraodon nigroviridis*) выявлены гены, схожие по своей структуре с генами β-дефенсинов [85]. Нами у представителей другого подкласса костных рыб (хрящевых ганоидов) – русского осетра и севрюги из лейкоцитов крови были выделены антимикроб-

ные пептиды, первичная структура которых, может быть отнесена к фрагментам гистонов H2A [2, 21]. Пептиды дефенсинового семейства у этих объектов не обнаружены. Так же до настоящего времени нет каких-либо сведений об антимикробных пептидах у хрящевых рыб. В то же самое время из покровов морской миноги *Petromyzon marinus*, принадлежащей к самому древнему классу позвоночных животных – круглоротым (Cyclistomata), еще в 1996 г. был выделен пептид, содержащий шесть остатков цистеина и блок из трех аргинильных остатков, который имеет структурные черты пептидов дефенсинового семейства (CPCGRRRCCVRGLNVYCCF), но не может быть отнесен ни к одному из известных субсемейств дефенсинов [34].

Один из разделов наших сравнительно-биохимических исследований молекулярных факторов врожденного иммунитета у животных связан с изучением дефенсинов приматов, в частности обезьян, относящихся к семейству Мартышковых (Cercopitheciidae). Из лейкоцитов обезьяны павиана гамадрила были выделены четыре новых антибиотических пептида (PHD1-4, *Papio hamadryas defensin*) [17, 71]. Анализ первичных структур этих пептидов выявил в их молекулах консервативное расположение шести остатков цистеина, двух – глицина, двух – аргинина и глутаминовой кислоты характерное для уже изученных ранее α-дефенсинов, что позволяет отнести PHD1-4 к данной группе дефенсинов (рис. 4). Анализ антимикробной активности показал, что PHD1-4 схожи по эффективности анализируемого действия против тестируемых микроорганизмов с дефенсином человека HNP1.

Известно, что семь изоформ α-дефенсинов из лейкоцитов обезьяны макаки резус образуют две группы, причем представители одной (RMAD-1, RMAD-2, RMAD-3, *Resus macaque alpha-defensin*) проявляют высокую гомологию с HNP-1 (α-дефенсином лейкоцитов человека), а другой (RMAD-4, RMAD-5, RMAD-6, RMAD-7) – с HD5 (α-дефенсином человека, продуцируемого клетками Панета в тонком кишечнике) [74]. Как следует из анализа структур, представленных на рис. 4, для PHD-3 го-

	1	2	3	4	5	6
TAP	V	G	N	P	V	---
BNBD-1	---	---	---	---	---	---
hBD-1	G	L	G	H	R	S
GAL-1	---	---	---	---	---	---
TBD-1	---	---	---	---	---	---

Рис. 3. Первичные аминокислотные последовательности β-дефенсинов позвоночных животных.

TAP – дефенсин из эпителия трахеи коровы [35]; BNBD-1 – дефенсин из нейтрофилов коровы [65]; hBD-1 – дефенсин человека [25]; GAL-1 – дефенсин кур [40]; TBD-1 – дефенсин черепахи [70]. 1, 2, 3, 4, 5, 6 – порядковый номер цистеиновых остатков в молекуле. Инвариантные аминокислотные остатки отмечены жирным шрифтом.

Обозначения аминокислотных остатков такие же, как и на рис. 1

мология с одним из  $\alpha$ -дефенсинов лейкоцитов макаки резус RMAD-5 составила 90%, с HD-5 – 60%, гомология же с HNP-1 составила <30%. Гомология PHD-1 и PHD-2, различающихся наличием одного дополнительного остатка аргинина у PHD-1, как с PHD-3, так и с RMAD-5 и HD-5 составила 50%. Следует отметить высокую гомологию (90%) PHD-4 с HNP-1 ( $\alpha$ -дефенсином лейкоцитов человека) и отличие всего в одном аминокислотном остатке от RMAD-1. Таким образом, можно говорить, что  $\alpha$ -дефенсины из лейкоцитов павиана гамадрила, также как и  $\alpha$ -дефенсины из лейкоцитов макаки резус, образуют две группы, представители одной из которых проявляют высокую степень гомологии с энтеральным дефенсином человека HD-5, а представитель другой – очень близок к дефенсиному человека из нейтрофилов HNP-1.

Наряду с  $\alpha$ -дефенсинами в лейкоцитах крови обезьян макаки резус и павиана гамадрила мы выявили наличие представителей семейства  $\theta$ -дефенсинов [54, 71]. Первый  $\theta$ -дефенсин (RTD-1, **Resus theta-defensin**) был выделен из нейтрофилов крови макаки резус и описан по структурным и антимикробным свойствам в 1999 году в лаборатории профессора М. Селстеда [73]. Отличительной особенностью первичной структуры этого пептида явилось отсутствие у него N- и C-концевых аминокислотных остатков, которые задействованы в образовании двух пептидных связей между двумя молекулами-предшественницами по типу «голова-хвост» с образованием одной макроциклической пептидной молекулы (рис. 5). Подобные пептидные молекулы известны среди антибиотиков микробного происхождения

PhD-1	RRICRCRIGRCLGLEVYFGVCFHLHGRLARRCCR
PhD-2	RICRCRIGRCLGLEVYFGVCFHLHGRLARRCCR
PhD-3	RTCRCRLGRCSRRESYSGSCNINGRIFYSLCCR
HD-5	ATCYCRTGRCATRESLSGVCEISGRLYRLCCR
RMAD-5	RTCRCRFGRCFRRESYSGSCNINGRIFYSLCCR
PhD-4	ACYCRIPACFAGERRYGTCFYLGSRVWAFCC
HNP-1	ACYCRIPACIAGERRYGTCIFYQGRVWAFCC
RMAD-1	ACYCRIPACLAGERRYGTCFYLGSRVWAFCC

Рис. 4. Первичные аминокислотные последовательности  $\alpha$ -дефенсинов приматов.

PhD 1-4 – дефенсины нейтрофилов павиана гамадрила; RMAD – дефенсины нейтрофилов макаки резус [74]; HD-5 – энтеральный дефенсин человека [46]; HNP-1 – дефенсин нейтрофилов человека [53]. Инвариантные аминокислотные остатки отмечены жирным шрифтом.

Обозначения аминокислотных остатков такие же, как и на рис. 1

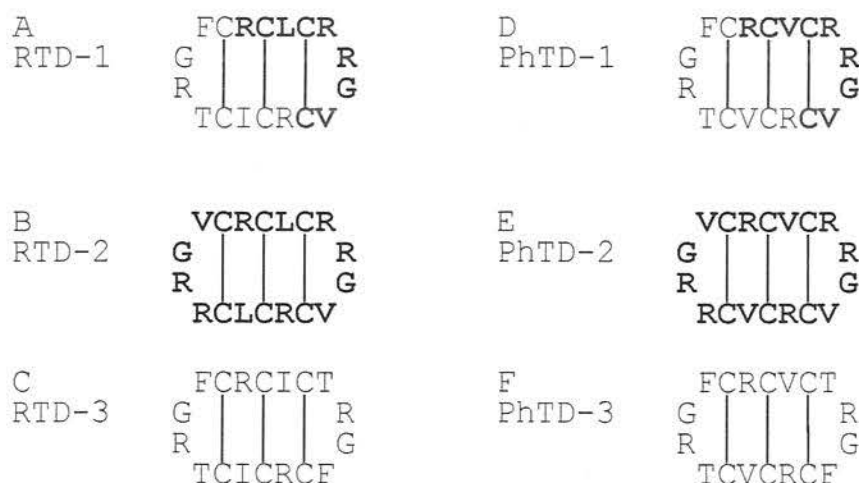


Рис. 5. Первичные аминокислотные последовательности  $\theta$ -дефенсинов приматов.

PhTD 1-3 – дефенсины нейтрофилов павиана гамадрила [71]; RTD 1-3 – дефенсины нейтрофилов макаки резус [54].

A – продукт посттрансляционной рекомбинации фрагментов молекулы-предшественницы 1 (RCLRRGVC) и молекулы-предшественницы 2 (RCICTRGFC) макаки резус; B – продукт посттрансляционной рекомбинации двух фрагментов молекулы-предшественницы 1 макаки резус; C – продукт посттрансляционной рекомбинации двух фрагментов молекулы-предшественницы 2 макаки резус; D – продукт посттрансляционной рекомбинации фрагментов молекулы-предшественницы 1 (RCVCRRGVC) и молекулы-предшественницы 2 (RCVCTRGFC) павиана гамадрила; E – продукт (гипотетический) посттрансляционной рекомбинации двух фрагментов молекулы-предшественницы 1 павиана гамадрила; F – продукт посттрансляционной рекомбинации двух фрагментов молекулы-предшественницы 2 павиана гамадрила.

Обозначения аминокислотных остатков такие же, как и на рис. 1



[47] и профенин [39] из лейкоцитов крови свиньи, а позже бактенецины из лейкоцитов овцы (OaVac 5) и козы (ChVac 5) [67]. Кроме того, недавно из лейкоцитов крови козы нами был выделен и описан пролин-богатый пептид (ChVac 3.4) с молекулярной массой 3,4 кДа, имеющий более чем 50% структурное сходство с Vac5 пептидами из лейкоцитов овцы, козы и крупного рогатого скота [68]. Все это свидетельствует о том, что в процессе эволюции в противомикробном иммунитете у животных возник широкий спектр антимикробных пептидов, относящихся к разным структурным семействам, набор которых у каждого вида индивидуален. По-видимому, подобный принцип структурного разнообразия обеспечивает надежность реализации реакций элиминации микроорганизмов на уровне барьерных эпителиев, слизистой и кожи, а также при фагоцитозе и воспалении. Необходимо подчеркнуть, что рассматриваемая система антимикробных пептидов находится в тесной кооперации с другими кислород-независимыми (лизозим, серпроцидины, бактерицидный проницаемость-увеличивающий белок, лактоферрин) и кислород-зависимыми (НАДФН-оксидазная система, фенолоксидазная система, пероксидазные системы) молекулярными механизмами инактивации и деструкции микроорганизмов, обеспечивая эффективность иммунных реакций организма человека и животных [3].

В отличие от конвенциональных антибиотиков микробного происхождения, получивших широкое распространение в медицинской практике, антимикробные пептиды животных (дефенсины, кателицидины, аурулин, ареницины и др.) способны не только осуществлять прямое микробоцидное действие, но и участвуют в защитных реакциях в качестве регуляторных иммуномодулирующих соединений.

В настоящее время установлено, что дефенсины и кателицидины человека обладают хемотаксической активностью для некоторых типов клеток иммунной системы. Если хемотаксическая активность дефенсинов человека HNP 1-3 для моноцитов была установлена еще в конце 80-х годов [75], то способность изоформ  $\beta$ -дефенсинов человека HBD-2 и мыши MBD-2 выступать в роли эндогенных хемоаттрактантов для незрелых дендритных клеток [78] представляет особый интерес в связи с тем, что в рассматриваемом случае выявлен рецептор дефенсиновых молекул, представляющий собой CCR6 молекулу, ранее описанную как рецептор эндогенного хемокина для незрелых дендритных клеток MIP-3 $\alpha$ . Группа американских исследователей во главе с профессором Дж. Оппенгеймом предполагает, что именно с хемотаксической активностью для незрелых дендритных клеток некоторых изоформ дефенсинов связана их способность выступать в роли

эндогенных адьювантов – пептидных соединений, усиливающих реакции приобретенного (адаптивного) иммунитета. Было показано, что взаимодействие HBD-2 с незрелыми дендритными клетками способствует дифференцировке последних в зрелые формы, являющиеся эффективными антигенпредставляющими клетками. Это свойство дефенсинов было подтверждено в опытах на мышах с целью создания у них эффективного противоопухолевого иммунитета [78]. Еще более широким спектром хемоаттрактантной активности для клеток иммунной системы обладает кателицидин человека пептид LL37, который является хемокиновой молекулой для нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, тучных клеток и некоторых Т-лимфоцитов, обеспечивая мобилизацию клеток иммунной системы в индуктивную фазу иммунного ответа. Существенно важно, что на всех рассмотренных клетках иммунной системы выявлен рецептор FPRL-1 (formyl peptide receptor-like 1), с которым избирательно связывается LL-37 [79]. Дефенсины могут оказывать модулирующее влияние на иммунные реакции человека и животных, благодаря их способности дегранулировать тучные клетки и инициировать провоспалительную симптоматику [24]. Иммуномодулирующее действие дефенсинов может быть также опосредовано их способностью коиндуцировать продукцию TNF- $\alpha$  и интерлейкина 1 $\beta$  моноцитами человека, стимулированными бактериями [32]. Один из предполагаемых вариантов реализации этого процесса может заключаться в ускорении превращения про-ИЛ-1 $\beta$  в зрелую, секретируемую клетками форму ИЛ-1 $\beta$  на уровне инфламасом [61].

Непрямое иммуномодулирующее воздействие  $\beta$ -дефенсины человека могут оказывать, усиливая продукцию эпителием дыхательных путей хемокина ИЛ-8, который является основным хемотаксическим фактором нейтрофилов [76]. Большинство рассматриваемых эффектов антимикробных пептидов могут в той или иной степени рассматриваться как преимущественно провоспалительные. В то же время накопились свидетельства того, что дефенсины, кателицидины и некоторые антимикробные белки (бактерицидный проницаемость-увеличивающий белок, лактоферрин) обладают способностью снижать индуцированный синтез провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками. Так, в работе К. Майлс (М. Грея) с сотрудниками [57] выявлена способность человеческих дефенсинов HNP 1-3 подавлять продукцию интерлейкина-1 $\beta$  моноцитами/макрофагами человека и мыши и оказывать таким образом противовоспалительное действие. Нашими исследованиями было показано, что парентеральное введение гомологичных дефенсинов крысам снижает ЛПС-индуцированный подъем уровня ИЛ-1 $\beta$  в крови лабораторных животных [49]. Известно, что

антимикробные пептиды (LL-37, бактенецины, протегрины и в меньшей степени дефенсины) избирательно связывают липополисахариды, подавляя при этом способность последних активировать продукцию провоспалительных цитокинов макрофагами. В лаборатории профессора Хэнкока (Канада) было впервые продемонстрировано, что антибиотические пептиды (дефенсины человека HNP-1 и HBD-2, индолицидин из лейкоцитов крупного рогатого скота, полифемузин и некоторые синтетические поликатионы) ингибируют процесс связывания ЛПС с ЛПС-связывающим белком и рецептором CD14 и благодаря этому подавляют ЛПС-индуцированную продукцию TNF- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  макрофагами в условиях *in vitro* [63, 28].

Необходимо подчеркнуть, что способность пептидов связывать ЛПС в условиях *in vitro* не всегда приводит к снижению ЛПС-индуцируемой продукции ИЛ-1 $\beta$  мононуклеарными клетками в условиях целого организма. В наших экспериментах было исследовано влияние антибиотических пептидов (профенин-1, протегрин-1, PR39, дефенсин из лейкоцитов черепахи TBD-1, дефенсины человека HNP 1-3, ареницин-1) на экспрессию гена ИЛ-1 $\beta$  мононуклеарами крови крыс в ответ на внутривенное введение ЛПС. Установлено, что все испытываемые пептиды ингибируют ЛПС-индуцированную экспрессию гена интерлейкина-1 $\beta$  мононуклеарами крови лабораторных животных, за исключением ареницина, хотя эффективность связывания ареницином ЛПС *in vitro* не отличалась от таковой профенина-1, протегрина-1, PR39 и TBD-1. В то же время ЛПС-связывающая активность дефенсинов человека была существенно ниже таковой, характерной для других пептидов, но это не уменьшало их способности в сравнении с другими пептидами ингибировать экспрессию гена провоспалительного цитокина [6].

От степени аффинности АМП к ЛПС может зависеть и их антимикробное действие. Так, чувствительность грамотрицательных микроорганизмов к АМП напрямую связана со способностью последних избирательно взаимодействовать с ЛПС клеточной стенки бактерий. Нами совместно с американскими коллегами было показано, что штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, чувствительные к действию протегрина-1 (цистинсодержащего пептида из лейкоцитов свиньи) имеют больше сайтов связывания пептида по сравнению с устойчивыми к действию АМП штаммами *Burkholderia cepacia*, благодаря тому, что протегрины более эффективно связываются с липидом А в составе ЛПС *P. aeruginosa*, чем с липидом А *B. cepacia* [23].

Наряду с рассмотренными выше данными о влиянии антимикробных пептидов на продукцию ИЛ-1 $\beta$ , необходимо учитывать известные факты о

том, что TNF- $\alpha$  и интерлейкин 1 $\beta$  в различных модельных системах индуцируют синтез и секрецию  $\beta$ -дефенсинов эпителиальными клетками [62]. Это позволяет предположить, что между дефенсинами и провоспалительными цитокинами существует функциональная кооперация в формировании иммунных реакций при инфекционной патологии. Способность дефенсинов и других антимикробных пептидов усиливать поглотительную фазу и дыхательный взрыв в нейтрофилах и моноцитах/макрофагов, можно также рассматривать в качестве молекулярной основы модуляции реакций, вовлеченных в противоинфекционный иммунитет [38, 28]. Необходимо подчеркнуть, что все рассмотренные иммуномодулирующие свойства дефенсинов, кателицидинов и других антимикробных пептидов имеют место, как правило, при наномолярных концентрациях и сохраняются в присутствии сыворотки (плазмы) крови.

Большинство рассмотренных эффектов антимикробных пептидов являются иммуностимулирующими, способствующими реализации и регуляции защитных реакций при фагоцитозе, воспалении и на уровне барьерных эпителиев. В этом плане также можно рассматривать функцию антимикробных пептидов, связанную с их способностью подавлять стероидогенез клетками коркового слоя надпочечников, индуцированный адренокортикотропным гормоном (АКТГ) *in vitro* [69], а также АКТГ- и стресс-индуцированную продукцию глюкокортикоидов *in vivo* [18, 48]. Есть основание полагать, что именно с кортикостатической активностью некоторых фракций дефенсинов связан их иммунопротективный эффект, заключающийся в том, что введение экзогенных дефенсинов до стрессорного воздействия отменяет стресс-индуцированное угнетение гуморального иммунного ответа (образование антител на эритроциты барана). В продолжение этих исследований было показано, что парентеральное введение дефенсинов также отменяет иммуносупрессию, обусловленную фармакологическими дозами гидрокортизона [20]. Последний эффект по результатам наших исследований может быть обусловлен не только прямым конкурентным взаимодействием дефенсинов с кортикостатической активностью с рецептором АКТГ, но и опосредован избирательным взаимодействием дефенсинов человека с транскортином плазмы крови, который является переносчиком глюкокортикоидов, доставляющим их к поверхности клеток-мишеней и является одним из представителей белкового семейства серпинов [19]. Введение экзогенных дефенсинов, благодаря их селективному взаимодействию с транскортином, может снижать концентрацию глюкокортикоидов доступных для клеток иммунной системы, снимая, в частности, эффект экспериментальной иммуносупрессии на животных (мыши, крысы). Таким



образом, дефенсины можно рассматривать в качестве иммунопептидов, выступающих в роли медиаторов нейроэндокриноиммунных взаимодействий [48].

Можно предположить, что некоторые иммуномодулирующие эффекты дефенсинов, в том числе и реализуемые при инфекционной патологии и стрессе, связаны с установленной способностью дефенсинов регулировать активность ионных каналов. Так, в 1991 г. было показано, что кортикостатические дефенсины человека и животных активируют кальциевые каналы L-типа в клетках эпителия кишечника [55]. Нами в серии совместных работ с сотрудниками лаборатории физиологии возбудимых мембран Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (руководитель лаборатории профессор Б. В. Крылов) была впервые изучена способность дефенсинов кролика модулировать потенциал-чувствительность медленных натриевых каналов нейронов спинного мозга крыс. Было установлено, что в пико- и наномолярных концентрациях, которые не являются цитотоксическими и бактерицидными, дефенсины избирательно взаимодействуют с рецепторами серотонина, снижая возбудимость клеточной мембраны сенсорного нейрона. Физиологическим следствием подобного взаимодействия является повышение порога болевой чувствительности и формирование анальгетического состояния у животных. Таким образом, дефенсины, как секретируемые лейкоцитами, так и синтезиру-

емые *in situ* в центральной нервной системе [42], могут вовлекаться в формирование опиоид-независимой анальгезии, которую можно рассматривать в качестве одного из факторов снижающих выраженность воспалительных реакций [11, 15, 14].

Таким образом, можно утверждать, что дефенсины и некоторые другие антимикробные пептиды, благодаря особенностям их структуры, являются эффективными эндогенными антибиотическими соединениями, в значительной степени определяющими киллерную фазу фагоцитарного процесса и обеспечивающими инактивацию микроорганизмов на уровне клеточно-тканевых образований, пограничных к инфекции (внешние покровы, слизистые кишечного, респираторного и урогенитального трактов). Наряду с антибиотической активностью антимикробные пептиды в низких концентрациях (нано-, пикомоли) могут проявлять и другие функциональные свойства (хемотаксическая и опсонизирующая активности, дегрануляторы тучных клеток, антиэндотоксиновая, кортикостатическая и иммунопротективная активности, модуляторы активности ионных каналов и т.д.), важные в реализации защитно-приспособительных реакций организма как при инфекции и стрессе, так и при воздействии неблагоприятных факторов окружающей среды (рис. 7).

Работа поддержана грантами РФФИ № 09-04-01655а и 09-03-12192-офи-м.

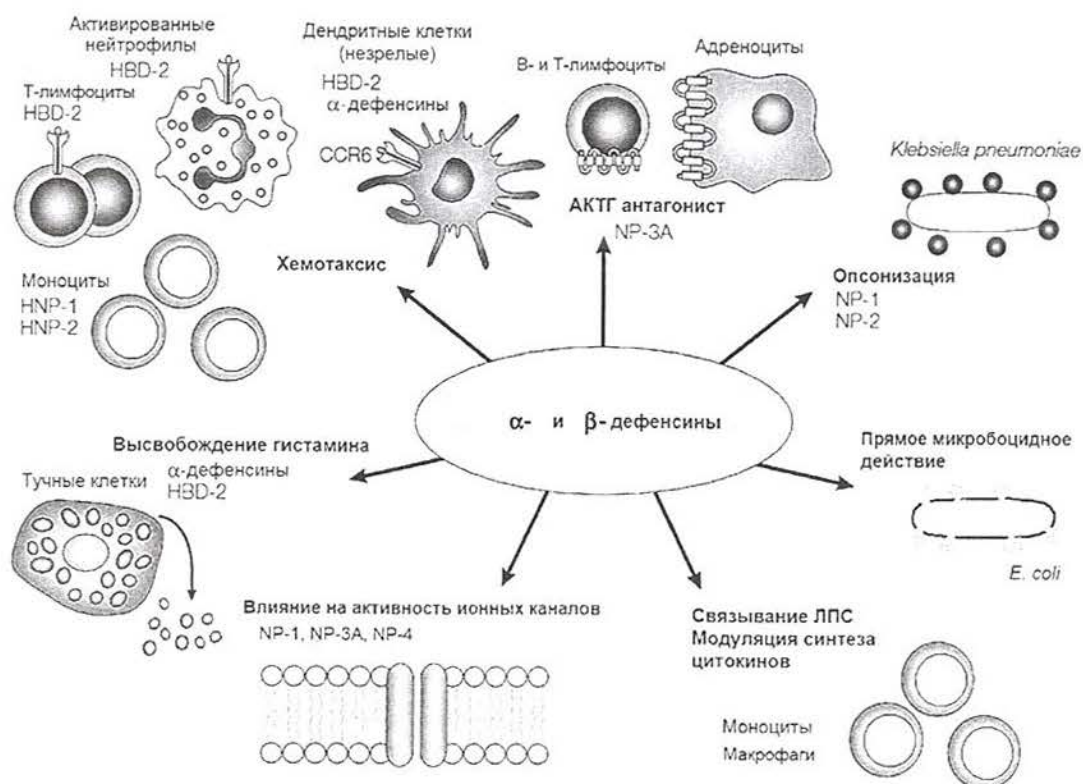


Рис. 7. Схема, отражающая функциональную активность дефенсинов [51] (с изменениями и дополнениями).

NP-1, 2, 3A, 4 – α-дефенсины нейтрофилов кролика; HNP-1, 2 – α-дефенсины нейтрофилов человека; HBD-2 – β-дефенсин человека; CCR6 – рецептор к MIP-α и HBD-2 на незрелых дендритных клетках; АКТГ – адренкортикотропный гормон

## Литература

1. Ашмарин И.П., Ждан-Пушкина С.М., Кокряков В.Н. и др. Антибактериальные и противовирусные функции основных белков клетки и перспективы практического их использования // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1972. № 4. С. 502–508.
2. Зуганрова О.Н., Шамова О.В., Орлов Д.С. и др. Изучение антимикробных пептидов себрюги (*Acipenser stellatus*) // Вестн. Санкт-Петербургского университета. Серия 3 Биология. 2007. Вып. 3. С. 89–98.
3. Кокряков В.Н. Биология антибиотиков животного происхождения. СПб.: Наука, 1999. 162 с.
4. Кокряков В.Н. Очерки о врожденном иммунитете. СПб.: Наука, 2006. 261 с.
5. Колобов А.А., Шамова О.В., Кокряков В.Н. Изучение антимикробных пептидов европейской болотной черепахи *Emys orbicularis* // Вестн. Санкт-Петербургского университета. Серия 3 Биология. 2007. Вып. 3. С. 99–107.
6. Корнева Е.А., Алешина Г.М., Перекрест С.В. и др. Конструирование лекарственных средств нового поколения на основе пептидных антибиотиков животного происхождения. // Тезисы Итоговой конференции по результатам выполнения мероприятий за 2009 год в рамках приоритетного направления «Живые системы» ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2012 годы» 25–27 ноября 2009 года. М. 2009. С. 42–43.
7. Краснодембская А.Д., Алешина Г.М., Лодыгин П.А. и др. Новые антимикробные пептиды из целоцитов пескожила *Arenicola marina* // Вестн. Санкт-Петербургского университета. Серия 3 Биология. 2001. Вып. 4. С. 104–108.
8. Меньшенин А.В., Алешина Г.М., Клушевская Е.С. и др. Новый антимикробный пептид из сцифоидной медузы *Aurelia aurita* // Вестн. Санкт-Петербургского университета. Серия 3 Биология. 2006. Вып. 4. С. 116–122.
9. Мечников И.И. Лекции о сравнительной патологии воспаления. СПб.: Издание К.Л. Риккера, 1892. 162 с.
10. Мечников И.И. Невосприимчивость в инфекционных болезнях. СПб.: Издание К.Л. Риккера, 1903. 604 с.
11. Ноздрачев А.Д., Крылов Б.В., Сабанов В.С. и др. Эндогенные антибиотики дефенсины как возможные регуляторы функционирования натриевых каналов нейронов спинномозговых ганглиев // ДАН. 1997. Т. 355. № 5. С. 705–707.
12. Пигаревский В.Е. Лизосомально-катионный тест // Патол. физиол. и экспер. тер. 1975. № 3. С. 86–88.
13. Пигаревский В.Е. Новое в клинико-морфологической оценке функционального состояния нейтрофильных гранулоцитов // Клиническая морфология нейтрофильных гранулоцитов. Л., 1988. С. 3–11.
14. Плахова В.Б., Рогачевский И.В., Щеголев Б.Ф. и др. Дефенсин NP-4 уменьшает потенциалочувствительность медленных натриевых каналов сенсорных нейронов // Сенсорные системы. 2005. Т. 19. № 2. С. 123–131.
15. Плахова В.Б., Щеголев Б.Ф., Ноздрачев А.Д. и др. Рецептор дефенсина: возможный механизм снижения возбудимости мембраны сенсорного нейрона // ДАН. 2000. Т. 375. № 6. С. 843–846.
16. Плескач В.А., Алешина Г.М., Арцыбашева И.В. и др. Цитотоксическое и митогенное влияние антимикробных пептидов нейтрофилов на культивируемые клетки // Цитология. 2000. Т. 42. № 3. С. 228–233.
17. Цветкова Е.В., Алешина Г.М., Шамова О.В. и др.  $\alpha$ -Дефенсины из лейкоцитов крови обезьяны *Papio hamadryas* // Биохимия. 2006. Т. 71. Вып. 8. С. 1083–1090.
18. Шамова О.В., Лесникова М.П., Кокряков В.Н. и др. Действие дефенсинов на уровень кортикостерона в крови и иммунный ответ при стрессе // Бюл. эксп. биол. и мед. 1993. Т. 115. № 6. С. 646–649.
19. Шамова О.В., Орлов Д.С., Абрамова О.А., Кокряков В.Н. Изучение влияния антимикробных пептидов из семейства дефенсинов на кортикостероидсвязывающую функцию транскортина // Материалы Объединенного иммунологического форума, Санкт-Петербург, 30 июня–5 июля 2008 г. // Рос. иммунол. журн. 2008. Т. 2 (11). № 2–3. С. 265.
20. Шамова О.В., Орлов Д.С., Лесникова М.П. и др. Отмена дефенсином иммуносупрессии, обусловленной стрессом или введением высоких доз гидрокортизона // Успехи физиол. наук. 1995. № 1. С. 113–114.
21. Шамова О.В., Орлов Д.С., Овчинникова Т.В. и др. Антимикробные пептиды из лейкоцитов русского осетра (*Acipenser guldenstadti*) // Фундаментальные исследования. 2006. № 1. С. 10–13.
22. Шамова О.В., Сакута Г.А., Орлов Д.С. и др. Действие антимикробных пептидов нейтрофилов на опухолевые и нормальные клетки в культуре // Цитология. 2007. Т. 49. № 12. С. 1000–1010.
23. Albrecht M.T., Wang W., Shamova O. et al. Binding of protegrin-1 to *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* // Respir. Res. 2002. Vol. 3. P. 18–28.
24. Befus A.D., Mowat C., Gilchrist M. et al. Neutrophil defensins induce histamine secretion from mast cells: mechanisms of action // J. Immunol. 1999. Vol. 163. № 2. P. 947–953.
25. Bensch K.W., Raida M., Magert H.-J. et al. hBD-1: A novel  $\beta$ -defensin from human plasma // FEBS Lett. 1995. Vol. 368. P. 331–335.
26. Boman H.G. Peptide antibiotics and their role in innate immunity // Annu. Rev. Immunol. 1995. Vol. 13. P. 61–92.
27. Boman H.G. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts // J. Intern. Med. 2003. Vol. 254. № 3. P. 197–215.

28. Bowdish D.M., Davidson D.J., Hancock R.E. Immunomodulatory properties of defensins and cathelicidins // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006. Vol. 306. P. 27–66.
29. Bowdish D.M., Davidson D.J., Lau Y.E. et al. Impact of LL-37 on anti-infective immunity // *J. Leukoc. Biol.* 2005. Vol. 77. № 4. P. 451–459.
30. Bulet P., Stocklin R., Menin L. Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates // *Immunological Rev.* 2004. Vol. 198. P. 169–184.
31. Castañeda O., Sotolongo V., Amor A.M. et al. Characterization of a potassium channel toxin from the Caribbean Sea anemone *Stichodactyla helianthus* // *Toxicon.* 1995. Vol. 33. № 5. P. 603–613.
32. Chaly Y.V., Paleolog E.M., Kolesnikova T.S. et al. Neutrophil alpha-defensin human neutrophil peptide modulates cytokine production in human monocytes and adhesion molecule expression in endothelial cells // *Eur. Cytokine Netw.* 2000. Vol. 11. № 2. P. 257–266.
33. Cole A.M., Wang W., Waring A.J., Lehrer R.I. Retrocyclins: using past as prologue // *Curr. Prot. Pept. Sci.* 2004. Vol. 5. P. 373–381.
34. Conlon J.M., Sower S.A. Isolation of a peptide structurally related to mammalian corticostatins from lamprey *Petromyzon marinus* // *Comp. Biochem. Physiol.* 1996. Vol. 114B. № 2. P. 133–137.
35. Diamond G., Zasloff M., Eck H. et al. Tracheal antimicrobial peptide, a novel cysteine-rich peptide from mammalian tracheal mucosa: Peptide isolation and cloning of a cDNA // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. Vol. 88. P. 3952–3956.
36. Ganz T., Selsted M.E., Szklarek D. et al. Defensins. Natural peptide antibiotics of human neutrophils // *J. Clin. Invest.* 1985. Vol. 76. № 4. P. 1427–1435.
37. Garcia A.E., Osapay G., Tran P.A. et al. Isolation, synthesis, and antimicrobial activities of naturally occurring theta-defensin isoforms from baboon leukocytes // *Infect. Immunol.* 2008. Vol. 76. № 12. P. 5883–5891.
38. Ginsburg I. Cationic polyelectrolytes: a new look at their possible roles as opsonins, as stimulators of respiratory burst in leukocytes, in bacteriolysis, and as modulators of immune- complex diseases (a review hypothesis) // *Inflammation.* 1987. Vol. 11. № 4. P. 489–515.
39. Harwig S.S.L., Kokryakov V.N., Swiderek K.M. et al. Prophenin-1, an exceptionally proline-rich antiviral peptide from porcine leukocytes // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 362. № 1. P. 65–69.
40. Harwig S.S.L., Swiderek K.M., Kokryakov V.N. et al. Gallinacins: Cystein – rich antimicrobial, peptides of chicken leukocytes // *FEBS Lett.* 1994. Vol. 342. P. 281–285.
41. Hoffmann J.A. The immune response of *Drosophila* // *Nature.* 2003. Vol. 426. № 6962. P. 33–38.
42. Hu J., Jothy S., Solomon S. Localization and measurement of corticostatin-1 in nonpregnant and pregnant rabbit tissues during late gestation // *Endocrinology.* 1993. Vol. 132. № 6. P. 2351–2359.
43. Janeway C.A. Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 1989. Vol. 54. P. 1–13.
44. Janeway C.A., Medzhitov R. Innate immunity recognition // *Annu. Rev. Immunol.* 2002. Vol. 20. P. 197–216.
45. Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E. Peptide antimicrobial agents // *Clin. Microbiol. Rev.* 2006. Vol. 19. № 3. P. 491–511.
46. Jones D.E., Bevins C.L. Paneth cells of the human small intestine express an antimicrobial peptide gene // *J. Biol. Chem.* 1992. Vol. 267. P. 23216–23225.
47. Kokryakov V.N., Harwig S.S.L., Panyutich E.A. et al. Protegrins: leukocyte antimicrobial peptides combine features of corticostatic defensins and tachyplesins // *FEBS Lett.* 1993. Vol. 327. № 2. P. 231–236.
48. Korneva E.A., Kokryakov V.N. Defensins: antimicrobial peptides with a broad spectrum of biological activity // *Neuroimmune Biology.* 2003. Vol. 3. P. 451–462.
49. Korneva E.A., Rybakina E.G., Orlov D.S. et al. Interleukin-1 and defensins in thermoregulation, stress, and immunity // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1997. Vol. 813. P. 465–473.
50. Lee S.R., Kurata S., Natori S. Molecular cloning of cDNA for sapecin B, an antibacterial protein of *Sarcophaga* and its detection in larval brain // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 368. № 3. P. 5485–5487.
51. Lehrer R.I. Primate defensins // *Nat. Rev. Microbiol.* 2004. Vol. 2. № 9. P. 727–738.
52. Lehrer R.I., Ganz T. Defensins of vertebrate animals // *Curr. Opin. Immunol.* 2002. Vol. 14. P. 96–102.
53. Lehrer R.I., Lichtenstein A.K., Ganz T. Defensins: Antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells // *Annu. Rev. Immunol.* 1993. Vol. 11. P. 105–128.
54. Leonova L.E., Kokryakov V.N., Aleshina G.M. et al. Circular minidefensins and posttranslational generation of molecular diversity // *J. Leukocyte Biol.* 2001. Vol. 70. P. 461–464.
55. Macleod R.J., Hamilton J.R., Bateman A. et al. Corticostatic peptides cause nifedipine-sensitive volume reduction in jejunal villus enterocytes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1991. Vol. 88. P. 552–556.
56. Matsuzaki K. Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. Vol. 1462. P. 1–10.
57. Miles K., Clarke D.J., Lu W. et al. Dying and necrotic neutrophils are anti-inflammatory secondary to the release of alpha-defensins // *J. Immunol.* 2009. Vol. 183. № 3. P. 2122–2132.
58. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V. et al. Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina* // *FEBS Lett.* 2004. Vol. 577. P. 209–214.
59. Ovchinnikova T.V., Balandin S.V., Aleshina G.M. et al. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006. Vol. 348. № 2. P. 514–523.

60. Panyutich A.V., Hiemstra P.S., van Wetering S., Ganz T. Human neutrophil defensin and serpins form complexes and inactivate each other // *Am. J. Resp. Cell Mol. Biol.* 1995. Vol. 12. P. 351–357.
61. Perregaux D.G., Bhavsar K., Contillo L. et al. Antimicrobial peptides initiate IL-1 beta posttranslational processing: a novel role beyond innate immunity // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168. № 6. P. 3024–3032.
62. Schröder J.M., Harder J. Human beta-defensin-2 // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1999. Vol. 31. P. 645–651.
63. Scott M.G., Vreugdenhil A.C., Buurman W.A. et al. Cutting edge: cationic antimicrobial peptides block the binding of lipopolysaccharide (LPS) to LPS binding protein // *J. Immunol.* 2000. Vol. 164. № 2. P. 549–553.
64. Selsted M.E., Brown D.M., De Lange R.J., Lehrer R.I. Primary structures of MCP-1 and MCP-2, natural peptide antibiotics of rabbit lung macrophages // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 258. № 23. P. 14485–14489.
65. Selsted M.E., Tang Y.-Q., Morris W.L. et al. Purification, primary structures, and antibacterial activities of beta-defensins, a new family of antimicrobial peptides from bovine neutrophils // *J. Biol. Chem.* 1993. Vol. 268. P. 6641–6648.
66. Shai Y. Mechanism of binding, insertion and destabilization of phospholipid bilayer membranes by helical antimicrobial and non-selective membrane-lytic peptides // *Biochim. Biophys. Acta.* 1999. Vol. 1462. P. 55–70.
67. Shamova O.V., Brogden K.A., Zhao C. et al. Purification and properties of proline-rich antimicrobial peptides from sheep and goat leukocytes // *Infection and Immunity.* 1999. Vol. 67. № 8. P. 4106–4111.
68. Shamova O., Orlov D., Stegemann Ch. et al. ChBac3.4: A novel proline-rich antimicrobial peptide from goat leukocytes // *Int. J. Pept. Res. Ther.* 2009. Vol. 15. № 2. P. 107–119.
69. Solomon S. Corticostatsins // *TEM.* 1993. Vol. 4. № 8. P. 260–264.
70. Stegeman Ch., Kolobov A.A., Leonova Yu.A. et al. Isolation, purification and de novo sequencing of TBD-1, the first beta-defensin from leukocytes of reptiles // *Proteomics.* 2009. Vol. 9. P. 1364–1373.
71. Stegemann C., Tsvetkova E.V., Aleshina G.M. et al. De novo sequencing of two new cyclic theta-defensins from baboon (*Papio hamadryas*) leukocytes by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2010. Vol. 24. № 5. P. 599–604.
72. Steiner H., Hultmark D., Engstrom A. et al. Sequence and specificity of two antibacterial proteins involved in insect immunity // *Nature.* 1981. Vol. 292. P. 246–248.
73. Tang Y.-Q., Yuan J., Osapay G. et al. A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the legation of the two truncated  $\alpha$ -defensins A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the legation of the two truncated  $\alpha$ -defensins // *Science.* 1999. Vol. 286. P. 498–502.
74. Tang Y.-Q., Yuan J., Miller C.J., Selsted M.E. Isolation, characterization, cDNA cloning, and antimicrobial properties of two distinct subfamilies of alpha-defensins from rhesus macaque leukocytes // *Infect. Immunol.* 1999. Vol. 67. № 11. P. 6139–6144.
75. Territo M.C., Ganz T., Selsted M.E., Lehrer R.I. Monocyte chemotactic activity of defensins from human neutrophils // *J. Clin. Invest.* 1989. Vol. 84. № 6. P. 2017–2020.
76. Van Wetering S., Manesse-Lazeroms S., Van Sterkenburg M. et al. Effect of defensins on interleukin-8 synthesis in airway epithelial cells // *Am. J. Physiol.* 1997. Vol. 272. P. L888–L896.
77. Wade D., Boman A., Wahlin B. et al. All D-amino acid-containing channel-forming antibiotic peptides // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. Vol. 87. P. 4761–4765.
78. Yang D., Biragyn A., Kwak L., Oppenheim J.J. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal // *Trends in Immunol.* 2002. Vol. 23. № 6. P. 291–296.
79. Yang D., Chen Q., Schmidt A.P. 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. Vol. 192. P. 1069–1074.
80. Zanetti M. Cathelicidins, multifunctional peptides of the innate immunity // *J. Leukoc. Biol.* 2004. Vol. 75. P. 39–48.
81. Zanetti M., Gennaro R., Romeo D. Cathelicidins: A novel protein family with a common proregion and a variable C-terminal antimicrobial domain // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 374. P. 1–5.
82. Zanetti M., Litteri L., Gennaro R. et al. Bactenecins, defense polypeptides of bovine neutrophils, are generated from precursor molecules stored in the large granules // *J. Cell. Biol.* 1990. Vol. 111. P. 1363–1371.
83. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms // *Nature.* 2002. Vol. 415. № 6870. P. 389–395.
84. Zeya H.I., Spitznagel J.K. Antibacterial and enzymatic basic protein from leukocyte lysosomes: separation and identification // *Science.* 1963. Vol. 142. P. 1085–1087.
85. Zou J., Mercier C., Koussounadis A., Secombes C. Discovery of multiple beta-defensin like homologues in teleost fish // *Mol. Immunol.* 2007. Vol. 44. № 4. P. 638–647.