

YENİ PEPTİD ANTİBİYOTİK OLAN MAGAİNİN VE PEKSİGANANIN ETKİLERİ

EFFECTS OF MAGAİNİN AND PEXİGANAN AS NEW PEPTİDE ANTİBİOTİCS

Teoman Z. APAN¹

GİRİŞ

Kemoterapinin temellerinin atılmış olduğu 20. yüzyılın ortalarında, penisilin keşfi ile birçok hastalığın tedavisi mümkün olmuş ve bu olay yüzyılın buluşu olarak tarihe geçmiştir. Bundan sonraki yıllar içinde antibiyotiklere karşı gelişen direncin giderek artması yeni antibiyotiklerin geliştirilmesini hızlandırmıştır. Bu araştırmalar sonucunda, son yıllarda antimikrobik peptidler adı verilen yeni bir antibiyotik sınıfı ortaya çıkmıştır. Geçtiğimiz 15 yıllık süre içinde böceklerden insanlara kadar değişen bir çok canlıdan, 100'den fazla antimikrobik peptid (ki bunlara magainin, sekropin, protegrin ve defensin dahildir) izole edilmiştir. Bu peptidler canlıların vücudunda doğal olarak bulunmakta ve mikroorganizmalara karşı hayvanların (veya diğer bazı canlıların) vücudunda etkin bir biçimde kullanılmaktadır. Antimikrobik peptidler bakteri membranına, bakterisid etkide bulunarak selektif olarak hasar vermektedir. Bu derlemede amacımız, pek bilinmeyen peptid antibiyotiklerden magainin ve türevi peksigananin etkilerinden bahsetmek ve bu ilaç ile ilgili gelişmeleri ele almaktır. Doğal olarak canlılarda bulunabilen bu antibiyotiklerin yurdumuzda da sentez yoluyla elde edilmesi ve yeni keşiflere basamak teşkil etmesi amacıyla konunun irdelenmesi amaçlanmıştır.

Yüzlerce peptid antibiyotik tanımlanmış olmasına rağmen, sentez edildikleri bölgeye göre temel olarak iki gruba ayrılırlar (1- 4):

1- Nonribozomal olarak sentez edilen peptidler (örneğin gramisidinler, polimiksinler, basitrasinler, glikopeptidler vb.)

2- Ribozomal olarak sentez edilen peptidler (doğal peptidler)

Nonribozomal olarak sentez edilen peptidler aminoasitlerden elde edilirler. Bunlar bakteri, mantar ve *Streptomyces*'lerde bulunan karmaşık yapıdaki peptidlerdir. Ribozomal olarak sentez edilen doğal peptidlerin yapıları net biçimde tanımlanmıştır.

Peptid antibiyotikler elde edildikleri konağa göre de sınıflandırılabilirler. Bunlar memeli peptidleri, amfibi peptidleri, böcek peptidleri, bitki peptidleri, insan peptidleri ve hatta virüs peptidleri olarak adlandırılabilirler. Peptid antibiyotikler genellikle pozitif yüke sahiptir ve genellikle sayıları iki ile dokuz arasında değişen aminoasitten meydana gelirler.

Son yıllarda, zararlı patojenlere karşı doğal konak mekanizmaları kullanılarak daha akılcı antibakteriyel ilaçlar geliştirilmektedir. Yıllarca kurbağa derisinden, sağlığa yararlı olmasından dolayı Güney Amerika ülkelerinde faydalanılmıştır ve halen tıbbi amaçla kullanılmaktadır. Kiss ve Michl adlı araştırmacılar antimikrobik ve hemolitik peptidlerin *Bombina variegata* türü kurbağanın deri salgılarında bulunduğunu ortaya koymuş ve bu 24 aminoasitli antimikrobik peptide "bombinin" adı verilmiştir (4, 5). 1972'de mellitin adı verilen

¹Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale
Yazışma adresi: Dr. Teoman Zafer APAN, Susurluk Sokak 3/2, Aşağıeğlence / Ankara
e-posta: teomanapan@yahoo.com Tel: +90 312 325 80 06 Fax: +90 312 252 26 25

antimikrobik ve hemolitik peptid olan ve arı venomundan izole edilmiş katyonik antimikrobik peptidin yapı ve mekanizmaları incelenmeye başlanmıştır. Antimikrobik peptidlere bir örnek de dermaseptinler olup *Phylomedusa sauvagii* olarak adlandırılan kurbağadan elde edilmiştir ve antifungal aktivitesinin oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir (6).

Evrim ağacı boyunca süregelen, ribozomal yolla sentez edilen ve doğuştan bağışıklığın önemli bir kısmını teşkil eden katyonik antimikrobik peptidler son yıllarda tanımlanmıştır. Bu peptidlerin incelenmesi sonucu yapılarının genel olarak anyonik antimikrobik peptidlere benzer olduğu, ancak aminoasit dizilerinde farklılıklar gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bu gözlem antimikrobik peptidlerin, üretildiği ortamdaki mikroorganizmalara karşı iyi etki edebilmek amacıyla evrimleştiğinin düşünülmesine yol açmaktadır (7). Peptidlerin asıl hedefinin hücre membranındaki lipid matriks olduğu düşünülmüştür. Peptid antibiyotiklerde bulunan fosfolipidler bakteriyel membranlara yüksek oranda bağlanarak selektif toksik etki gösterirler. Ancak bakterilerdeki etki mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir. Bu peptidlerin hücre membranındaki lipid matrikse olan etkileri incelendiğinde hücre membranının geçirgenliğinin arttığı, calcein adlı maddenin salınımını arttırdığı ve zardaki porların açıldığı elektron mikroskobu ile gösterilmiştir (8,9). Peksiganan asetat, bakterisid etkisini mikroorganizmanın hücre membranındaki permeabilitesini artırarak gösterir. Bilindiği gibi bakteri hücre membranları negatif şarjlı fosfolipidler şeklinde düzenlenmişlerdir ve bu durum magainin peptidlerinin pozitif yüklü helikslerinin bağlanmasını aktive eder, yani çeker. Peksiganan asetat gibi peptidlerin bakteri reseptörleri veya enzimleri ile ilişkiye girmedikleri düşünülmektedir (10,11)

Peptid antibiyotiklere bir örnek olarak protegrinler verilebilir. Protegrinler, lökositlerden izole edilen geniş spektrumlu antibiyotik peptidlerdir ve gram negatif anaerob bakterilerle meydana gelen kronik ve periodontal enfek-

siyonların tedavisinde etkili oldukları gösterilmiştir (12).

Hayvanlardan elde edilen antimikrobik peptitler arasında magaininler, ilk olarak Afrika Pençeli Kurbağası olarak bilinen *Xenopus laevis*'in derisinden izole edilmiştir. *X.laevis*'in derisinde magaininlerden başka bir düzine kadar daha peptidin bulunduğu gösterilmiştir. *X.laevis*'in derisindeki bezler dışında gastrik mukoza hücreleri ve sindirim sisteminde de bu tür peptitlerin bulunduğu görülmüştür. Tedavi amacıyla kullanılan magaininler, memeli hücrelerine karşı önemli bir toksik etki göstermeden, bakteri hücre membranının geçirgenliğini artırarak etkili olmuşlardır (6).

Bir çalışmada, *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Proteus vulgaris* gibi 3 tür gram negatif bakterinin hücre duvarlarına magainin'in etkileri incelenmiştir. Magainin, *E.coli* ile muamele edildiğinde, hücre içi potasyum iyonlarının uyarılması sonucu hücre ölümüne sebep olduğu gözlenmiştir. Burada bakteri yüzeyinde birkaç küçük kabarcık ve sızıntı olduğu görülmüştür. Peptidin pozitif yükünün artması sonucu dış duvar geçirgenliği artmış ve bakterisid etki meydana gelmiştir. Katyonik peptidler de etkin bir şekilde asidik fosfolipidlerden zengin membranların geçirgenliğini etkileyerek elektrostatik etkileşim ile bakterisid etki meydana gelmesine sebep olurlar (13).

Bir başka çalışmada, magainin 2'nin *E.coli* ve *Staphylococcus aureus*'un üremesini engelleme yeteneği araştırılmıştır. Buna göre suni olarak geliştirilen peptidlerden A87-ISM ile hemoliz görülmemesine karşın, MSI-78 ve MSI-78A'nın yüksek minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) değerlerinde kuvvetli hemoliz oluşturdukları gösterilmiştir. Suni olarak geliştirilen peptidler de normal peptidler gibi antibakteriyel aktivite göstermiştir (14).

Yapılan bir çalışmada, peksiganan asetat'ın geniş spektrumlu antimikrobik etkiye sahip olduğu ve birçok gram pozitif, gram negatif aerob ve anaerob bakteriler ile bazı mantar türlerine karşı etkili olduğu bulunmuştur (7). Yapılan diğer bir

çalışmada ise, *in vitro* olarak aerobik bakteri türlerinin %91'i peksiganan ve ofloksasine, %92'si siprofloksasine duyarlı bulunmuştur. Sadece enterokokların eradike edilebilmesi için peksigananın yüksek konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulmuştur. Anaerob bakterilerin %97'si peksiganana duyarlıdır ve *Candida* izolatlarının ise %30'u bu ilaç ile etkisiz hale getirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, peksigananın topikal olarak uygulanması sonucu, *Pseudomonas aeruginosa*'yı domuz derisinden logaritmik olarak beş misli ve insanların perineal deri florastından logaritmik olarak dört misli azalttığı gösterilmiştir (15).

Başka bir çalışmada ise 385 enfekte diyabetik ayak ülserli hastada tespit edilen mikrobiyal eradikasyon oranı peksigananda %66 iken ofloksasinde %82 bulunmuştur. Ancak peksiganan uygulanan enfekte diyabetik ayak ülserli birçok hastada mikrobiyal eradikasyon sağlanamamasına rağmen klinik düzelenin meydana geldiği bildirilmiştir. Mikrobiyal olarak eradikasyona rağmen klinik cevabın farklılık göstermesi peksigananın etkinliğinin düşük gibi yorumlanmasına yol açmaktadır (10).

Enfekte diyabetik ayak ülserleri bulunan 490 hastanın tedavisinde peksiganan ve fluorokinolonlar (ofloksasin) kıyaslamalı olarak çalışılmış ve hastalara uygulanan 14-28 günlük tedavi sonucunda peksiganan ve ofloksasinin klinik cevap oranlarının (sırasıyla %84, %93) benzer olduğu bulunmuştur (11). Diabetes mellitus'un ciddi bir komplikasyonu olan deri ülserleri daha çok ekstremitelerin basınç noktalarında meydana gelir. Zayıf periferik kan dolaşımı vücudun enfeksiyona karşı savunma mekanizmasını sınırlandırarak iyileşmeyi yavaşlatır. Debridman ve antibiyotik tedavisini ihtiva eden agresif yara bakımı bu olgularda tedavinin esasını teşkil eder. Bu ülserlerde kolonize olan ve sayısı giderek artan patojen bakteriler geleneksel antibiyotiklere karşı dirençlidir. Ayrıca zayıflamış bölgesel kan dolaşımı, enfekte bölgede antibiyotiklerin MIC'ini düşürmektedir. Bu sebeple enfeksiyonun tedavisinde topikal antibiyotik tedavisi daha

uygun olacaktır (10,11).

Çok merkezli randomize çift kör bir çalışmada, diyabetik ayak ülserli hastalara topikal peksiganan asetat (%1'lik) uygulanması yanında oral ofloksasinin verilmesi sonucunda %90 oranında iyileşme sağlanmıştır. Ofloksasin kullanan hastaların %82'sinde ve peksiganan asetat kullanan hastaların %66'sında şikayetlerinin tümü ortadan kalkmıştır. Sınırlı olan bu veriler dahi peksiganan asetatın etkili ve tolere edilebilir olduğunu ortaya koymuştur (16). Matsuzaki ve arkadaşlarının başka bir araştırmasında hücre membranındaki yük artışları incelenmiş ve peptidin, yük artışı fazla olan negatif yüklü membranlara daha kuvvetli bağlandığını ortaya çıkarmıştır. Bu da bağlanma olayında elektrik yüklerinin önemli rol oynadığını düşündürmüştür. Magaininin yüksek düzeyde membranlara bağlanma kapasitesine, yüksek derecede litik (eritici) aktiviteye ve orta derecede por (delik) açabilme etkisine sahip olduğu gösterilmiştir (17).

Yapılan bir çalışmada, gram pozitif ve gram negatif toplam 3109 izolatin, peksiganana oral duyarlılığı incelenmiştir. MIC90'da 32 g/ml veya daha düşük konsantrasyonlarda *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus faecium*, *Corynebacterium sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Stenotrophomonas sp.*, *Enterobacteriaceae* familyasındaki bazı bakterilere, *Bacteroides sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, ve *Propionibacterium sp.*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur. Oksasilin, sefazolin, sefoksitin, imipenem, ofloksasin, siprofloksasin, gentamisin, ve klindamisin gibi antibiyotiklere karşı direnç gösteren mikroorganizmalarda peksiganana karşı çapraz direnç geliştiğine dair herhangi bir delile rastlanmamıştır. Bu çalışmada peksigananın geniş spektrumlu bakterisid bir peptid antibiyotik olduğu ve topikal antibakteriyel bir ilaç olarak kullanılmasının son derece yararlı olduğu sonucuna varılmıştır (18). Peksigananın metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a (MRSA) karşı oldukça etkili olduğu gözlenmiştir. Geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi

bulunan bir magainin analogu olan peksigananin etki mekanizması ve yapısından dolayı direnç gelişme ihtimali oldukça düşüktür (19).

SONUÇ

Peptid antibiyotiklerin keşfi, gelecek yıllarda yeni antibiyotikler bulunacağı umudu açısından

önem arz etmektedir. Bunun yanında peptid antibiyotiklerden magainin ve türevi peksigananin etkinliğinin, yapılacak olan diğer çalışmalarla da kanıtlanması gerekmektedir. İnsan ve patojen mikroorganizmalar arasındaki savaşta daha birçok çalışmalara ihtiyaç duyulmakla beraber bu gelişmeler olumlu olarak değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Hancock R.E.W, Falla T, Brown M.H. Cationic bactericidal peptides. *Adv. Microb. Physiol* 1995; 37: 135-75
2. Kleinkauf H, Dohren H von. Peptide antibiotics beta-lactams and related compounds. *Crit. Rev. Biotechnol* 1988; 8: 1-32
3. Perlman D, Bodansky M, Biosynthesis of peptide antibiotics. *Annu. Rev. Biochem* 1971; 40: 449-64
4. Hancock R.E.W, Chapple DS. Peptide antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 6: 1317-23
5. Csordas A, Michl H. Isolation and structure of a haemolytic polypeptide from the defensive secretion of European Bombina species. *Monatsh. Chem.* 1970; 101: 182-9
6. Mor A, Nikolas P. Isolation and structure of novel defensive peptides from frog skin. *Eur. J. Biochem.* 1994; 219: 145-54
7. Hancock REW. Peptide antibiotics. *Lancet.* 1997; 349: 418-22
8. Matsuzaki K. Magainins as paradigm for the mode of action of pore forming polypeptides. *Biochim Biophys Acta.* 1998; 1376(3): 391-400
9. Zasloff M, Miyajima K. Mechanism of synergism between antimicrobial peptides magainin 2 and PGLa. *Biochemistry,* 1998; 37(43): 15144-53
10. Lipsky BA, MacDonald D, Litka PA. Treatment of infected diabetic foot ulcers: topical MSI- 78 vs oral ofloxacin. *Diabetologia* 1997; 40: A482
11. Lipsky BA, Litka PA, et al. Microbial eradication and clinical resolution of infected diabetic foot ulcers treated with topical MSI-78 vs oral ofloxacin. Abstract LM-57. 37th ICAAC, September 1997; Toronto, Canada.
12. Miyasaki KT, Iofel R, Oren A, Huynh T, Lehrer RI. Killing of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* by protegrins. *J Periodontal Res,* 1998; 33(2): 91-8
13. Matsuzaki K, Sugishita K, Harada M, Fujii N, Miyajima K. Interactions of an antimicrobial peptide, magainin 2, with outer and inner membranes of Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta,* 1997; 1327(1): 119-30
14. Iwahori A, Hirota Y, Sampe R, Miyano S, Numao N. Synthesis of reversed magainin 2 analogs enhanced antibacterial activity. *Biol Pharm Bull.* 1997; 20(3): 267-70
15. Fuchs PC, Barry AL, Brown SD. In vitro antimicrobial activity of MSI-78, a magainin analog. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 1213-6
16. Matsuzaki K, Nakamura A, Murase O, Sugishita K, Fujii N, Miyajima K. Modulation of magainin 2-lipid bilayer interactions by peptide charge. *Biochemistry,* 1997; 36(8): 2104-11
17. Ge Y, MacDonald D, Henry MM, Hait HI, Naelson KA, Lipsky BA, Zasloff MA, Holroyd KJ. In vitro susceptibility to pexiganan of bacteria isolated from infected diabetic foot ulcers. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1999; 35(1): 45-53
18. Lamb HM, Wiseman LR. Pexiganan acetate. *Drugs,* 1998; 56(6):1047-52; 1053-4
19. Numao N, Hirota Y, Iwahori A, Kidokoro S, Sasatsu M, Kondo I, Itoh S, Itoh E et al. Biological activities of 1,1,6-trisubstituted indanes: beyond magainin 2. *Biol Pharm Bull,* 1999; 22(1): 73-6