

## АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ – ПЕРВАЯ ЛИНИЯ АНТИИНФЕКЦИОННОЙ ЗАЩИТЫ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ПУТЕЙ

**О.П. Лебедева<sup>1</sup>**  
**Н.А. Рудых<sup>1</sup>**  
**И.С. Полякова<sup>1</sup>**  
**С.П. Пахомов<sup>1</sup>**  
**М.И. Чурносков<sup>1</sup>**  
**Н.И. Самборская<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Белгородский  
государственный  
университет*

<sup>2</sup>*Перинатальный центр  
областной клинической больницы  
им. Святителя Иоасафа, г. Белгород*

*e-mail:safonova2@yandex.ru*

В статье изложены данные литературы, посвященные некоторым механизмам врожденного иммунитета женских половых путей: антимикробным пептидам, оказывающим прямой антимикробный и иммуномодулирующий эффект, и образраспознающим рецепторам, обеспечивающим информирование организма о проникновении патогена. В обзоре представлен краткий анализ роли вышеуказанных механизмов в антиинфекционной защите женских половых путей.

Ключевые слова: Толл-подобные рецепторы, NOD-рецепторы, дефензины, кателицидин LL37/hCAP 18, антипротеазы, женская репродуктивная система.

В норме влагалище колонизировано несколькими сотнями видов бактерий-комменсалов, которые защищают его от проникновения патогенных микроорганизмов. Такие виды бактерий, как лактобациллы, способствуют установлению кислой среды во влагалище путем расщепления гликогена до образования молочной кислоты. Кислотность среды во влагалище, в свою очередь, играет ключевую роль в формировании влагалищного микробиоценоза и предотвращении восходящей инфекции, так как для развития патогенных микроорганизмов требуется более щелочная среда. Слизистая оболочка репродуктивного тракта обеспечивает механический барьер для инфекции и приспособлена для динамических изменений, которые постоянно происходят в этой нестерильной среде вследствие половых контактов и изменений собственной эндогенной микрофлоры.

В отличие от нижних отделов женских половых путей (влагалища, экзоцервикса и эндоцервикса на небольшом протяжении), верхние отделы репродуктивного тракта женщины, включая полость матки и маточные трубы, практически свободны от микроорганизмов. Механизмы, ответственные за подобное распределение микрофлоры в женском репродуктивном тракте, неизвестны. Предполагается, что различная иммунологическая толерантность репродуктивного тракта женщины к собственной микрофлоре обусловлена более активными сигналами системы врожденного иммунитета верхних отделов женских половых путей и меньшей ее восприимчивостью к антигенным стимулам в нижних отделах [18].

Система врожденного иммунитета обеспечивает более быстрый и примитивный по сравнению с системой приобретенного (адаптивного) иммунитета ответ на инфекцию, что достигается наличием антимикробных белков (дефензинов) на поверхности слизистых, выработкой цитокинов, активацией системы комплемента и фагоцитарным ответом. Эти механизмы обеспечивают элиминацию патогена и ведут к развитию типичного воспалительного процесса.

Врожденный иммунитет слизистых женских половых путей уникально адаптирован ко всем изменениям, происходящим в репродуктивной системе, включая менструацию, оплодотворение, имплантацию, беременность и роды. Доказано, что система врожденного иммунитета всех отделов половых путей подвержена изменениям под влиянием эстрогенов и прогестерона [3, 4].

Первой линией защиты от патогенов являются образраспознающие рецепторы (pattern recognition receptors, PRR), включающие в себя семейства NOD-рецепторов

(nucleotide-binding oligomerization domain) и Толл-подобных рецепторов (Toll-like receptors, TLR), а также натуральные антимикробные пептиды (natural antimicrobe peptides, NAPS) [11].

Образраспознающие рецепторы, расположенные на поверхности клеток эпителия или внутриклеточно, распознают ряд патоген-ассоциированных молекулярных структур микроорганизмов (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) и некоторые эндогенные белки [15]. Связывание патоген-ассоциированных молекул с образраспознающими рецепторами активирует экспрессию цитокинов и хемокинов, а также выработку антимикробных пептидов.

Антимикробные пептиды выделяются на поверхности эпителия и способны повреждать мембраны большинства микробных патогенов. Они секретируются постоянно, но их выработка может усиливаться в ответ на активацию Толл-подобных рецепторов элементами бактерий, грибов, вирусов и простейших.

Основная роль антимикробных пептидов защите женских половых путей от патогенов заключается в их микробицидном действии и в регуляции как врожденного, так и приобретенного иммунного ответа [9]. Антимикробные пептиды представлены дефензинами, кателицидинами, секреторным ингибитором лейкоцитарных протеаз, элафином и лизоцимом (рис. 1) [11].

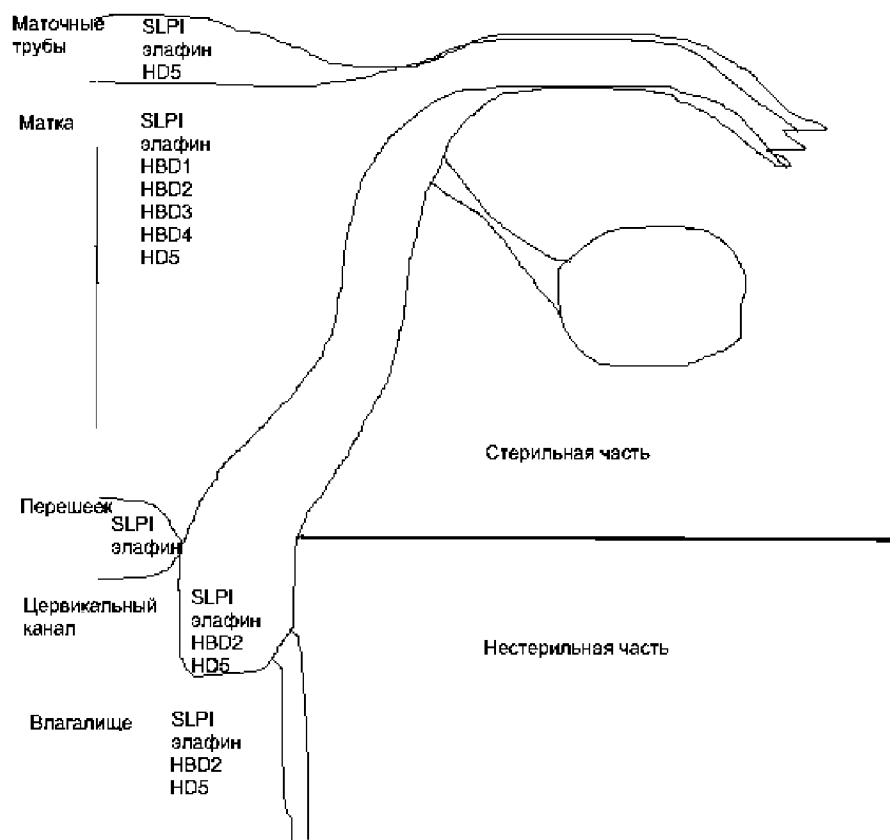


Рис. 1. Экспрессия антимикробных пептидов в женских половых путях вне беременности.

SLPI – секреторный ингибитор лейкоцитарных протеаз, HD – человеческие  $\alpha$ -дефензины, HBD – человеческие  $\beta$ -дефензины

Дефензины, или катионные белки, представляют собой один из важнейших компонентов защиты женского репродуктивного тракта. Основными их источниками являются лейкоциты, нейтрофилы и эпителиальные клетки слизистой половых путей.

У человека описаны 2 группы дефензинов:  $\alpha$  – дефензины (human defensins – HD) и  $\beta$ -дефензины (human-beta defensins – HBD), которые различаются расположением дисульфидных связей в молекулах [2].

Известно 6  $\alpha$  – дефензинов, из которых 4 (human neutrophilic peptides – HNP 1 – 4) синтезируются в нейтрофилах и в меньшей степени в других иммунокомпетентных клетках: натуральных киллерах, В- и Т-лимфоцитах, моноцитах и макрофагах. Они находятся внутриклеточно в гранулах и высвобождаются путем дегрануляции в очаге воспаления. HD 5 и 6 экспрессируются эпителиальными клетками репродуктивного тракта [1].

У человека обнаружены 4  $\beta$ -дефензина, которые экспрессируются эпителиальными клетками и выделяются на поверхности слизистой, обеспечивая ее антиинфекционную защиту. В отличие от  $\alpha$ -дефензинов, которые накапливаются в нейтрофильных гранулах и участвуют в системном иммунном ответе,  $\beta$ -дефензины выделяются на поверхности слизистой и обеспечивают ее антиинфекционную защиту.

Микробицидные свойства дефензинов обусловлены их электростатическим взаимодействием с бактериями. Положительно заряженные пептиды электростатически взаимодействуют с отрицательно заряженными анионными группировками фосфолипидных мембран микроорганизмов во многих участках, при достижении определенной критической концентрации происходит образование сквозных дыр, что приводит к лизису бактерий. При этом соматические клетки организма хозяина не повреждаются, так как в электростатических зарядах мембран клеток про- и эукариот имеется различия [24].

Дефензины обладают широким спектром антибактериальной и противогрибковой активности, обе группы дефензинов способны ингибировать развитие вирусной инфекции, в том числе ВИЧ [21]. Кроме того, они способны индуцировать продукцию цитокинов, в частности ИЛ-8 и Ил-1 $\beta$ . Стимулирование  $\alpha$ -дефензинами CD4+ Т-лимфоцитов увеличивает продукцию ими  $\gamma$ -интерферона, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-8. Дефензины также вызывают дегрануляцию тучных клеток, в результате чего из них высвобождается гистамин и простагландины. В то же время HNP1 способен ограничивать тканевое повреждение за счет способности ингибировать как классический, так и лектиновый путь активации комплемента, а также участвует в заживлении ран, усиливая синтез коллагена I и III типов [1].

Важную роль в защите женских половых путей имеет также выработка антипроеаз. Известно, что выраженное воспаление приводит к разрушению тканей, в значительной степени из-за действия протеаз, выделяемых иммунокомпетентными клетками. Защита тканей хозяина от повреждений, вызванных чрезмерным иммунным ответом, осуществляется с помощью антипротеаз: элафина (elafin) и секреторного ингибитора лейкоцитарных протеаз (secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI). SLPI подавляет действие целого ряда протеаз, включая эластазу, трипсин и катепсин G. Элафин ограничивает действие эластазы и протеиназы 3 [4, 11]. Оба белка также обладают микробицидной активностью, преимущественно против грамотрицательных и грамположительных бактерий.

SLPI и элафин экспрессируются на всем протяжении женских половых путей, они обнаружены во влагалище, шейке матки, эндометрии и маточных трубах. Наибольшая концентрация SLPI обнаружена в шеечной слизи. Показано также, что секреция SLPI и элафина увеличивается при внесении в нижние отделы половых путей частиц бактериальной стенки, содержащих липополисахариды. Нейтрофилы выделяют элафин преимущественно в фазу десквамации эндометрия (во время менструации), в то время как эпителиальные клетки половых путей экспрессируют SLPI в лютеиновую фазу менструального цикла [11].

Еще одна группа противомикробных пептидов, которые обнаружены в женских половых путях – это кателицидины. Это семейство антимикробных пептидов обнаружено у млекопитающих и насчитывает около 30 видов веществ, но у человека обнаружен только LL37/hCap18. Он экспрессируется преимущественно эпителиоцитами влагалища и нейтрофилами и обладает широким спектром антибактериальной, противови-



русной и противогрибковой активности. LL-37 форма человеческого кателицидина способна стимулировать хемотаксис тучных клеток, нейтрофилов и CD4+ Т-лимфоцитов [5].

Антимикробные пептиды играют значительную роль в защите от заболеваний, передающихся половым путем. Катионные белки цервико-вагинальной слизи являются ключевым фактором, подавляющим вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) [23]. Интересно, что HBD3 обладает не только прямой противовирусной активностью, но и способен связывать и снижать уровень ВИЧ-1 корцептора CXCR4 [10]. Цервико-вагинальный секрет половых путей здоровых женщин способен ингибировать вирус простого герпеса, что коррелирует с уровнем дефензинов в цервикальной и шеечной слизи [13].

В ряде исследований было показано, что риск заражения ВИЧ и генитальным герпесом возрастает у пациенток с бактериальным вагинозом, у которых наблюдаются изменения влагалищной флоры, проявляющиеся в снижении числа лактобактерий и увеличении количества анаэробной флоры. E. Valore с соавт. (2006) показали, что антимикробная активность влагалищного секрета у пациенток с бактериальным вагинозом снижается, наблюдается уменьшение концентраций HBD1 и HBD2, а также HNP 1-4 по сравнению со здоровыми женщинами и пациентками с вульвовагинальным кандидозом [22]. Это коррелировало с низким числом нейтрофилов и уровнем интерлейкина-8. Однако, уровень дефензинов быстро приходил в норму после лечения бактериального вагиноза. Авторы объясняют снижение уровней антимикробных пептидов при данном дисбиозе низкой способностью *Gardnerella vaginalis* индуцировать иммунный ответ. Так, гарднереллы, в отличие от лактобактерий, не индуцируют выработку HBD2, интерлейкина-1 и интерлейкина-8 эпителиальными клетками влагалища, что связано с отсутствием на их поверхности липополисахаридов и низкой концентрацией пептидогликана. В связи с этим не происходит активации Толл-подобных рецепторов 1, 2 и 4, и выработка антимикробных пептидов снижается. При бактериальном вагинозе также снижается уровень SLPI и элафина [11]. Имеются также другие доказательства того, что замещение собственной микрофлоры патогенной влияет на развитие иммунного ответа. Так, *Staphylococcus aureus*, выделенный из пазух носа при хроническом рините, не индуцирует выработку HBD 2 и 3 слизистой носа, а *Shigella flexneri* подавляет синтез антимикробных пептидов в тонком кишечнике [19, 20].

Распознавание структур хламидий происходит через Толл-подобные рецепторы 2 и 4, при этом происходит увеличение синтеза SLPI в маточных трубах [11].

M.E. Klotman с соавт. (2008) обнаружили, что выработка HD5 и 6 также повышается в ответ на гонорейную инфекцию. Однако, несмотря на то, что у здоровых женщин антимикробные пептиды уменьшают риск инфицирования ВИЧ, в присутствии супернатанта *Neisseria gonorrhoeae* или инфицированных возбудителем эпителиальных клеток увеличивается проникновение вируса иммунодефицита человека в клетки Т-хелперы CD4. Этот эффект является дозозависимым и наблюдается только при высоких концентрациях дефензинов, более 10 мкг./мл [14]. Полученный авторами *in vitro* неожиданный результат был подтвержден клиническими исследованиями P. Levinson с соавт. (2009), которые установили, что высокие уровни дефензинов и антимикробных пептидов связаны с увеличением риска передачи ВИЧ [17]. Так как во всех случаях высокие уровни дефензинов наблюдались у пациенток, имеющих сопутствующие заболевания, передающиеся половым путем, авторы предполагают, что именно возбудители половых инфекций, а не только высокие уровни дефензинов, способствуют трансмиссии ВИЧ. Однако интересно, что увеличение числа копий генов, кодирующих HBD, снижает риск передачи ВИЧ [16]. Противоречия в полученных результатах требуют дальнейших исследований данной проблемы.

Было также установлено, что большинство  $\alpha$ -дефензинов (HNP 1-4 и HD5) обладают выраженной антивирусной активностью против папилломавирусной инфекции, в то время как  $\beta$ -дефензины практически не влияют на передачу папилломавирусов [6]. HNP2 и HBD2 также способны рекрутировать дендритные клетки в участки с эпителиальной дисплазией, вызванной папилломавирусами [12]. Таким образом, дефензины могут регулировать иммунный ответ при диспластических про-

цессах и раке шейки матки, вызванном вирусом папилломы человека. Есть данные, что дефензины способны защищать от рака предстательной железы. Так, при раке простаты выявляется снижение уровня HBD1, увеличение же количества HBD1 индуцирует разрушение опухолевых клеток [7]. Кателицидин LL-37, напротив, способствует развитию рака яичника [8].

Таким образом, антимикробные пептиды женских половых путей играют ключевую роль в защите репродуктивного тракта. Однако, их роль в развитии инфекционных заболеваний женской половой системы изучена гораздо меньше, чем респираторного и желудочно-кишечного тракта, кожи и глаз. Важным предметом дальнейших исследований должно стать изучение взаимодействия дефензинов с другими компонентами врожденного иммунитета. Кроме того, в настоящее время трудно оценить, что в большей степени влияет на иммунный ответ – прямое бактерицидное и противовирусное действие или их иммуномодулирующий эффект, которые, по-видимому, могут быть разнонаправленными. Все это требует проведения дальнейших исследований экспрессии антимикробных пептидов репродуктивного тракта женщин.

*Статья подготовлена в рамках выполнения госконтракта № 14.740.11.0248 от 17.09.2010 г.*

### Литература

1. Будихина, А. С. α-дефензины – антимикробные пептиды нейтрофилов: свойства и функции/ А.С. Будихина, Б.В. Пинегин // Иммунология. – 2008. – №5. – С.317-320.
2. Лебедева, О.П. Врожденный иммунитет женских половых путей и его гормональная регуляция/ О.П. Лебедева [и др.] // Научные Ведомости БелГУ. Медицина. Фармация. – 2009. – № 12 (67). – С. 25-30.
3. Макаров, О. В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет./ О.В. Макаров, Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская // – М.: Гэотар-медиа, 2007. – 176 с.
4. Beagley, K. Regulation of adaptive immunity by female sex hormones oestradiol and progesterone/ K. Beagley, C. Gokel // FEMS Immunol and Med Microbiol Rew. – 2003. – Vol.38. – p.13-22.
5. Braff, M. Structure-function relationship among human cathelicidin peptides/ M. Braff [et al.]// J Immunol. – 2005. – 174. – p. 4271-4278.
6. Buck, C. B. Human α--defensins block papillomavirus infection/ C. B. Buck [et al.]// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2006. – № 103. –p. 1516–1521.
7. Bullard, R. S. Functional analysis of the host defense peptide human \_ defensin-1: new insight into its potential role in cancer/ R. S. Bullard [et al.]. // Mol. Immunol. – 2008. – № 45. – p. 839–848.
8. Coffelt, S. B. The pro-inflammatory peptide LL-37 promotes ovarian tumor progression through recruitment of multipotent mesenchymal stromal cells. / S. B. Coffelt, F. C. Marini, K. Watson // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – № 106. – p. 3806–3811.
9. Doss, M. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity/ M. Doss [et al.]. // Journ. Leukoc. Biol. – 2010. – Vol. 87. – p. 1-14.
10. Feng, Z. Cutting edge: human \_ defensin 3—a novel antagonist of the HIV-1 coreceptor CXCR4./ Z. Feng [et al.]. // J. Immunol. – 2006. – № 177. – p. 782–786.
11. Horne, A. Innate immunity and disorders of female reproductive tract/ A. W. Horne, S. Stock, A. King // Reproduction. – 2008. – № 135. – p. 739-749.
12. Hubert, P. Defensins induce the recruitment of dendritic cells in cervical human papillomavirus-associated (pre)neoplastic lesions formed in vitro and transplanted in vivo./ P. Hubert, , L. Herman, , C. Maillard, J. H. Caberg [et al.]. // FASEB J. –2007. – Vol.21. – p. 2765–2775.
13. John, M. Cervicovaginal secretions contribute to innate resistance to herpes simplex virus infection/ M. John, M. J. Keller, E. H. Fam [et al.] // J. Infect. Dis.- 2005. -№ 192. – p. 1731–1740.
14. Klotman, M. E. *Neisseria gonorrhoeae*-induced human defensins 5 and 6 increase HIV infectivity: role in enhanced transmission/ M. E. Klotman, A. Rapista, N. Teleshova [et al.]. //J. Immunol. – 2008. – Vol. 180. – p. 6176–6185.
15. Koga, K. TLR receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders/ K. Koga, G. Mor// Am. J. of Reprod. Immunol. – 2010. – Vol. 63. – p. 587-600.
16. Milanese, M. Copy number variation of defensin genes and HIV infection in Brazilian children/ M. Milanese, [et al.]. // J. Acquir. Immune Defic. Syndr. -2009. – № 50. – p. 331–333.



17. Levinson, P. Levels of innate immune factors in genital fluids: association of  $\alpha$ -defensins and LL-37 with genital infections and increased HIV acquisition/ P. Levinson, R. Kaul, J. Kimani [et al.]// AIDS. – 2009. – Vol. 23. – p. 309–317.

18. Nasu, K. Pattern recognition via Toll-like receptor system in the human female reproductive tract/ K. Nasu, H. Nahara// Mediators and Inflammation. – Vol. 2010 (2010). – ID 976024. – 12 p.

19. Quinn, G. A. Suppression of innate immunity by a nasal carriage strain of *Staphylococcus aureus* increases its colonization on nasal epithelium./ G. A. Quinn, A. M. Cole// Immunology. – 2007. – № 122. – p. 80–89.

20. Sperandio, B. Virulent *Shigella flexneri* subverts the host innate immune response through manipulation of antimicrobial peptide gene expression/ B. Sperandio, B. Regnault, J. Guo [et al.]. // J. Exp. Med. – 2008. – № 205. – p. 1121–1132.

21. Sun, L. Human  $\beta$ -defensins suppress human immunodeficiency virus infection: potential role of mucosal protection/ L. Sun// J of Virol. – 2005.-Vol. 79, №22. – p. 1418-1429.

22. Valore, E. V. Reversible deficiency of antimicrobial polypeptides in bacterial vaginosis/ E. V. Valore, D. J. Wiley, T. Ganz // Infect. Immun. – 2006. – Vol. 74. – p. 5693–5702.

23. Venkataraman, N. Cationic polypeptides are required for anti-HIV-1 activity of human vaginal fluid. / N. Venkataraman [et al.]. //J. Immunol. – 2005. -№ 175. – p. 7560–7567.

24. Yount, N.Y. Immunoconsilium: perspectives in antimicrobials/ N.Y. Yount, M.K. Yeaman // Protein peptide letters. – 2005.- № 12.- p. 49-67.

## ANTIMICROBIAL PEPTIDES – THE FIRST LINE OF ANIINFECTIOUS DEFENCE IN FEMALE REPRODUCTIVE TRACT

**O.P. Lebedeva<sup>1</sup>**

**N.A. Rudyh<sup>1</sup>**

**I.S. Polyakova<sup>1</sup>**

**S.P.Pakhomov<sup>1</sup>**

**M.I. Churnosov<sup>1</sup>**

**N.I. Samborskaya<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup> Belgorod  
State  
University

<sup>2)</sup> Perinatal Center of Belgorod  
Region Hospital of St. Ioasaf

e-mail:safonova2@yandex.ru

In the article the recent data, devoted to innate immunity of female reproductive tract, are considered. Natural antimicrobial peptides show direct antimicrobial and immunomodulatory effects, pattern recognition receptors inform immunity about pathogen invasion. In the overview brief survey of above mentioned factors of innate immunity in antiinfectious defence of female reproductive tract is presented.

Key words: Toll-like receptors, NOD-receptors, defensins, cathelicidin LL37/hCAP 18, anti-proteases, female reproductive tract.