

## Artículo de revisión

**Péptidos antimicrobianos: antibióticos naturales de la piel**

Laura E. Castrillón Rivera,\* Alejandro Palma Ramos,\* Carmen Padilla Desgarenes\*\*

**RESUMEN**

La gran resistencia de la piel ante los procesos infecciosos se debe, en parte, a un grupo de moléculas denominadas péptidos antimicrobianos (PAM), que constituyen un componente importante de los mecanismos efectores de la inmunidad innata de este tejido. En este trabajo se comunica una revisión de la clasificación, la estructura y la función de estas moléculas, así como información acerca de los mecanismos de resistencia y su potencial terapéutico.

**Palabras clave:** péptidos antimicrobianos, defensinas, catelicidinas, péptidos catiónicos, inmunidad innata.

**ABSTRACT**

The great resistance to infectious process in skin is due, in part, to molecules named antimicrobial peptides (AMPs) that constitutes an important component responsible of mechanisms in innate immunity in this tissue. In this review the classification, structure and function of these molecules are shown, besides the information about the resistance mechanisms and their therapeutic potential.

**Key words:** antimicrobial peptides, defensins, cathelicidins, cationic peptides, innate immunity.

**E**n un mundo lleno de microorganismos, la supervivencia de los organismos multicelulares depende de una red de mecanismos de defensa que interactúan de manera peculiar.

El contacto inicial de los microorganismos patógenos generalmente ocurre en la superficie del cuerpo y en las mucosas.<sup>1</sup> En este sitio tiene lugar la primera línea de defensa; el sistema inmunitario innato no requiere una exposición previa de reconocimiento a los microorganismos patógenos. Las respuestas inmunitarias adquiridas son posteriores y se vinculan con la activación de las células B y T dirigidas contra antígenos específicos. Los péptidos antimicrobianos endógenos forman parte del arsenal de la respuesta inmunitaria innata, ya que proporcionan un mecanismo efectivo y rápido como línea frontal de defensa.

La amplia distribución de los péptidos antimicrobianos en insectos, animales y plantas ha tenido un

papel fundamental en la evolución de organismos multicelulares complejos, ya que son armas ancestrales que al desarrollarse les han permitido vivir en armonía con los microbios.<sup>2,3</sup>

Los péptidos antimicrobianos (PAM) son sintetizados en la piel y en las mucosas de las vías aéreas y digestivas; en estos sitios, entrada potencial de microorganismos, forman una barrera soluble que impide la infección. Los PAM son, predominantemente, pequeños péptidos catiónicos que inhiben el crecimiento de los microbios y tienen una acción citotóxica directa sobre bacterias, hongos y virus. Modifican la respuesta inflamatoria local y activan mecanismos de reacción inmunitaria adaptativa. Las defensinas y las catelicidinas son las principales familias de péptidos antimicrobianos de la piel.<sup>4</sup>

Después de un daño, las concentraciones de los péptidos antimicrobianos en la piel aumentan rápidamente como consecuencia de su elevada síntesis por los queratinocitos y el depósito de la desgranulación de neutrófilos recluidos. Las propiedades quimioatrayentes de las catelicidinas y las defensinas amplifican este proceso a través de sus interacciones funcionales con los receptores superficiales de los leucocitos. El número ascendente de péptidos multifuncionales inhibe el crecimiento microbiano y expande el arsenal antimicrobiano, lo que demuestra que son un sistema de defensa que

\* Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

\*\* Centro Dermatológico Ladislao de la Pascua, SS.

Correspondencia: Dra. Laura E. Castrillón Rivera. Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso 1100, colonia Villa Quietud, CP 04960, México, DF. E-mail: lcrivera@correo.xoc.uam.mx  
Recibido: marzo, 2007. Aceptado: abril, 2007.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

actúa directa o indirectamente en la prevención de la enfermedad cutánea.

Todos los péptidos antimicrobianos son sintetizados como grandes precursores que contienen una o más copias del segmento activo que es descargado por procesamiento proteolítico. La eliminación del péptido señal N-terminal libera la parte activa, pero generalmente uno o más segmentos aniónicos son removidos durante este proceso.<sup>5</sup>

Los péptidos antimicrobianos se definen como sustancias polipeptídicas codificadas por genes y sintetizadas por ribosomas con menos de 100 residuos de aminoácidos, que son diferentes de los antibióticos peptídicos de bacterias y hongos, los cuales son sintetizados a su vez por rutas metabólicas que incorporan a menudo aminoácidos exóticos. Se han descrito más de 500 moléculas con regiones espaciadoras hidrofóbicas que difieren en tamaño y en sus secuencias de aminoácidos. La expresión de estos antibióticos naturales se correlaciona con la susceptibilidad a las infecciones de la piel.<sup>5,6</sup>

Los receptores *toll-like* (TLRs) son sensores de microorganismos y se encuentran en las células epiteliales, queratinocitos, células dendríticas circulantes y macrófagos; reconocen los patrones moleculares vinculados con la patogenicidad (PAMP), como el lipopolisacárido bacteriano (LPS), la peptidoglicana, las lipoproteínas bacterianas dsRNA y la flagelina, entre otros. En réplica a este reconocimiento, se produce la activación intracelular para la expresión de los péptidos antimicrobianos.<sup>7</sup> La ruta de señalización que determina la acción de estas células es similar a la respuesta de fase aguda en los animales cuando se usan reguladores transcripcionales de la familia NF/ $\kappa$ .<sup>1,7</sup>

Algunos péptidos antimicrobianos son producidos constitutivamente, mientras que otros son inducidos por citocinas proinflamatorias y productos microbianos exógenos. Las defensinas son generadas por células en el curso de la réplica innata y sirven como señales que inician, movilizan y amplifican la respuesta inmunitaria adaptativa del huésped.<sup>8</sup>

Con base en su composición y estructura, los péptidos antimicrobianos se dividen en tres clases principales:<sup>9</sup>

- Grupo I: péptidos lineales con estructura de  $\alpha$ -hélice, sin cisteínas como son cecropinas de cerdo,

magaininas de rana y LL-37/hCAP18 en los seres humanos.

- Grupo II: tienen residuos de cisteínas que forman puentes disulfuro; entre ellos se encuentran las defensinas de mamífero, y protegrinas como las calicidinas de cerdo.

- Grupo III: no tienen proporciones elevadas de uno o dos aminoácidos en su estructura, como el PR-39 de leucocitos de cerdo.

Otra clasificación más reciente los divide en:<sup>15</sup>

a) Péptidos aniónicos: son pequeños péptidos ricos en ácido glutámico y aspártico presentes en las ovejas, el ganado y los seres humanos, como la maximina de anfibios y la dermidina de los humanos.

b) Péptidos lineales catiónicos con  $\alpha$  hélice, se incluyen las LL37 de humanos, CAP 18 de conejos, magainina de anfibios y cecropinas de insectos y de nemátodos.

c) Péptidos catiónicos enriquecidos con aminoácidos específicos, como la abaecina de abeja adicionada con prolina, la profenina (cerdo), la indolicidina (ganado) y la histatina (primates).

d) Péptidos aniónicos y catiónicos que contienen cisteína y forman puentes disulfuro, como las breviniñas, la protegrina (cerdo), las defensinas de mamífero e insectos.

e) Fragmentos peptídicos de péptidos aniónicos y catiónicos, como: lactoferrina proveniente de lactoferrina, casodicina de caseína y los dominios de  $\alpha$  lactalbúmina, hemoglobina humana, lisozima y ovoalbúmina.

En los seres humanos se han identificado las defensinas, las catelicidinas y las histatinas.

Las concentraciones mínimas inhibitorias de estos péptidos van del rango de 0.1 a 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Los péptidos tienen actividad sinérgica con otros mecanismos de defensa molecular como la lisozima y la lactoferrina.

## DEFENSINAS

Son moléculas abundantes en las células y los tejidos que participan en la defensa del huésped contra infecciones microbianas. En muchos animales las concentraciones más altas se encuentran en gránulos de almacenamiento de leucocitos.<sup>5</sup>

Las defensinas de mamíferos son catiónicas y ricas en arginina; son polipéptidos de 29-42 aa, no glicosilados, con un peso molecular de 3.5 a 4.5 kDa. Contienen seis residuos de cisteína que forman tres puentes disulfuro responsables de su estructura beta plegada. Atacan la superficie de la membrana que rodea al patógeno generando hoyos en éste.<sup>1</sup> Bajo condiciones óptimas, la actividad antimicrobiana se observa en cifras tan bajas como 1 a 10 µg/mL. El aumento de las concentraciones de sales y proteínas condiciona la inhibición competitiva de su acción.

Por el alineamiento de los puentes disulfuro en los organismos vertebrados, las defensinas se clasifican en subfamilias  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\theta$ .<sup>10</sup>

#### $\alpha$ -defensinas

Tienen entre 29 y 35 aminoácidos. En 1985 se aislaron por primera vez en seres humanos a partir de neutrófilos. Cuentan con una estructura  $\beta$ -plegada. Se han descrito seis tipos en humanos: HNP-1 a HNP-4 (*human neutrophil peptides*), que se localizan en los granos azurofílicos de los neutrófilos y son las principales proteínas que contribuyen a la muerte de microorganismos fagocitados por los mecanismos dependientes del oxígeno, y las defensinas 5 y 6, que se encuentran en las células de Paneth del intestino delgado y las células epiteliales del tracto urogenital.

Los genes que codifican para las defensinas  $\alpha$  y  $\beta$  se ubican en el cromosoma 8p23. Como no se ha determinado la localización del gen HNP-2, se le considera un producto de degradación de HNP-1 o HNP-3.

#### $\beta$ -defensinas

Tienen de 36 a 42 aminoácidos. Sus tres puentes disulfuro están distanciados en forma diferente que en las  $\alpha$ -defensinas. La primera  $\beta$ -defensina se aisló en 1991 de la lengua de una vaca y en humanos se logró a partir de hemofiltrados. A la fecha se han descrito cuatro (hBD 1 a 4).

La defensina beta humana-1 (hBD-1) se expresa constitutivamente en queratinocitos y en glándulas serosas en las paredes de las vías aéreas. Es activa contra bacterias gramnegativas.

La defensina beta humana-2 (hBD-2) se aisló originalmente de piel psoriásica mediante un procedimiento de cromatografía de afinidad, aplicando

columnas cubiertas con componentes de *E. coli*. Se expresa en superficies internas o externas del cuerpo humano como la piel y los tractos respiratorio y gastrointestinal. Al igual que la hBD-1, la hBD-2 se manifiesta ampliamente en la superficie del epitelio. Es activa contra gramnegativos, no así contra grampositivos. Está en el estrato córneo y pertenece a la fase inicial de resistencia del huésped en la piel. Se almacena en cuerpos laminares de queratinocitos estimulados en la capa espinosa; su expresión es abundante en infecciones por grampositivos. Aunque no tiene acción citotóxica induce la quimiotaxis de células dendríticas y linfocitos T importantes en la inmunidad adaptativa, la maduración de CD dependiente de TLR4, así como la movilización de calcio intracelular y la liberación de histamina por las células cebadas, por lo que aumenta la respuesta inflamatoria y la vasodilatación; en consecuencia, incita la inmunidad adaptativa. Es un antibiótico natural, despierta la respuesta adaptativa, la migración y la maduración de las células dendríticas y los linfocitos T. Está ausente en la piel normal y su expresión por parte de los queratinocitos requiere la estimulación de citocinas o bacterias.

La defensina humana-3 (hBD-3) se deriva de queratinocitos; tiene un amplio espectro de acción, ya que es activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas. Es inducida por patrones vinculados con la patogenicidad de microorganismos (PAMP) y por mediadores inflamatorios como el TNF- $\alpha$ , la IL-1 $\beta$  y el IFN- $\gamma$ .

La defensina humana-4 (hBD-4) es inducida en los queratinocitos por estímulos inflamatorios y PAMP.

#### $\theta$ -defensinas

Las  $\theta$ -defensinas se han aislado de neutrófilos de monos rhesus. No hay pruebas de su existencia en otros tejidos. Tienen una estructura molecular circular; su actividad es independiente de la concentración de sales.<sup>11</sup> Están ausentes en el ser humano.

En la piel, los queratinocitos son la principal fuente de estos péptidos antimicrobianos. Se sabe que en respuesta al reconocimiento de PAMP aumenta la secreción de citocinas proinflamatorias. Se ha demostrado que en el queratinocito hay una fuerte expresión de hBD-2 ante la infección por *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*; en contraste, con

la estimulación de *S. pyogenes* la inducción es pobre. Esto permite entender la rareza de las infecciones con bacterias gramnegativas y la capacidad para evadir las defensas innatas y causar infecciones cutáneas de *S. pyogenes*.<sup>12</sup>

## CATELICIDINAS

En los humanos, al igual que en los ratones, la familia de catelicidinas se limita a un solo producto genético (LL37/CAP18), mientras que en animales como los cerdos, las ovejas y otros tipos de ganado hay múltiples genes.<sup>13</sup> Las catelicidinas son antibióticos peptídicos que contienen una secuencia altamente conservada y una región pro con una heterogeneidad sustancial en el dominio C-terminal que codifica el péptido maduro. Su tamaño es de 12 a 80 residuos de aminoácidos; el más conocido en los humanos es el LL37(CAP 18), que es un péptido de 37 aa, con estructura secundaria de  $\alpha$ -hélice, aislado de la médula ósea humana de células mieloides. Se produce por estructuras ecrinas, donde son secretadas y procesadas en el sudor, lo que sugiere una función de barrera contra infecciones cutáneas tropicales.<sup>14</sup> Este péptido tiene actividad antimicrobiana directa y actúa sinérgicamente con otros péptidos antimicrobianos, funciona como quimioattractante para neutrófilos, monocitos y células T y estimula la proliferación endotelial por la unión al receptor formil-péptido (FPRL-1).<sup>4</sup>

Este péptido es sintetizado por la activación de los receptores TLR en macrófagos, neutrófilos y células epiteliales. En los fagocitos, las catelicidinas se almacenan como precursores inactivos en gránulos secretores; en muchos casos, la enzima procesadora es la elastasa. El LL-37 es el único péptido antimicrobiano humano producido por los neutrófilos e inducido en los queratinocitos durante la inflamación y alteraciones en la piel; proporciona protección en la piel necrótica por *Streptococcus* grupo A y tiene efecto sinérgico con las defensinas  $\beta$ ,<sup>5,6</sup> además de que favorece el reclutamiento de células cebadas, neutrófilos, monocitos y linfocitos T en los focos de inflamación. También está implicado en la reepitelización de las heridas cutáneas.

Para que el gen de la catelicidina se active requiere de la vitamina D (1,25 OH<sub>2</sub> vitamina D<sub>3</sub>) en su forma

activa; esto explica por qué la deficiencia de vitamina D proporciona mayor susceptibilidad a la tuberculosis. Además de su actividad antimicrobiana, LL-37 se une y neutraliza LPS, y protege contra el choque endotóxico en el modelo murino de septicemia.

## HISTATINAS

Son una familia de péptidos ricos en histidina que se encuentran en la saliva humana. Se han descrito varios miembros: las histatinas 1 y 3 tienen 38 y 32 residuos de aminoácidos; a partir del procesamiento postraduccional de éstas, se originan los miembros más pequeños (histatina 5), que tienen 24 residuos.

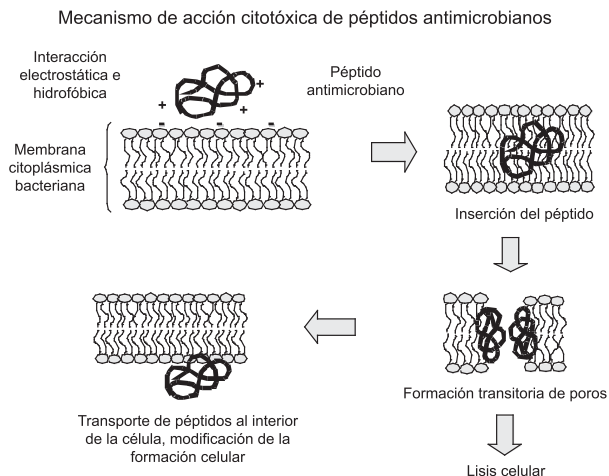
Los genes que codifican a las histatinas 1 y 3 se han mapeado en el cromosoma 4q13. Estos péptidos tienen especial actividad antimicrobiana contra los hongos.<sup>1</sup>

## ACCIÓN CITOTÓXICA DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

El primer paso de la interacción entre los péptidos catiónicos y los componentes aniónicos de la membrana de los microorganismos se da por la atracción electrostática que se inhibe con altas concentraciones de sales.

El carácter antipático de la molécula (tiene regiones hidrofóbicas e hidrofílicas) hace que, por su hidrofobicidad característica, algunos péptidos se inserten en la membrana y las zonas de aminoácidos hidrofílicos, además de que aquellos que poseen carga positiva se orienten hacia las regiones polares. En la membrana se forman poros, por lo que se vuelve permeable, también es posible que se constituya un "tapete", es decir, que se agrupen péptidos en zonas cargadas positivamente de la membrana, lo que causa la aparición transitoria de huecos.<sup>15</sup> Además de la muerte celular por permeabilidad de la membrana, se han descrito otros procesos biológicos en los que interfieren estos péptidos, como la síntesis de proteínas, la síntesis de pared celular, el daño al ADN y la activación de autolisinas (figura 1).<sup>5</sup>

La pérdida de la viabilidad microbiana puede explicarse por tres mecanismos:



**Figura 1.** Mecanismo de acción citotóxica de los péptidos antimicrobianos. La capacidad antipática de algunos péptidos permite interactuar con las regiones polares y no polares de la membrana. Se favorece la interacción primaria por su carácter catiónico y los elementos electronegativos de la superficie bacteriana. Su región hidrofóbica le permite su inserción en la bicapa lipídica en la que forma poros que pueden causar la rotura celular o la modificación funcional de la célula que la lleva a la muerte.

a) Efectos acumulativos de drenaje de energía debido al equilibrio de la concentración de iones a través de la alteración de la membrana.

b) Los péptidos pueden entrar a la célula blanco a través de la membrana alterada y se unen a moléculas desconocidas interfiriendo en su función metabólica.

c) Algunos péptidos generan poros que permiten el acceso de agua, pero no el paso de sustancias osmóticamente activas, lo que genera una presión osmótica que expande y rompe la membrana microbiana.

Las membranas de las células animales son ricas en fosfolípidos neutros y colesterol, sustancias que inhiben la incorporación de estos péptidos a la membrana y la formación de poros. Esto explica por qué las concentraciones que eliminan células eucarióticas son mucho mayores que las que se requieren para matar bacterias.

A diferencia de los eucariotes, los fosfolípidos de membrana externa bacteriana llevan carga negativa, y la carga positiva de las defensinas probablemente las capacita para penetrar las membranas bacterianas respetando las del huésped.

## REGULACIÓN GENÉTICA DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

En el ser humano, al menos ocho genes localizados en el cromosoma 8p23 codifican a las defensinas  $\alpha$  y  $\beta$ . La expresión de hBD-1 es constitutiva; en contraste, hBD-2 está regulada por estímulos infecciosos e inflamatorios evaluados *in vitro* o en humanos.<sup>16</sup> La hBD-2 es activada por la interleucina 1 (IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ ), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), las bacterias grampositivas y gramnegativas, *Candida albicans* y LPS.<sup>1</sup>

La codificación de hBD-2 y LL-37/CAP18 contiene varios sitios potenciales para los factores de transcripción (respuesta de fase aguda, factor nuclear para la expresión de IL-6) que posiblemente estén implicados en la expresión de estos genes.

La expresión del ARN mensajero de hBD-1 es más abundante en el riñón y la de hBD-2 y hBD-3 en la piel inflamada.<sup>17</sup>

## MECANISMOS DE RESISTENCIA HACIA LOS PÉPTIDOS ANTIBACTERIANOS

Aunque la reacción citotóxica de estos péptidos ante el ataque de microorganismos es muy eficiente, hace poco se reportó que existe resistencia, aunque es un hecho sumamente raro.<sup>18</sup> Para estudiar la acción de estos péptidos antimicrobianos y su posible resistencia ante las infecciones, se han evaluado varios modelos experimentales, entre los que se cuentan: la correlación entre la sensibilidad *in vitro* o la resistencia a los microbios y su potencial patogénico; la demostración de su potencial terapéutico para evitar la colonización o la enfermedad, y el bloqueo en la producción de estos péptidos, lo que aumenta la susceptibilidad del huésped a la infección.<sup>19</sup> Se han observado varios mecanismos por los cuales ocurre la resistencia a estos péptidos; entre ellos se encuentra la modificación de constituyentes aniónicos de la pared celular. El efecto neto de estas sustituciones es la disminución de la atracción de los péptidos a la superficie bacteriana; el ejemplo es la modificación del lípido A del lipopolisacárido (LPS), así como la asociación del LPS con la fosfatidilcolina en las bacterias gramnegativas. La resistencia en *S. aureus* se debe a la incorporación de

D-alanina al ácido lipoteicoico o la L-lisina al fosfatidilinositol. Otro mecanismo de resistencia es la expulsión de estas moléculas por la participación de bombas de eflujo que evitan su acumulación, como en el caso de *Salmonella typhimurium* y *Neisseria gonorrhoeae*.<sup>20,21</sup> La producción de proteasas bacterianas puede hidrolizar a estos péptidos directamente o, bien, vincularse con los proteoglicanos del huésped para liberarlos de la célula portadora y así neutralizar a los péptidos antimicrobianos; son otras estrategias de las que se vale el microorganismo para evitar la acción citotóxica de estas moléculas.<sup>13,19</sup>

### OTRAS ACTIVIDADES DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

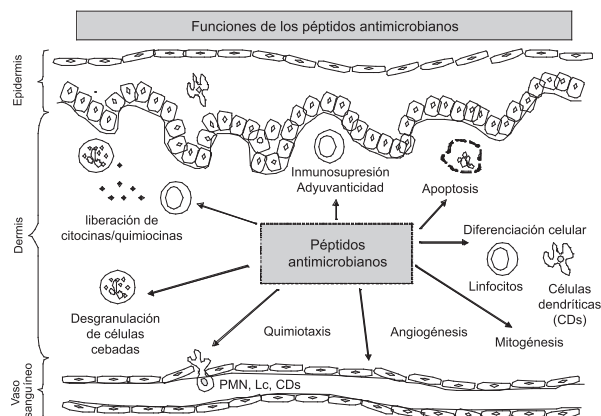
Mientras que las familias de catelicidinas y defensinas poseen las propiedades antimicrobianas mejor conocidas, en la piel existen otros péptidos que tienen funciones alternativas e incluyen a los inhibidores de proteasas, quimiocinas y neuropéptidos. Además de su papel como antibióticos, estos péptidos endógenos participan en la inflamación, la reparación de heridas y la regulación de la inmunidad adaptativa (figura 2). Por esta razón, en el 2006 se propuso el cambio del término de péptidos antimicrobianos (PAM) por el de péptidos catiónicos de defensa del huésped (en inglés HDPs).<sup>22</sup>

#### Inactivación del LPS

Además de la acción antimicrobiana de los péptidos, las defensinas y las catelicidinas pueden unirse al lipopolisacárido (LPS) e inactivar su acción endotóxica. Aunque la resistencia bacteriana a estos péptidos es un fenómeno raro, se han descrito posibles mecanismos que van desde la modificación de los componentes de la membrana como el LPS, los ácidos teicoicos y la fosfocolina, a la modulación de bombas de eflujo.

#### Actividades pro y antiinflamatorias

La secreción local de péptidos antimicrobianos en el sitio de infección induce la transcripción y segregación de quimiocinas y la liberación de histamina de células cebadas, con esto se promueve el reclutamiento de las células de la inmunidad innata y adaptativa (inflamación) que se requieren para las réplicas celulares y humorales hacia los patógenos.



**Figura 2.** Funciones de los péptidos antimicrobianos. Además de su acción citotóxica sobre bacterias, parásitos, virus y hongos, los péptidos antimicrobianos tienen funciones adicionales que inducen respuestas inflamatorias tales como la quimiotaxis, la desgranulación de células cebadas, la apoptosis y la liberación de quimiocinas y citocinas, además de sus propiedades mitogénicas y angiogénicas relacionadas con la reparación tisular. La acción de las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas se ve favorecida por la capacidad de diferenciación celular y la producción de mediadores inmunitarios que también son generados por estos péptidos antimicrobianos.

Los péptidos antimicrobianos activan las reacciones inflamatorias, estimulando a las células de la respuesta inmunitaria innata (neutrófilos, células epiteliales y queratinocitos), así como a las que sirven de puente entre la respuesta innata y la adaptativa (monocitos, macrófagos y células dendríticas). Esta activación refuerza, inhibe o complementa funciones tales como la quimiotaxis, la apoptosis, la transcripción de genes y la producción de citocinas, que generan la eliminación de microorganismos, aunque no por la vía de la citotoxicidad directa.<sup>22</sup>

La falta del detalle del espectro funcional *in vivo* de estos péptidos dificulta determinar cuál péptido y en qué concentración tiene una acción pro o antiinflamatoria. Se sabe que las defensinas atraen y activan células inflamatorias (neutrófilos, linfocitos B y macrófagos) y epiteliales, lo que provoca la liberación de mediadores inflamatorios como IL-8 y LTB4; sin embargo, las defensinas también inducen la secreción de IL-10 (citocina con acción inmunosupresora) o SLP1, esto facilita la unión de los microorganismos al epitelio con la subsecuente eliminación de microorganismos por la actividad bactericida de la célula.

## FUNCIONES

Las defensinas reducen la expresión de la molécula de adhesión VCAM-1 en células endoteliales activadas por TNF- $\alpha$ . Las  $\beta$ -defensinas tienen funciones inmunitarias adicionales, como la hBD-2, que se une al CCR6 y es quimiotáctica para células dendríticas maduras y células de memoria; además, promueve la liberación de histamina y la producción de la prostaglandina D2 en células cebadas, lo que sugiere que puede usarse como vacuna adyuvante para la producción de anticuerpos.

Con esta información se demuestra que la regulación transcripcional de los péptidos antimicrobianos depende del estímulo y del tipo celular que los genera, y que es normada no sólo por la existencia de microorganismos, sino por la manifestación de la respuesta inmunitaria innata y la inflamación aguda.

### Reparación de heridas

Los péptidos antimicrobianos se manifiestan durante el proceso de reparación de heridas, ya que contribuyen a la eliminación de infecciones y estimulan la reparación de tejidos. Esto se ha vinculado con la observación de que en las úlceras cutáneas que no sanan hay bajas concentraciones de LL-37. Por lo tanto, se propone el uso de estos péptidos con potencial terapéutico en el tratamiento de quemaduras y úlceras. Este efecto puede explicarse por la capacidad mitogénica de estas moléculas sobre las células epiteliales y los fibroblastos *in vitro*,<sup>23</sup> así como por su capacidad para inducir la angiogénesis.<sup>24</sup>

### Inmunosupresión

Las catelicidinas suprimen la transcripción de citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-6) y la liberación de mediadores proinflamatorios inducidos por el LPS. Esta acción previene la sepsis de roedores después del desafío bacteriano.

La neutralización del LPS que realizan los péptidos antimicrobianos ayuda al mantenimiento de la homeostasia y protege de la acción excesiva del proceso inflamatorio.

### Actividad antitumoral

Las células tumorales pueden tener una membrana de composición distinta a la de las células no transfor-

mas. Estas diferencias pueden dar como resultado una mayor susceptibilidad a la permeabilización por péptidos antimicrobianos. Las defensinas inducen la lisis celular en líneas tumorales en concentraciones dependientes de la dosis, efecto que se observa tres horas después de la incubación.<sup>25</sup>

## VALOR CLÍNICO DE LOS PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS

La piel se vuelve más susceptible a las infecciones cuando la barrera epidérmica se deteriora o cuando las funciones de la inmunidad innata del queratinocito están inhibidas.

La producción de péptidos antimicrobianos aumenta en respuesta adaptativa a un número de infecciones específicas como réplica al daño agudo de la barrera epitelial; en contraste, la elevada generación de estas moléculas se vincula con alteraciones inflamatorias crónicas, lo que refleja el papel dual de estas moléculas. Se ha sugerido que posiblemente la interferencia en la función o síntesis de estas moléculas tenga algo que ver en las inmunodeficiencias primarias o adquiridas, o bien, que explique el incremento en el riesgo de infecciones o la asociación con padecimientos como la fibrosis quística o las quemaduras.

El potencial terapéutico de las defensinas en las enfermedades infecciosas es muy amplio. En pacientes con quemaduras graves se ha demostrado la pérdida de la capacidad de producción de defensinas, por ello, las infecciones recurrentes son comunes, e incluso pueden complicarse hasta causar la muerte.<sup>26</sup>

La expresión diferencial de los péptidos antimicrobianos parece tener un papel en la susceptibilidad de pacientes con alteraciones inflamatorias crónicas de la piel a sufrir complicaciones infecciosas. Se ha comprobado que las concentraciones de catelicidinas y defensinas  $\beta$  son muy elevadas en la psoriasis, por lo tanto, hay resistencia a las infecciones bacterianas y virales. En esta enfermedad se observa un aumento de TNF- $\alpha$  y de IL-1 $\beta$ , que participan en la expresión de estos péptidos; por esta razón hay efectos antimicrobianos sinérgicos y no se aprecian sobreinfecciones.

Otra enfermedad inflamatoria crónica es la dermatitis atópica, que se distingue porque hay con-

centraciones bajas de estos péptidos antimicrobianos en la piel y, a diferencia de la psoriasis, en estas lesiones se producen sobreinfecciones por bacterias, hongos y virus, aunque se desconoce el mecanismo por el cual esta situación induce las respuestas tipo TH2, que se determinan por el aumento de las interleucinas 4 y 13, las cuales evitan la expresión de TNF $\alpha$ /NF-kB. Este perfil inmunológico trae como consecuencia la síntesis de las defensinas hBD-2, hBD-3 e iNOs, además, se inhibe la síntesis de IL-8/CXCL8, que es quimioatrayente de neutrófilos. Con la ausencia de neutrófilos se hace notoria la disminución de la protección de los péptidos antimicrobianos, lo que provoca mayor susceptibilidad a las infecciones.

En la piel, la expresión de catelicidina se eleva cuando hay lesiones inflamatorias, como en el eritema *toxicum neonatorum*,<sup>7</sup> y en la epidermis durante el desarrollo de verrugas vulgares y condilomas acuminados, lo que sugiere que los péptidos antimicrobianos representan un componente de la respuesta inmunológica a la infección por el virus del papiloma humano.<sup>28</sup>

La catelicidina se produce en grandes cantidades en la piel afectada y se expresa fuertemente en el epitelio una vez que ésta se ha regenerado; los anticuerpos antipéptidos inhiben la reepitelización de manera dosis-dependiente. En el epitelio ulcerado no existe o se encuentra en concentraciones bajas, lo que indica que este péptido es fundamental en el cierre de las heridas y que su deficiencia puede correlacionarse con el desarrollo de úlceras crónicas.

## CONCLUSIONES

Los péptidos antimicrobianos desempeñan un papel importante en la inmunidad innata cutánea; no obstante, gracias a su efecto quimiotáctico, a la expresión de moléculas de adhesión y de citocinas por células inmunocompetentes, son un puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa.

Estos péptidos no previenen el crecimiento de microorganismos multirresistentes a los fármacos; sin embargo, su amplio espectro antimicrobiano proporciona la posibilidad de usarlos terapéuticamente en sinergia con los antibióticos tradicionales.

Además de su actividad antimicrobiana, su capacidad para reparar tejidos y su acción antitumoral e

inmunopotenciadora, se considera que estas moléculas tienen una elevada facultad terapéutica que puede utilizarse en el manejo de heridas y quemaduras. Es probable que en el futuro puedan evaluarse sus propiedades en protocolos oncológicos o en inmunoprofilaxia.

Por último, para entender el papel real que juegan estos péptidos multifuncionales en la fisiología cutánea, deberán considerarse no sólo un componente sobresaliente en los mecanismos de defensa inmunitaria de la piel, sino los responsables en la patogénesis de algunas de las enfermedades inflamatorias crónicas.

## REFERENCIAS

1. Bals R. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respir Res* 2000;1:141-50.
2. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 2002;415:389-95.
3. Fritig B, Heitz T, Lerand M. Antimicrobial proteins in induced plant defense. *Curr Opin Immunol* 1998;10:16-22.
4. Braff M, Bardan A, Nizet V, Gallo LR. Cutaneous defense mechanisms by antimicrobial peptides. *J Invest Dermatol* 2005;125:9-13.
5. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003;3:711-20.
6. Ganz T. The role of antimicrobial peptides in innate immunity. *Integr Comp Biol* 2003;43:300-4.
7. Pivarcsi A, Nagi I, Kemeny L. Innate immunity in the skin: How keratinocytes fight against pathogens. *Curr Immunol Rev* 2005;1:29-42.
8. Oppenheim JJ, Biragyn A, Kwak LW, Yang D. Roles of antimicrobial peptides such as defensins in innate and adaptive immunity. *Ann Rheum Dis* 2003;62(Suppl II):ii17-ii21.
9. Escovar LX, Chalela MJG. Péptidos antimicrobianos cutáneos. *Dermatol Peru* 2004;14;14:40-43.
10. Selsted EM, Ouellette JA. Mammalian defensins in the antimicrobial immune response. *Nat Immunol* 2005;6:551-7.
11. Tang YQ, Yaun J, Osapay C, Tran D, et al. A cyclic antimicrobial peptide produced in primate leukocytes by the ligation of two truncated  $\alpha$ -defensins. *Science* 1999;286:498-502.
12. Dinulos GHJ, Mentele L, Fredericks P, Dale AB, Darmstadt LG. Keratinocyte expression of human  $\beta$  defensin 2 following bacterial infection: role in cutaneous host defense. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10;1:161-6.
13. Gallo LR, Nizet V. Endogenous production of antimicrobial peptides in innate immunity and human disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2003;3:402-9.
14. Murakami M, López-García B, Braff M, Dorschner RA, Gallo RL. Postsecretory processing generates multiple cathelicidins for enhanced tropical antimicrobial defense. *J Immunol* 2004;172:3070-7.
15. Brogden AK. Antimicrobial peptides: Pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 2005;3:238-50.



16. O'Neil DA, Porter EM, Elewalt D, Anderson GM, et al. Expression and regulation of the human b-defensins hBD-1 and hBD-2 in intestinal epithelium. *J Immunol* 1999;163:6718-24.
17. Ganz T. Antimicrobial polypeptides. *J Leukoc Biol* 2004;75:34-38.
18. Yount YN, Yeaman RM. Immunocontinuum: Perspectives in antimicrobial peptide mechanisms of action and resistance. *Protein Pept Lett* 2005;12:49-67.
19. Yeaman RM, Yount YN. Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacol Rev* 2003;55:1:27-55.
20. Parra-López C, Lin R, Aspedon A. A salmonella protein that is required for resistance to antimicrobial peptides and transport of potassium. *EMBO J* 1994;13:3964-72.
21. Shafer WM, Qu X, Waring AJ. Modulation of *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to vertebrate antibacterial peptides due to a member of the resistance/nodulation/division efflux pump family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1829-33.
22. Brown LKM, Hancock EWR. Cationic host defense (antimicrobial) peptides. *Curr Opin Immunol* 2006;18:24-30.
23. Murphy CJ, Foster BA, Mannis MJ, Selsted ME, Reid TW. Defensins are mitogenic for epithelial cells and fibroblasts. *J Cell Physiol* 1993;155:408-13.
24. Elsbach P. What is the real role of antimicrobial polypeptides that can mediate several other inflammatory responses? *J Clin Invest* 2003;111:1643-5.
25. Kamysz W, Okrój M, Lukasiak J. Novel properties of antimicrobial peptides. *Acta Biochim Pol* 2003;50(2);461-9.
26. Rivas-Santiago B, Sada E, Hernández-Pando R, Tsusumi V. Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. *Salud Publica Mex* 2006;48:62-71.
27. Marchini G, Lindow S, Brismar H. The newborn infant is protected by an innate antimicrobial barrier: Peptide antibiotics are present in the skin and vernix caseosa. *Br J Dermatol* 2002;147:1127-34.
28. Conner K, Nern K, Rudisill J, O'Grady T, Gallo RL. The antimicrobial peptide LL-37 is expressed by keratinocytes in *condyloma acuminatum* and *verruca vulgaris*. *J Am Acad Dermatol* 2002;47:347-50.

## EVALUACIÓN

1. Las respuestas de inmunidad innata:
  - a) Son respuestas específicas a los antígenos.
  - b) Inducen memoria inmunológica.
  - c) No requieren exposición previa al antígeno.
  - d) Son respuestas clonales de linfocitos T y B.
  - e) Son consecuencia de la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa.
2. Los péptidos antimicrobianos (PAM) están presentes en los siguientes seres vivos, excepto:
  - a) Humanos.
  - b) Plantas.
  - c) Insectos.
  - d) Animales.
  - e) Parásitos, hongos, bacterias.
3. Las mucosas y la piel son los principales tejidos productores de péptidos antimicrobianos debido a que:
  - a) Son tejidos que ocupan gran extensión en el organismo.
  - b) Tienen un gran número de células inmunocompetentes.
  - c) Constituyen el primer contacto con los microorganismos.
  - d) Genéticamente tienen mayor capacidad de síntesis de estas moléculas.
  - e) Son los únicos tejidos que pueden hacerlo.
4. Los péptidos antimicrobianos:
  - a) Son moléculas de alto peso molecular con carga negativa.
  - b) Son pequeñas moléculas con carga positiva.
  - c) Son proteínas hidrofóbicas presentes en la superficie del queratinocito.
  - d) Son péptidos secretados por los linfocitos de memoria.
  - e) Son moléculas efectoras de la inmunidad adaptativa.
5. En relación con la síntesis de los péptidos antimicrobianos:
  - a) Son sintetizados como cadenas únicas que para ser funcionales requieren su agregación.
  - b) Su síntesis depende de grandes concentraciones de iones divalentes.
  - c) Para inducir su síntesis se precisa de la activación de linfocitos específicos.
  - d) Requieren subunidades que deben ser ensambladas para ser activos.
  - e) Son sintetizados como moléculas precursoras que necesitan la remoción de un péptido para ser activos.
6. Para la expresión de péptidos antimicrobianos, las siguientes aseveraciones son correctas, excepto:
  - a) Son sintetizados como cadenas únicas que para ser funcionales requieren su agregación.
  - b) Su síntesis depende de grandes concentraciones de iones divalentes.
  - c) Para inducir su síntesis se precisa de la activación de linfocitos específicos.
  - d) Requieren subunidades que deben ser ensambladas para ser activos.
  - e) Son sintetizados como moléculas precursoras que necesitan la remoción de un péptido para ser activos.

- a) Se requiere la activación de los receptores toll-like (TLR) por los patrones moleculares de patogenicidad (PAMP) de los microorganismos.
- b) Algunos son producidos constitutivamente mientras que otros necesitan la participación de las citocinas.
- c) Se requieren rutas de señalización dependientes de los factores de transcripción NF/ $\kappa$ .
- d) Precisan de receptores TLR presentes en el núcleo de la célula productora de estos péptidos.
- e) La ruta de señalización es semejante a las respuestas de fase aguda.
7. Para la clasificación de los péptidos antimicrobianos, las siguientes aseveraciones son correctas, excepto:
- a) Se clasifican de acuerdo con el número de los puentes disulfuro que contienen.
- b) Se dividen en varios grupos dependiendo si son péptidos catiónicos o aniónicos.
- c) En el humano se clasifican en defensinas, catelicidinas e histatinas.
- d) Su carácter lineal o circular es un criterio de clasificación.
- e) Su clasificación depende de la especie que los produce.
8. Las defensinas presentes en el humano:
- a) Son moléculas aniónicas ricas en ácido glutámico.
- b) Son moléculas catiónicas ricas en arginina.
- c) Forman estructuras de  $\alpha$ -hélice.
- d) Su acción es independiente de la concentración de sales.
- e) Se clasifican en  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\theta$ .
9. ¿Qué defensina se almacena en los cuerpos laminares de los queratinocitos, se aisló de piel psoriásica y es activa en la maduración de células dendríticas y linfocitos T?:
- a)  $\alpha$  defensina.
- b) hBD-1.
- c) hBD-2.
- d) hBD-3.
- e)  $\theta$ -defensina.
10. La siguiente información de la catelicidina humana es correcta, excepto:
- a) Es un péptido de 37 aminoácidos.
- b) Se almacena como precursor inactivo.
- c) La activación de su gen requiere la presencia de la forma activa de la vitamina D.
- d) Su estructura secundaria es  $\beta$ -plegada.
- e) Se une y neutraliza al lipopolisacárido bacteriano.
11. Las posibles explicaciones de la acción citotóxica de los péptidos antimicrobianos son correctas, excepto:
- a) El primer paso de su interacción con su célula blanco se debe a su carácter catiónico y los componentes negativos de la membrana del microorganismo.
- b) Al asociarse con la membrana de la célula blanco facilita el reconocimiento de los linfocitos para inducir la síntesis de anticuerpos citotóxicos.
- c) El carácter antipático de la molécula permite su inserción a la membrana generando poros.
- d) La citotoxicidad es consecuencia de efectos acumulativos de la modificación de energía debido a la concentración de iones a través de la membrana.
- e) Los péptidos pueden entrar a la célula modificando su metabolismo y conducir a su muerte.
12. En relación con los mecanismos de resistencia hacia los péptidos antimicrobianos, las siguientes aseveraciones son correctas, excepto:
- a) Es un fenómeno muy común hacia la flora bacteriana de la piel.
- b) Es un fenómeno raro de descripción reciente.
- c) Para explicar el fenómeno se ha descrito la modificación de los constituyentes aniónicos de la superficie bacteriana.
- d) La participación de bombas de eflujo evita la acumulación de estas moléculas en su célula blanco.
- e) La producción de proteasas neutraliza su acción.
13. Debido al carácter multifuncional de los péptidos antimicrobianos, se ha propuesto el cambio de su nombre por:
- a) Péptidos catiónicos multifuncionales.
- b) Péptidos catiónicos de defensa del huésped.
- c) Moléculas poliefectoras de la respuesta innata.
- d) Péptidos antipáticos multifuncionales.
- e) Efectores multifuncionales de resistencia inmunitaria.

14. La actividad proinflamatoria es consecuencia de los siguientes efectos, excepto:
- Inducción de síntesis de anticuerpos y citocinas inmunomoduladoras.
  - Secreción de quimiocinas.
  - Liberación de histamina por células cebadas.
  - Reclutamiento de células inmunocompetentes.
  - Apoptosis.
15. La propuesta del uso de los péptidos antimicrobianos en la reparación de heridas surgió de los siguientes hechos, excepto:
- Tienen acción mitogénica sobre fibroblastos y células epiteliales.
  - Las concentraciones de LL-37 son bajas en las úlceras.
  - Son inductores de angiogénesis.
  - En la piel quemada, las concentraciones de estos péptidos son deficientes.
  - Favorecen la migración de células dendríticas.
16. Las concentraciones mínimas inhibitorias de los péptidos antimicrobianos están en el siguiente rango:
- 1-10 mg/mL.
  - 0.1-100 µg/mL.
  - 0.1-100 mg/mL.
  - 100-500 µg/mL.
  - 10-100 mg/mL.
17. Los péptidos antimicrobianos tienen un papel dual porque:
- Son activos en enfermedades parasitarias e inactivos en enfermedades virales.
  - Son activos en la respuesta inmunitaria innata e inactivos en la respuesta inmunitaria adaptativa.
- c) Sus concentraciones aumentan durante las infecciones así como en trastornos inflamatorios crónicos.
- d) Producen citocinas proinflamatorias en pacientes inmunodeficientes.
- e) Sus concentraciones disminuyen en las infecciones intracelulares y aumentan en las infecciones oportunistas.
18. En la psoriasis las concentraciones de péptidos antimicrobianos se encuentran:
- Aumentadas cuando hay infecciones.
  - Muy disminuidas.
  - Sin cambio.
  - Muy aumentadas en ausencia de sobreinfecciones.
  - No se detectan.
19. En la dermatitis atópica, las concentraciones de péptidos antimicrobianos se encuentran:
- Disminuidas, lo que explica el desarrollo de sobreinfecciones.
  - Aumentadas cuando hay infección.
  - Sin cambio.
  - No se detectan.
  - Muy aumentadas en ausencia de sobreinfecciones.
20. Las principales actividades de los péptidos antimicrobianos son las siguientes, excepto:
- Servir de puente entre la inmunidad innata y la adaptativa.
  - Angiogénesis.
  - Mitogénesis.
  - Alteraciones cromosómicas.
  - Diferenciación celular.

El Consejo Mexicano de Dermatología, A.C. otorgará dos puntos con validez para la recertificación a quienes envíen las seis evaluaciones correctamente contestadas que aparecen en cada número de *Dermatología Revista Mexicana*.

El lector deberá enviar las seis evaluaciones, una por una o todas juntas, a la siguiente dirección:

**Dermatología Revista Mexicana**

Tzinnias 10, col. Jardines de Coyoacán, CP 04890, México, DF.

**Fecha límite de recepción de evaluaciones:** 31 de enero del 2008.