

## **7. Перспективи використання рекомбінантних пробіотичних мікроорганізмів – продуцентів дефензину у лікуванні запальних захворювань кишечника**

**Вікторія Деркач**

*Національний університет харчових технологій*

**Вступ:** Запальні захворювання кишечника (ЗЗК) носять рецидивуючий хронічний характер з чергуванням періодів загострень і ремісії, що пояснює постійний інтерес дослідників до вивчення патогенетичних механізмів захворювання. Місцеві і системні запальні реакції стінки кишечника спричиняються рядом факторів, у тому числі продуктами життєдіяльності бактерій. Контакт з патогенними бактеріями активує «вроджений захист» шляхом експресії прозапальних генів і секреції цитокінів і хемокінів. Ендогенні антимікробні пептиди (АМП) відносяться до неспецифічних факторів гуморальної вродженої імунної системи і забезпечують захист проти широкого спектру бактерій, мікроміцетів і оболонкових вірусів [2]. Секреція АМП клітинами кишкової стінки спрямована на активацію вроджених імунних механізмів, проте їх значимість при протіканні ЗЗК нез'ясована, що є актуальним напрямком досліджень.

### **Перспективи використання дефензину для лікування хвороби Крона**

Дефензини представляють родину амфіфільних, катіонних, багатих цистеїновими залишками пептидів з молекулярною масою 3...4 кДа, молекула яких складається з 29...47 амінокислотних залишків. Молекули дефензину відрізняються обов'язковою наявністю шести цистеїнових залишків, що утворюють три внутрішньомолекулярні дисульфідні містки, які функціонально стабілізують молекулу [1]. Бактерицидна дія дефензину включає в себе безпосередню взаємодію

з інфекційним агентом, пороутворення в клітинній мембрані бактерій, інтерналізацію молекул дефензинів з наступним антиметаболічним ефектом [3].

Згідно Європейської статистики, 200 чоловік із 100 тис. страждають на хворобу Крона. Пацієнти мають на 8-ій хромосомі 3 генних відрізки, відповідальних за синтез дефензинів, в той час як здорові люди мають 4. Фармакологічна терапія хвороби Крона полягає в протизапальних заходах, нормалізації імунітету, відновленні нормального травлення і симптоматичній терапії. Насьогодні ще не розроблено препаратів для комплексної терапії із-за з'ясованих до кінця етіології та патогенезу захворювання, однак, регулярна адекватна профілактика загострень і дотримання дієти та режиму, використання пробіотичних препаратів, що стимулюють вироблення дефензинів має позитивні наслідки [4].

У Німеччині розроблено препарат «Мутафлор» на основі пробіотичного штаму мікроорганізму *Escherichia coli* Nissle 1917, що є індуктором синтезу людського дефензину HBD2 у епітеліальних клітинах кишечника.

Як перший крок у розробленні альтернативного підходу до лікування створено генно-модифікований штам *E. coli* K-12 MG1655, що є продуцентом людських  $\alpha$ -дефензину 5 (HD5) та  $\beta$ -дефензину 2 (HBD2). Для цієї мети гени, що кодують проформи з сигнальною послідовністю HD5, та ген, що кодує HBD2 були клоновані у вектор експресії плазмиди під контролем T7 промотору.

Однак існують істотні недоліки використання *E. coli*, як продуценту  $\alpha$ -дефензину 5 (HD5) та  $\beta$ -дефензину 2 (HBD2) – негативний вплив на мікроорганізм та чутливість отриманого дефензину до протеаз, що призводить до зниження його активності. Отримання препропептиду дефензину виключає ці недоліки. Досліджено, що отримання комплексу пептиду із тіоредоксином (TrxA) призводить до збільшення виходу розчинних комплексів.

Рекомбінантна *Escherichia coli* продукує дефензин, злитий із His-міткою або з YEBF білком, що секретується в культуральну рідину, і є розчинним комплексом [5].

Утворення даного комплексу є необхідною мірою для підвищення синтезу дефензинів.

**Висновки:** Отже, використання рекомбінантних пробіотичних мікроорганізмів-продуцентів HD5 та HBD2 є перспективним напрямком створення препаратів для профілактики та допоміжної терапії хвороби Крона.

## Література

1. Абатуров А.Е. Катионные антимикробные пептиды системы неспецифической защиты респираторного тракта: дефензины и кателицидины // Теоретична медицина. – 2011. – № 7. – С. 161–170.
2. Ильяшенко М.Г., Тарасова Г.Н., Гусева А.И. Эндогенные антимикробные пептиды и их клинико-патогенетическая значимость при воспалительных заболеваниях кишечника // Медицинские науки. – 2012. – №2. – С. 25-29.
3. Мамчур В.И., Левых А.Э. Дефензины – эндогенные пептиды с антиинфекционными и противоопухолевыми свойствами // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2. – С. 315–321.
4. Limdi J. K., O'Neill C., McLaughlin J. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology? // World J. Gastroenterol. – 2010. – V. 9. – № 7. – P. 83–90.
5. Seo E. J., Construction of recombinant *E. coli* Nissle 1917 (EcN) strains for the expression and secretion of defensins [text] : Doctoral thesis for a doctoral degree at the Graduate School of Life Sciences, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Infection and Immunity. – 2012. – 128 p.