



Tema:
Infeksjoner

Naturlig forekommende antimikrobielle peptider – lovende nye antibiotika, eller ris til egen bak?

Antimikrobielle proteiner og peptider er viktige elementer i immunsystemet. De er funnet i praktisk talt alle levende organismer. I dyr er de spesielt funnet på mucosaoverflater, i kroppsvæsker og i hvite blodceller. Peptidene kan variere i størrelse, struktur og aktivitet, men de fleste er amfipatiske og positivt ladet. De dreper enkelte virusarter, bakterier, sopp, parasitter og noen svulster.

Peptidene kan klassifiseres etter primær, sekundær eller tertiær struktur, funksjon eller opphav. De virker hovedsakelig ved å ødelegge cytoplasmamembranen, og dreper mikrobenene raskt.

Det blir nå forsøkt å utvikle peptidene til medikamenter, som sannsynligvis vil bli brukt ved klinisk sykdom innen få år, både som lokalbehandling og systemisk behandling ved infeksjoner. Enkelte bakterier er naturlig resistente mot peptidene, mens det bare er rapportert om ett tilfelle av ervervet resistens. En eventuell resistensutvikling mot peptidene må bli fulgt meget nøye i årene fremover.

Levende organismer har utviklet raske og generelle forsvarsmekanismer for å beskytte seg mot skadelig påvirkning utenfra. Forsvarsmekanismene blir inndelt i uspesifikt eller medfødt immunsystem og spesifikt eller ervervet immunsystem. Det spesifikke immunsystemet har høy spesifisitet og «hukommelse», mens det uspesifikke systemet har ingen «hukommelse» og liten eller ingen spesifisitet. Det spesifikke immunsystemet må induseres for å kunne virke. Ved mikrobielle angrep vil dette systemet ofte være for tregt initialt til å hindre infeksjonssykdom. Det uspesifikke immunsystemet er stort sett alltid til stede, eventuelt induseres det meget raskt og meget effektivt. Det er derfor ikke overraskende at de fleste patogene bakterier er spesielt godt utrustet for å unngå det uspesifikke immunsystemet. Det uspesifikke og det spesifikke forsvaret er imidlertid avhengige av hverandre for å kunne virke optimalt.

Lars H. Vorland

lars.vorland@rito.no

Mikrobiologisk avdeling
Regionsykehuset i Tromsø
9038 Tromsø

Vorland LH.

Antimicrobial peptides.

Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 3191–6.

Background. Antimicrobial proteins and peptides are important elements of host defence that are found in virtually all living species examined so far.

Material and methods. This review is based on the author's own research and a search of Medline (key words: antimicrobial peptides, biochemistry, mode of action, resistance).

Results. In animals, antimicrobial peptides are found on mucosal epithelial surfaces, in body fluids and in the microbicidal organelles of phagocytic cells. The peptides vary in size, structure and activity, but most are amphiphilic and positively charged. They act on a broad range of bacteria, fungi, viruses, parasites and certain tumour cells.

Cationic peptides can be classified into several groups on the basis of sequence similarities, secondary and tertiary structure, function and origin. Their main acting mechanism is thought to be the disruption of the cytoplasmic membrane which kill bacteria swiftly and thoroughly.

Interpretation. Antimicrobial peptides are promising novel antibiotic candidates for clinical use, topically as well as systemically. So far, development of resistance against antimicrobial peptides has not been a problem, but this will have to be monitored closely in the years ahead.

Det uspesifikke immunsystemet

Det uspesifikke immunsystemet består av fysiske barrierer, som hud og mucosa, jernbindende proteiner, som transferrin og laktoferrin, komplement og fagocytterende celler. De fagocytterende cellene er av spesiell interesse hva angår antimikrobielle proteiner og peptider.

Fagocytose

Når en fagocytt kommer i kontakt med en bakterie, kan bakterien bli omsluttet av fagocytens cellemembran og dratt inn i fagocytten inne i en membranomsluttende vakuole som kalles et fagosom. Inne i fagosomet vil det bli en rask pH-senkning, som i seg selv vanligvis ikke er nok til å drepe bakterien.

Selve bakteriedrapet foregår langs to ho-

I Tidsskriftet nr. 26–29/2001 publiseres en serie artikler om mikrobiologiske og infeksjonsmedisinske emner. Serien er redigert av Petter Jensen Gjersvik i samarbeid med de andre fagredaktørene

Tabell 1 Antimikrobielle peptider/proteiner i hvite blodceller. Størrelse i kD i parentes. Laktoferrin og katelicidin har splittprodukter (etter skråstrek) som defineres som antimikrobielle peptider

Primære granula	(kD)	Sekundære granula	(kD)
Peroksidase	(150)	Laktoferrin	(80)/5/1,2
BPI	(60)	Lysozym	(14)
Serprocidiner	(30)	Fosfolipase A2	(14)
Lysozym	(14)	Katelicidin	(18)/5
Defensiner	(4)		

vedveier, den oksygenavhengige og den oksygenuavhengige. Disse reaksjonene foregår inne i fagolysosomene, som dannes når lysosomer smelter sammen med fagosomer.

Ved oksygenavhengig drap blir oksygen omdannet til superoksid- og hydroksylradikaler, som kan drepe bakterien direkte eller danne bakterietoksiske substanser med bl.a. klor.

Oksygenuavhengig drap blir stort sett utført av peptider og proteiner som finnes både i de primære granula (PG) og i de sekundære granula (SG). Navnene primære og sekundære granula henspiller på hvem som blir først dannet under utviklingen av granulocytene, og ikke på hvilke granula som reagerer først på inntrengere. Hydrolytiske enzymer ødelegger deler av bakteriecelleveggen, mens små peptider kan danne porer i bakteriens cellemembran, med svært rask død for bakterien som resultat. Disse peptidene er del av en stor familie som kalles antimikrobielle peptider.

Antimikrobielle peptider

Antimikrobielle peptider ble oppdaget av to uavhengige forskergrupper. En gruppe i

Sverige undersøkte hvordan insekter kunne drepe bakterier (1), mens en gruppe i California studerte hvordan fagocytter dreper bakterier inne i fagolysosomet (2). Ganske raskt ble man klar over at disse peptidene finnes i alle levende spesies – fra planter til insekter og dyr. Antibakterielle peptider er også funnet i nesten alle bakteriespesies man har undersøkt. I motsetning til peptider produsert av eukaryote celler, blir peptider produsert av prokaryotiske celler ofte betydelig modifisert kjemisk før de blir aktivert og utskilt. I denne artikkelen skal jeg begrense meg til å omtale peptider produsert av eukaryote celler, med spesiell vekt på peptider produsert av pattedyr, inklusive mennesker.

Definisjon av antimikrobielle peptider

Det er i dag to forskjellige definisjoner på antimikrobielle peptider. Hancock & Scott (3) definerer antimikrobielle peptider til å være positivt ladede peptider med mellom 12 og 50 aminosyrer, og med ca. 50% hydrofobiske aminosyrer. Ganz & Lehrer (4) har en bredere definisjon som inkluderer positivt ladede peptider med mindre enn 100 aminosyrer.

I praksis er det liten forskjell på disse to definisjonene, da de fleste naturlig forekommende, positivt ladede peptidene har en størrelse som ligger mellom 12 og 50 aminosyrer. For noen år siden delte man inn disse peptidene etter hvor de ble isolert. Etter som dette feltet har vokst til å omfatte mer enn 500 peptider, har man gått over til å dele dem inn etter struktur (3, 5). Selv om enkeltstrukturene kan ha store forskjeller, ser det ut til at det bare er to strukturelle hovedforskjeller i den tredimensjonale strukturen, og disse to hovedstrukturene har også klare likhetstrekk. Sannsynligvis gjenspeiler dette likhetspunkter i virkningsmekanismer.

I tillegg til disse peptidgruppene finnes det en rekke animalske proteiner som har antibakterielle egenskaper grunnet små positivt ladede peptider inne i disse proteinene.

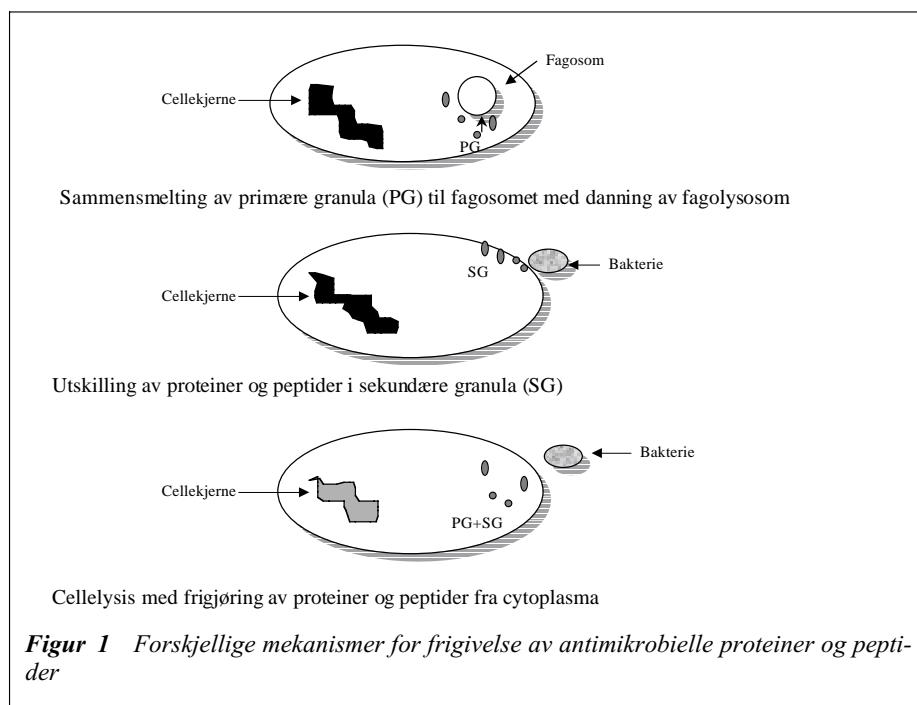
Antimikrobielle peptider i mennesker

Antimikrobielle peptider finnes i en rekke organer i mennesker. De er spesielt rikholdige i organer som er eksponert mot omverden, som luftveier, hud, tarm, urinveier, genitalia, samt i fagocytterende hvite blodceller.

Hvite blodceller. I de polynukleære hvite blodcellene finnes en rekke forskjellige proteiner og peptider (tab 1). Mens proteinene og peptidene i de primære granula er spesielt velegnet til å drepe og fordøye mikrober, er tilsvarende strukturer i de sekundære granula mer spesialisert til å delta i inflammasjonsprosesser, selv om også disse kan delta i mikrobedrap.

De primære granula vil smelte sammen med fagosomet og danne fagolysosom, mens de sekundære granula vil tømme sitt innhold eksternt. Ved cellelysis vil proteiner og peptider bli frigjort fra cytoplasma og tømmes ut i nærmiljøet (fig 1).

Av de proteinene og peptidene som er listet opp i tabell 1, er det bare defensiner og splittprodukter fra laktoferrin og katelicidin som inngår i definisjonen på antimikrobielle peptider. Defensiner er spesielt rikholdig i polymorfonukleære celler, og utgjør mer enn 5% av proteininnholdet i disse cellene hos de fleste pattedyr, inklusive mennesker (2). Defensiner er imidlertid ikke funnet i polymorfonukleære celler fra mus, mens de utgjør 18% av det totale proteininnholdet i kanningulocytter (4, 6, 7). Dette viser hvor vanskelig det kan være å overføre resultater fra dyreforsøk til mennesker. I granulocytter fra mennesker finnes det hovedsakelig tre typer defensiner (human neutrophil defensins, HNP-1–3). De utgjør 99% av det totale defensinnholdet i disse cellene, mens HNP-4 står for resten. Disse defensinene kalles med et fellesnavn for α -defensiner, og aktive α -defensiner består av 29–35 aminosyrer. Man har beregnet at det finnes ca. 3–5 μ g per million humane nøytrofiler. Det finnes ca. 1000 defensinnholdende granula per nøytrofil. Det er beregnet at de fagocytterende vakuolene vil inneholde 1–10 mg/ml defensin. De fleste mikrober vil bli drept



Figur 1 Forskjellige mekanismer for frigivelse av antimikrobielle proteiner og peptider

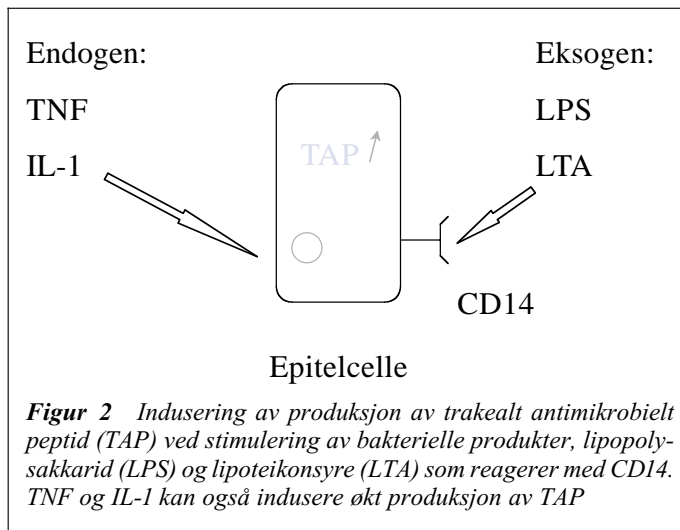
ved konsentrasjoner på 10–100 µg/ml. Konsentrasjonen av HNP-1–3 i plasma hos normale individer er ca. 40 ng/ml, men øker til mer enn 1 µg/ml ved alvorlige bakterieinfeksjoner (8, 9). Den lokale konsentrasjon av defensiner i infisert vev er sannsynligvis langt høyere (4).

Tarm. Antimikrobielle peptider er funnet i store mengder i tynntarm i forskjellige dyrearter. I Panethske celler er det påvist antimikrobielle proteiner som lysozym, fosfolipase A2 og antimikrobielle peptider som kryptdiner i mus (6) og α-defensiner som HNP-5 og HNP-6 hos mennesker (7). Av spesiell interesse er funn av cecropiner i tynntarm hos gris (10). Cecropiner er ellers spesielt assosiert med insekter (5), og funn av liknende, dog ikke identiske strukturer i pattedyr, tyder på at antimikrobielle peptider er godt bevart gjennom utviklingen av forskjellige spesier. Det er antatt at de antimikrobielle peptidene i tynntarm spiller en vesentlig rolle i å holde antall mikrober på et relativt lavt nivå der.

Luftveier. For mer enn 70 år siden rapporterte Fleming at humant luftveissekret kunne drepe bakterier (11). De mest rikholdige antimikrobielle faktorene i luftveiene er lysozym, laktoferrin og sekretorisk leukoprotei-naseinhibitor (SLPI) (12–15). I luftveiene finnes ellers antimikrobielle peptider som LL-37 og β-defensiner som humant β-defensin 1 og 2 (HBD-1 og HBD-2) (16). β-defensiner er litt større enn α-defensiner og består av 38–42 aminosyrer. HBD-1 ble nylig vist å være konstitutivt til stede i spyttkjertler og i gingiva (17) og i luftveiseepitel i de nedre luftveier (18), mens en forskningsgruppe i Tromsø viste at HBD-1 ble uttrykt i trommehinne og ytre øregang (19). Det er vist i dyreforsøk at det finnes andre β-defensiner som er induerbare i luftveiene, bl.a. av bakteriebestanddel som lipopolysakkarid (20) (fig 2). Det er antatt at antimikrobielle proteiner og peptider er viktige forsvarsmekanismer i luftveiene.

Hud. To klasser av antimikrobielle peptider er beskrevet i hud hos mennesker, β-defensiner og katelicidiner (21–24). Nærmere analyser viste tilstedeværelse av HBD-2 og LL-37 i keratinocytter som var stimulert enten av bakterier eller av sykdommer som psoriasis og systemisk lupus erythematosus. I ikke-stimulerte celler kunne man ikke påvise disse peptidene. Analyse av sårsvæske fra hud har vist at denne inneholder HBD-2, LL-37 og α-defensinene HNP-1, HNP-2 og HNP-3 samt lysozym og andre stoffer med sannsynlig opphav i hvite blodceller (25).

Antimikrobielle peptiders virkeområde
Antimikrobielle peptider fra eukaryote celler kan virke mot en rekke forskjellige bak-



Figur 2 Indusering av produksjon av trakealt antimikrobielt peptid (TAP) ved stimulering av bakterielle produkter, lipopolysakkarid (LPS) og lipoteikonsyre (LTA) som reagerer med CD14. TNF og IL-1 kan også indusere økt produksjon av TAP

terier, og mot sopp, enkelte kappekleddede virus, parasitter og enkelte kreftceller (3).

Noen peptider virker best mot grampositive bakterier, andre har størst effekt på gramnegative. Defensiner virker generelt bedre mot grampositive bakterier (4), mens cecropiner isolert fra gris og insekt virker best mot gramnegative bakterier (5).

Noen få bakteriespesies er naturlig resistente mot de fleste peptider (5). Dette gjelder blant annet *Proteus* og *Bacillus*, mens enkelte *Salmonella*- og *Yersinia*-arter kan ha nedsett følsomhet.

Det er gjort mindre forskning på virus, men det er påvist antiviral effekt av enkelte peptider mot HIV, Herpes simplex-virus (HSV) og cytomegalovirus (CMV) (26). Laktoferrin, et jernbindende protein hvor man kan splitte av et lite, antimikrobielt peptid (27), er kjent å kunne virke mot HIV (28), cytomegalovirus (29), HSV1 og HSV2 (30), hepatitt C-virus (HCV) (31), et rotavirus fra aper (32) og poliovirus type 1 (33).

Antifungal effekt av enkelte av disse peptidene in vitro, både mot gjærsopp og mugg-

sopp, er godt dokumentert (34–36). Det er også påvist at enkelte av peptidene kan redusere størrelsen av visse solide svulster av musecellerlinjer og humane cellelinjer (37, 38).

I tillegg til deres antimikrobielle og cytotoksiske egenskaper virker noen defensiner kjemotaktisk (39). Det er vist at enkelte peptider kan ha en gunstig effekt på sårtilheling (21, 40).

Det kan virke som en selvmot-sigelse at kroppen har et forsvarssystem som både angriper mikrober og visse eukaryote celler. Teoretisk vil dette også kunne være en stor ulempe i utviklingen av nye antimikrobielle midler, som nå pågår intenst. Imidlertid

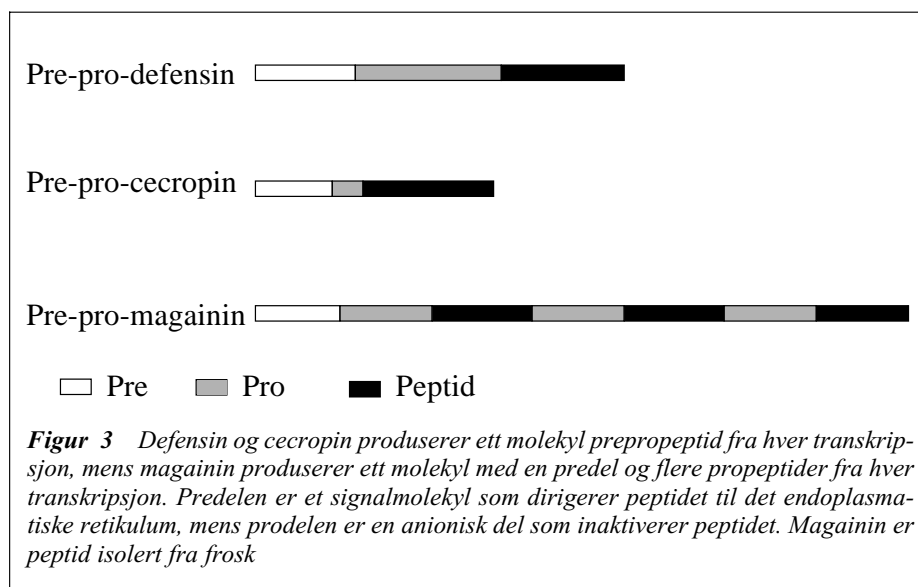
er det systemer som beskytter kroppen mot peptidene, samtidig som de fleste peptidene virker selektivt mot prokaryote celler.

Syntese av antimikrobielle peptider

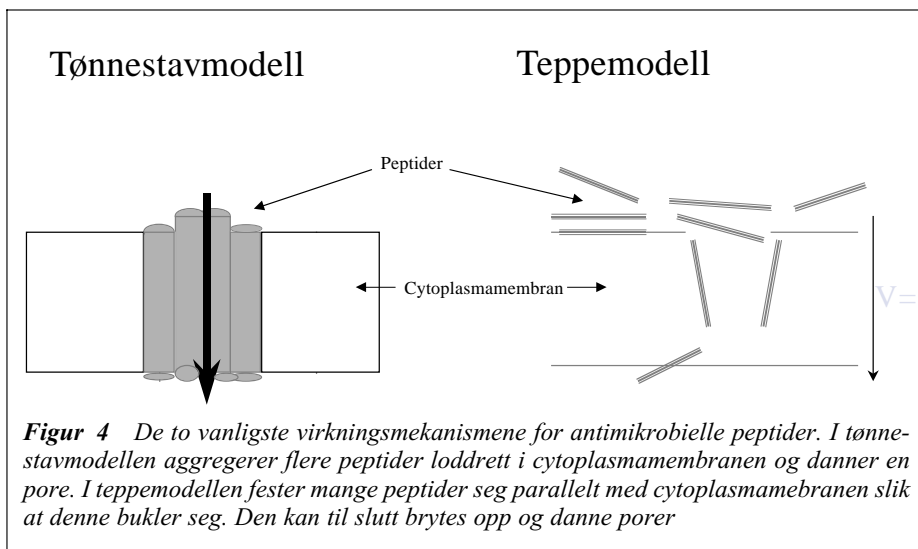
Defensin er syntetisert som et preprodefensin som består av 93–95 aminosyrer (fig 3). Det inneholder 19 aminosyrer som er en signalsekvens som styrer defensinet til det endoplasmatiske retikulum (predel), og en sekvens av 40–45 aminosyrer med anioniske egenskaper (prodel). Man mener at denne anioniske aminosyresekvensen nøytraliserer den aktive kationiske peptidsekvensen. Ved stimulering blir den anioniske sekvensen kløyvd av og peptidet aktivert (41). På denne måten blir de eukaryote cellene beskyttet så lenge peptidet forblir intracellulært. Defensiner kan syntetiseres konstitutivt eller indueres, avhengig av celletyper og organer.

Antibakteriell virkningsmekanisme

Antimikrobielle peptider er positivt ladede molekyler. Den initiale kontakt med målet er



Figur 3 Defensin og cecropin produserer ett molekyl prepropeptid fra hver transkripsjon, mens magainin produserer ett molekyl med en predel og flere propeptider fra hver transkripsjon. Predelen er et signalmolekyl som dirigerer peptidet til det endoplasmatiske retikulum, mens prodelene er en anionisk del som inaktiverer peptidet. Magainin er peptid isolert fra frok



Figur 4 De to vanligste virkningsmekanismene for antimikrobielle peptider. I tønnestavmodellen aggregerer flere peptider loddrett i cytoplasmamembranen og danner en pore. I teppemodellen fester mange peptider seg parallelt med cytoplasmamembranen slik at denne bukler seg. Den kan til slutt brytes opp og danne porer

en elektrostatiske binding til negativt ladede strukturer. I bakteriene er dette hos gram-negative bakterier lipopolysakkarider i ytre cellevegg (42), mens det hos grampositive bakterier er diskutert om den initiale binding foregår mellom peptid og teikonsyre og/eller lipoteikonsyre. Forsøk i vårt laboratorium tyder på at teikonsyre er det initiale mål (43). Peptidene ødelegger deler av celleveggen, og går deretter gjennom den ødelagte celleveggen for å nå et av sine angrepspunkter, cytoplasmamembranen. Dette kalles egen-skapt opptak («self-promoted uptake») (44). I cellemembranen er det påvist flere virkningsmekanismer.

I figur 4 er de to vanligste mekanismene skissert. I tønnestavmodellen aggregerer peptidene loddrett i cytoplasmamembranen og danner en pore. Disse peptidene er amfipatiske, det vil si at de er både vannløselige og fettløselige. Den fettløselige delen står ut mot cytoplasmamembranen slik at den vannløselige delen vender inn i poren. Dette tillater vannløselige stoffer og vann å gå gjennom poren.

I teppemodellen setter peptidene seg ned parallelt med cytoplasmamembranen med sin fettløselige del nedsunken i membranen, og presser fosfolipidene fra hverandre. Når mange nok peptider har sunket ned i cytoplasmamembranen, begynner denne å bukke seg, og vil til slutt brytes opp, slik at man også i denne modellen vil få porer som er dekket av peptider.

Det finnes også to mer sjeldne mekanismer. I hode-hode-modellen er peptidene for små til alene å danne bro over cytoplasmamembranen. Disse danner derfor dimere, enten ved å binde seg hode til hode eller hode til hale. Disse peptidene er slik laget at det vil danne seg en pore sentralt gjennom peptidet. Det mest kjente peptidet som man antar virker med en slik modell, er gramicidin. Dette er et peptid som har vært kjent i mange år, og som blant annet er tilsatt i Kenacort munnsalve.

Den siste modellen, aktiv transport, er bare kjent for ett peptid, valinomycin, som produseres av *Streptomyces*. Valinomycin fungerer som en ionebærer og transporterer bl.a. kaliumioner over cytoplasmamembranen. Denne mekanismen er mye tregere enn poredanning, og transporterer ca. 1 000 ganger færre ioner enn poredannere per tidsenhet.

Peptidene virker fortrinnsvis på bakterienes cytoplasmamembran, men det er flere grupper som har vist at enkelte peptider kan inhibere proteinsyntesen og virke direkte på DNA (45, 46).

Den initiale elektrostatiske binding er helt sentralt for at peptidene skal virke. Dette forklarer også selektiviteten mot prokaryote celler og sopp, da høyere eukaryote celler har en tilnærmet nøytral cellemembran.

Andre, ikke-kationiske peptider

I 1968 fant Galask & Snyder (47) at amnionvæske inhiberer veksten av flere bakteriearter. Man isolerte et negativt ladet peptid som krever sink for å ha antimikrobiell aktivitet (48). Senere har man isolert flere tilsvarende anioniske peptider fra lunger hos mennesker og sau (49, 50). Dette er meget små peptider som består av bare 7–8 aminosyrer. Virkningsmekanismen til disse peptidene er foreløpig stort sett ukjent.

Sykdommer assosiert med defekter i de antimikrobielle peptider

Få, om noen sykdommer, synes å involvere defekter i de antimikrobielle peptiders funksjoner.

Chédiak-Higashis syndrom er en sjelden autosomal, recessiv tilstand. Sykdommen involverer blant annet funksjonen til alle sorter hvite blodceller. Det oksidative bakteriedrapet synes å være intakt, men det intracellulære drapet er nedsatt. Vanligvis får pasientene 3–6 alvorlige infeksjonsperioder årlig, og de fleste dør i barneårene. Syndro-

met er så vidt komplekst at det er vanskelig å vurdere om defekter i de antimikrobielle peptidenes funksjoner spiller en vesentlig rolle.

Spesifikk granuladefekt (specific granule deficiency) er en sjelden tilstand med resdiverende infeksjoner. Pasientene synes å mangle granula i sine hvite blodceller, og de mangler laktoferrin og defensiner. De synes også å ha nedsatt oksidativt drap, og er utsatt for gjentatte infeksjonsepisoder i barneårene. Det er også ved denne meget sjeldne tilstanden vanskelig å vurdere effekten av mangel på antimikrobielle peptider.

Det er uklart hva som leder til infeksjoner i luftveiene hos pasienter med cystisk fibrose. En nyere forklaringsmodell tar utgangspunkt i at de fleste antimikrobielle peptider har dårlig eller ingen effekt ved høye saltkonsentrasjoner. Produksjonen av peptider i luftveiene synes å være normal hos pasienter med cystisk fibrose. Elegante forsøk utført på cellekulturer har vist at ved saltkonsentrasjoner lik den denne pasientgruppen har i bronkiene, fungerer ikke peptidene. Ved å fortynne bort saltet, gjenvinner peptidene sin gode antibakterielle effekt (12, 51). Ytterligere forskning er imidlertid nødvendig før man kan etablere en sikker sammenheng mellom bakterielle infeksjoner i luftveiene hos cystisk fibrose-pasienter og ikke-funksjonelle peptider i luftveiene hos denne pasientgruppen.

Mulige anvendelsesområder

Med den utviklingen av resistens mot eksisterende antibiotika som i dag foregår, er behovet for helt nye antibiotika stort. Kationiske peptider kan ha mange av de ønskede egenskaper hos nye antibiotika.

Virkningsmåte. De fleste peptidene er bredspektrede med effekt både på grampositive og gramnegative bakterier. De er overveiende baktericidale, og de dreper bakteriene meget raskt. Peptidene synes å ha ingen eller meget kort postantibiotikaeffekt (egne observasjoner).

Resistens. Peptidene synes å være lite affisert av vanlige, kjente antibiotikaresistensmekanismer (3), selv om enzymatisk nedbrytning av peptidene synes å være en forsvarsmekanisme bakteriene benytter seg av (52). Andre resistensmekanismer er påvist, og teoretisk kan man tenke seg flere mulige mekanismer som bakteriene vil benytte (53).

Bruksområder. Strukturen til de naturlige forekommende kationiske peptidene synes å kunne legge en begrensning på anvendelsesområdene. De fleste peptider består av mer enn 20 aminosyrer, noe som gjør det umulig med dagens teknikker å bruke dette som orale preparater. Samtidig blir de relativt lett inaktivert av salter, og man er usikker på hvor godt de penetrerer i vev og i hvor stor grad de vil forbli fri i serum. De blir også relativt lett inaktivert av proteaser. Dette har ført til at bruksområdene så langt mye har dreid seg om topiske anvendelser. Per i dag

foregår to meget lovende kliniske forsøk. Et protegrinderivat, IB-367 (Intrabiotics, Mountain View, California), blir undersøkt for dets potensial mot oral mukositt, en polymikrobiell sykdom hos kreftpasienter. Peptidet MBI-226 (Micrologix Biotech, Vancouver) undersøkes i kliniske forsøk for å forsøke å sterilisere innstikksstedet ved intravenøs kateterbruk.

En helt annen lovende retning har forskningen tatt ved å prøve å utnytte de antimikrobielle peptidenes sterke binding til lipopolysakkarid (42). Det er nå kliniske forsøk i gang for å bruke deler av baktericidalt permeabilitetsøkende peptid (BPI, bactericidal permeability-increasing) for å hindre endotoksisk sjokk. Teoretisk kan man utvikle et antibiotikum som er meget effektivt mot gramnegative bakterier og som samtidig fjerner endotoksin fra blodbanen.

I flere laboratorier konstruerer man nå mindre peptider for eventuelt å kunne bruke dem til oral behandling. Samtidig må peptidene ha gode farmakokinetiske og farmakodynamiske egenskaper. Arbeid med dette foregår flere steder, men det er fortsatt et stykke frem før man eventuelt kan ha produkter på markedet.

Kryssresistens. En bekymring med disse stoffene er at de er en viktig del av det uspesifikke immunsystemet. Selv om det har vist seg å være vanskelig å indusere resistens mot disse antimikrobielle peptidene i laboratoriet, vil en resistensutvikling under klinisk behandling kunne ha uante effekter. Det er sannsynlig at resistens mot antibakterielle peptider gitt terapeutisk kan medføre kryssresistens mot kroppens egne defensiner. Resultatet kan bli at mikroben blir resistente mot viktige deler av vårt immunforsvar. Det er derfor denne forfatters mening at det vil være en fordel dersom man kan utvikle peptidantibiotika som har strukturer som er forskjellige fra de naturlige forekommende peptidene. Samtidig bør de inneha de gode egenskapene disse stoffene har – rask, ikke-toksisk nedbrytning i naturen, lav, om noen resistensutvikling og hurtig bakteriedrap med lav toksisitet.

Litteratur

1. Boman HG, Hultmark D. Cell-free immunity in insects. *Annu Rev Microbiol* 1987; 41: 103–26.
2. Lehrer RI, Lichtenstein AK, Ganz T. Defensins-antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 105–28.
3. Hancock RE, Scott MS. The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 8856–61.
4. Ganz T, Lehrer RI. Defensins. *Curr Opin Immunol* 1994; 6: 584–9.
5. Boman HG. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 61–92.
6. Ouellette AJ, Miller SI, Henschen AH, Selsted ME. Purification and primary structure of murine cryptdin-1, a Paneth cell defensin. *FEBS Lett* 1992; 304: 146–8.
7. Jones DE, Bevins CL. Paneth cells of the hu-

man small intestine express an antimicrobial peptide gene. *J Biol Chem* 1992; 257: 23216–25.

8. Panyutich AV, Panyutich EA, Krapivin VA, Baturevich EA, Ganz T. Plasma defensin concentrations are elevated in patients with septicemia or bacterial meningitis. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 202–7.
9. Shioimi K, Nakazato M, Ihi T, Kangawa W, Matsuo H, Matsukura S. Establishment of radioimmunoassay for human neutrophil peptides and their increase in plasma and neutrophil in infection. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 195: 1336–44.
10. Lee J-Y, Boman A, Sun C, Andersson M, Jörnvall H, Mutt V et al. Antibacterial peptides from pig intestine: isolation of a mammalian cecropin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 9159–62.
11. Fleming A. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1922; 93: 306–17.
12. Travis SM, Conway B-AD, Zabner J, Smith JJ, Anderson NA, Singh PK et al. Activity of abundant antimicrobials of the human airway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 872–9.
13. Thompson AB, Bohling T, Payvandi F, Rennard SI. Lower respiratory tract lactoferrin and lysozyme are primarily in the airways and are elevated in association with chronic bronchitis. *J Lab Clin Med* 1990; 115: 148–58.
14. Harbitz O, Jenssen AO, Smidsrød O. Lysozyme and lactoferrin in sputum from patients with chronic obstructive lung disease. *Eur J Respir Dis* 1984; 65: 512–20.
15. Lee CH, Igarashi Y, Hohman RJ, Kaulbach H, White MV, Kaliner MA. Distribution of secretory leukoprotease inhibitor in the human nasal airway. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 710–6.
16. Bals R, Wang X, Zasloff M, Wilson JM. The peptide antibiotic LL-37/hCAP-18 is expressed in epithelia of the human lung where it has a broad antimicrobial activity at the airway surface. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9541–6.
17. Zhao C, Wang I, Lehrer RI. Widespread expression of beta-defensin hBD-1 in human secretory glands and epithelial cells. *FEBS Lett* 1996; 396: 319–22.
18. McCray PB jr., Bentley L. Human airway epithelia express a beta-defensin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 343–9.
19. Bøe R, Silvola J, Yang J, Moens U, McCray PB jr., Stenfors L-E et al. Human β -defensin 1 mRNA is transcribed in tympanic membrane and adjacent auditory canal epithelium. *Infect Immun* 1999; 67: 4843–6.
20. Diamond G, Russel JP, Bevins CL. Inducible expression of an antibiotic gene in lipopolysaccharide-challenged tracheal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5156–61.
21. Gallo RL, Minoru O, Povsic T, Page C, Eriksson E, Klagsburn M et al. Syndecans, cell surface heparan sulfate proteoglycans, are induced by a proline-rich antimicrobial peptides from wounds. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 11035–9.
22. Frohm M, Agerberth B, Ahangari G, Stahle-Backdahl M, Liden S, Wiggzell H et al. The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratocytes during inflammatory disorders. *J Biol Chem* 1997; 272: 15258–63.
23. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schroder J-M. A peptide antibiotic from human skin. *Nature* 1997; 387: 861.
24. Stolzenberg ED, Anderson GM, Ackerman MR, Whitlock RH, Zasloff M. Epithelial antibiotic induced in states of disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8686–90.
25. Frohm M, Gunne H, Bergman AC, Agerberth B, Bergman T, Boman A et al. Biochemical and antibacterial analysis of human wound and blister fluid. *Eur J Biochem* 1996; 237: 86–92.
26. Daher K, Selsted ME, Lehrer RI. Direct inactivation of viruses by human granulocyte defensins. *J Virol* 1986; 60: 1068–74.

27. Vorland LH. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein. *APMIS* 1999; 107: 971–81.
28. Harmen MC, Swaart PJ, de Bethune MP, Pauwels R, DeClercq E, The TH et al. Antiviral effects of plasma and milk proteins: lactoferrin shows a potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus in vitro. *J Infect Dis* 1995; 172: 380–8.
29. Shimizu K, Matsuzawa H, Okada K, Tazume S, Dosako S, Kawasaki Y et al. Lactoferrin-mediated protection of the host from murine cytomegalovirus infection by a T-cell dependent augmentation of natural killer cell activity. *Arch Virol* 1996; 141: 1875–89.
30. Hasegawa K, Motosuchi W, Tanaka S, Dosako S. Inhibition with lactoferrin of in vitro infection with human herpes virus. *Jpn J Med Sci Biol* 1994; 47: 73–85.
31. Ikeda M, Sugiyama K, Tanaka T, Tanaka K, Sekihara H, Shimotohono K et al. Lactoferrin markedly inhibits hepatitis C virus infection in cultured human hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 215: 744–9.
32. Superti F, Ammendolia MG, Valenti P, Seganti L. Antiviral activity of milk proteins: lactoferrin prevents rotavirus infection in the enterocyte-like cell line HT-29. *Med Microbiol Immunol* 1997; 186: 83–91.
33. Marchetti M, Superti F, Ammendolia MG, Rossi P, Valenti P, Seganti L. Inhibition of poliovirus type 1 infection by iron-, manganese- and zinc-saturated lactoferrin. *Med Microbiol Immunol* 1999; 187: 199–204.
34. Lehrer RI, Ladra KM, Hake RB. Nonoxidative fungicidal mechanisms of mammalian granulocytes: demonstration of components with candidacidal activity in human, rabbit and guinea pig granulocytes. *Infect Immun* 1975; 11: 1226–34.
35. Lehrer RI, Szklarek D, Ganz T, Selsted ME. Synergistic activity of rabbit granulocyte peptides against *Candida albicans*. *Infect Immun* 1986; 52: 902–4.
36. Vorland LH, Ulvatne H, Andersen J, Haukland HH, Rekdal Ø, Svendsen JS et al. Lactoferrin of bovine origin is more active than lactoferrins of human, murine and caprine origin. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 513–7.
37. Cruciani RA, Barker JL, Zasloff M, Chen HC, Colamonici O. Antibiotic magainins exert cytolytic activity against transformed cell lines through channel formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 3792–6.
38. Yoo Y-C, Watanabe S, Watanabe R, Hatu K, Shimazaki K, Azuma I. Bovine lactoferrin and lactoferricin, a peptide derived from bovine lactoferrin, inhibit tumor metastasis in mice. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88: 184–90.
39. Chertov O, Michiel DF, Xu L, Wang JM, Tani K, Murphy WJ et al. Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils. *J Biol Chem* 1996; 271: 2935–40.
40. Kudriashov BA, Kondashevskaja MV, Liapina LA, Kokriakov VN, Mazing IA, Shamova OV. Effect of defensin on healing of aseptic skin wound and on vascular permeability. *Bull Eksp Biol Med* 1990; 109: 391–3.
41. Michaelson D, Rayner J, Cuoto M, Ganz T. Cationic defensins arise from charge neutralized propeptides for avoiding leukocyte autotoxicity. *J Leuk Biol* 1992; 51: 634–9.
42. Rana FR, Macias EA, Sultany CM, Modzrowski MC, Blazyk J. Interactions between magainin 2 and *Salmonella typhimurium* outer membranes: effect of lipopolysaccharide structure. *Biochemistry* 1991; 30: 5858–66.
43. Vorland LH, Ulvatne H, Rekdal Ø, Svendsen JS. Initial binding sites of antimicrobial peptides in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Scand J Infect Dis* 1999; 31: 467–73.
44. Hancock REW, Chapple DS. Peptide antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1317–23.

→

45. Boman HG, Agerberth B, Boman A. Mechanisms of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine. *Infect Immun* 1993; 61: 2978–84.
46. Strauss JK, Maher LJ III. DNA bending by asymmetric phosphate neutralization. *Science* 1994; 266: 1829–34.
47. Galask RP, Snyder IS. Bacterial inhibition by amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1968; 120: 949–55.
48. Sachs BP. Activity and characterization of a low molecular fraction present in human amniotic fluid with broad spectrum antibacterial activity. *Br J Obstet Gynecol* 1979; 86: 81–6.
49. LaForce FM, Boose DS. Effect of zinc and phosphate on an antibacterial peptide isolated from lung lavage. *Infect Immun* 1984; 45: 692–6.
50. Brogden KA. Ovine pulmonary surfactant induces killing of *Pasteurella haemolytica*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae* by normal serum. *Infect Immun* 1992; 60: 5182–9.
51. Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell* 1996; 85: 229–36.
52. Vorland LH, Ulvatne H, Andersen J, Haukland HH, Rekdal Ø, Svendsen JS et al. Antibacterial effects of lactoferricin B. *Scand J Inf Dis* 1999; 31: 179–84.
53. Groisman EA. How bacteria resist killing by host-defense peptides. *Trends Microbiol* 1994; 2: 444–9.

Kunnskapsbasert behandling



Manu P

The pharmacotherapy of common functional syndromes

Evidence-based guidelines for primary care practice. 320 s. Birmingham, NY: Haworth Medical Press, 2000. Pris USD 70
ISBN 0-7890-0589-1

Funksjonelle somatiske syndromer er symptombilder karakterisert av plagsomme symptomer og funksjonstap uten påvisbare anatomiske forandringer og hvor de patofysiologiske mekanismene i store trekk er ukjente. De vanligste symptombildene er kronisk tretthetssyndrom, fibromyalgi, irritabel tykktarmssyndrom og premenstruelt syndrom. Omkring 10% av befolkningen er rammet av disse syndromene som utgjør en vesentlig årsak til sykefravær, uførhet og svekket livskvalitet.

Det er i første rekke allmennpraktikerne som møter pasienter med disse helseproblemene. Fordi vi vet for lite om syndromenes natur, blir behandlingen ofte tilfeldig og dårlig. Legene føler seg rådville og hjelpeløse, og mange av pasientene er misfornøyde. Ikke sjelden oppstår det konflikter – «legen tror ikke på meg» – som i en del tilfeller kan skyldes at legen ikke «kjøper» pasientenes antakelser om årsak til plagene. Mange ulike terapeutiske tilnærminger er forsøkt – med varierende hell.

I perioden 1966 til 1999 var det registrert i Medline-databasen til sammen nær 9000 publikasjoner om disse fire syndromene, men bare 183 av disse var randomiserte og kontrollerte behandlingsstudier. Basert på kunnskapsbaserte kvalitetskriterier har 153 av disse studiene fått nærmere omtale i denne boken: 66 studier om premenstruelt syndrom, 34 om irritabel tykktarmssyndrom, 32 om fibromyalgi og 21 om kronisk tretthetssyndrom. Hver enkelt studie gjennomgås relativt detaljert slik at leseren kan gjøre seg opp en mening om hver studie. Selv om forfatteren ikke eksplisitt bruker EBM-terminologien for gradering av evidens, ligger dette hele tiden i bakgrunnen og preger fremstillingen. Bokkapitler og annen relevant litteratur trekkes inn for eksempel når det gjelder å definere og karakterisere de aktuelle syndromene.

Boken består av fire hoveddeler, en for hvert av de nevnte syndromene samt en oppsummering til slutt. Et stikkordregister gjør det enkelt å lete opp både symptom, type behandling eller navn på aktuelle forskningsentre. Komplette referanser er gitt til alle studier som omtales.

Minstekrav for «effektiv» behandling er i boken definert som bedre resultat enn placebo i minst to behandlingsstudier utført av

ulike forskere. «Kontroversiell» behandling er det når ulike studier gir motstridende resultat. Studier der effektene er på nivå med placebo blir kategorisert som «ineffektive». Av den rike flora av ulike behandlinger som er forsøkt, blir det ikke så mye igjen som kan forsvare betegnelsen «evidens-basert».

For å gjøre en lang historie kort, så fantes det per utgivelsen av denne boken i 2000 ingen effektiv farmakologisk behandling mot kronisk tretthetssyndrom. Derimot er både kognitiv terapi og gradert aerob trening effektiv. Når det gjelder fibromyalgi, er det bare trisykliske antidepressiver (for eksempel amitriptylin) som virker. Resultatene ved bruk av selektive serotoninreopptakshemmere (SSRI) eller fysisk opp-

trening er motstridende og derfor kontroversiell behandling. For irritabel tykktarmssyndrom er bare trisykliske antidepressiver dokumentert virksomme, mens for premenstruelt syndrom er både bruk av SSRI og kognitiv terapi dokumentert å være effektiv behandling.

En mulig innvending mot boken er at her ikke finnes omtale av eventuelle effekter av «the doctor drug», dvs. effekter som har med legens kommunikative evner og konsultasjonsferdigheter å gjøre. Denne utelatelsen kan forsvares ut fra et ønske om å avgrense stoffet. Andre forklaringer kan være at «legekunst» langt på vei er forskningsmessig upløyd mark, og at slik forskning vil innebære bruk av kvalitative metoder.

Forfatteren, Peter Manu, er en amerikansk indremedisiner som i mange år har interessert seg for det frodige landskapet mellom somatisk medisin og psykiatri. Denne boken fyller et viktig tomrom i klinisk medisin. Den er beregnet på primærleger, den er lettlest og anbefales hermed.

Jørund Straand

Seksjon for allmennmedisin
Institutt for allmenn- og samfunnsmedisin
Universitetet i Oslo