

Właściwości biologiczne jadu pszczoł

Biological properties of bee venom

KRZYSZTOF PAŁGAN, ZBIGNIEW BARTUZI

Katedra i Klinika Alergologii, Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych
Collegium Medicum im Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Reakcje anafilaktyczne spowodowane przez użądlenia przez pszczoły są głównym problemem poruszonym w literaturze. Zatem zrozumiałym jest fakt, że skład i właściwości alergenowe jadu pszczelego skupiają najwięcej uwagi. Uważa się, że za reakcje alergiczne odpowiadają głównie melittyna i fosfolipaza A2. Ostatnie doniesienia pokazują, że melittyna posiada zdolność zwiększania przepuszczalności błon komórkowych zarówno prokariota jak i eukariota. Właściwości takie melittyny czyni się odpowiedzialnym za działanie przeciwbakteryjne, przeciwnowotworowe oraz hamujące inwazję leishmaniozy. Ponadto wykazano, że melittyna blokując ekspresję genów, może hamować replikację niektórych wirusów. Istnieją również doniesienia, że melittyna działa przeciwzapalnie co może być wykorzystane w terapii chorób reumatycznych.

Słowa kluczowe: jad pszczoły, melittyna, działanie przeciwbakteryjne, reumatoidalne zapalenie stawów, komórki nowotworowe

Summary

Anaphylactic reactions caused by bee stings are a common medical problem. The structures and characterization of bee venom allergens have been recently reviewed. Melittin and phospholipase A2, two major components of bee venom are generally thought to play an important role in inducing the irritation and allergic reactions associated with the bee stings. Furthermore, recent reports indicate that melittin induces membrane permeabilization and lyses prokaryotic as well as eucaryotic cells. This mode of action is responsible for its antimicrobial, anti-tumor and leishmanicidal activities. It has been shown that melittin is capable of inhibiting replication of some viral gene expression. Moreover, honeybee venom has also anti-inflammatory property and can be used in treatment of rheumatoid arthritis.

Key words: bee venom, melittin, anti-microbial, rheumatoid arthritis, cancer cells

© *Alergia Astma Immunologia* 2009, 14(1): ????

www.alergia-astma-immunologia.eu

Nadesłano: 12.01.2009

Zakwalifikowano do druku: 28.01.2009

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Krzysztof Pałgan
Państwowy Szpital Kliniczny Nr 2
Katedra i Klinika Alergologii,
Immunologii Klinicznej i Chorób Wewnętrznych
ul. Ujejskiego 75, 85-160 Bydgoszcz
tel. (52) 36-55-775 fax (52) 36-55-416
e-mail: palgank@wp.pl

Literatura medyczna poświęcona owadom błonkoskrzydłym skupia się głównie na działaniach szkodliwych tych owadów w stosunku do człowieka. Szczególnie podkreśla się groźne dla człowieka użądlenia pszczoł, os, szerszeni oraz trzmieli. Już w starożytności wiedziano, że użądlenia owadów błonkoskrzydłych mogą doprowadzić do tragicznych następstw, co potwierdzają ilustracje grobowca faraona Menesa, które obrazują śmierć monarchy po ukłuciu przez szerszenia. Największe zagrożenia dla człowieka niesie ze sobą jad owadów błonkoskrzydłych, który może doprowadzać do ciężkich reakcji anafilaktycznych, wstrząsu a nawet zgonu.

Poszczególne owady błonkoskrzydłe mogą człowiekowi aplikować różne ilości jadu. Istnieją również różnice składu jadu poszczególnych owadów. Zasadnicze składniki jadu owadów błonkoskrzydłych to peptydy, enzymy oraz substancje o małej masie cząsteczkowej. Czynniki, które są odpowiedzialne za rozwój reakcji alergicznych to fosfolipazy, hialuronidazy, melittyna oraz antygen 5 [1].

Pszczoły

Pszczoła miodna (*Apis mellifera*) poza swą główną rolę polegającą na pracy przy wytwarzaniu miodu, pełni również funkcje obronne. Zdolność wytwarzania jadu i żądlenia posiadają robotnice oraz królowa. Osobniki męskie czyli trutnie nie mają żądła i nie uczestniczą w walce z intruzami. Sama organizacja społeczności pszczelej od najdawniejszych czasów budziła u człowieka fascynację i ciekawość. Warto w tym miejscu dodać, że w 1973 roku Karl von Frisch został uhonorowany nagrodą Nobla za badania i odkrycie sposobu porozumiewania się pszczoł [2]. Znaczenie pszczoł podkreślone zostało nawet w Biblii, w Księdze Mądrości Syracha czytamy: „Mała jest pszczoła wśród latających stworzeń, lecz owoc jej ma pierwszeństwo pośród słodczy” [3].

Istnieje dziedzina zwana apiterapią, która zajmuje się efektami terapeutycznymi produktów pochodzenia pszczelego.

W literaturze szczególnie dużo pojawiło się doniesień omawiających właściwości terapeutyczne jadu pszczelego, autorami których są najczęściej Azjaci.

Jad pszczoły

Badania nad poznaniem składu jadu poszczególnych owadów błonkoskrzydłych prowadzone są od lat trzydziestych, jednak stosunkowo niedawno, bo w połowie lat 70. ubiegłego stulecia, udało się precyzyjnie określić skład chemiczny substancji zawartych w pszczelich żądłach.

Jad pszczoły składa się z dwóch zasadniczych składników: jadu właściwego oraz feromonów. Feromony są związkami, które stanowią informację odbieraną przez inne pszczoły o zagrażającym niebezpieczeństwie i konieczności obrony.

Natomiast jad zasadniczy pszczoły miodnej składa się białek enzymatycznych [hialuronidazy, fosfatazy kwaśnej i fosfolipazy A2, peptydów (melittyna, sekapina, MCD-peptyd, apamina, prokamina, frakcja niskocząsteczkowych peptydów)]. Z punktu widzenia reakcji uczuleniowych zwraca uwagę fosfolipaza A2, (Api m 1), hialuronidaza (Api m 2), fosfataza kwaśna (Api m 3) oraz mellittyna (Api m4). W przypadku trzech pierwszych alergenów głównych możliwe jest wytwarzanie tych białek przez bakterie, po zastosowaniu metod inżynierii genetycznej [4,5].

Jad pszczoły a czynniki infekcyjne

Badania nad obroną owadów błonkoskrzydłych przed czynnikami infekcyjnymi, takimi jak wirusy, bakterie czy też grzyby wykazały, że pomimo braku typowego układu obrony immunologicznej np. przeciwciała, komórki fagocytyczne itp. istnieje skuteczny system chroniący owady przed infekcjami. Okazuje się, że owady te wytwarzają białka o właściwościach przeciwwakacyjnych [6].

W przypadku pszczoł Ferre i wsp. [7] stwierdził, że zarówno wydzielina gruczołów ślinowych jak i substancje zawarte w żądle wykazują właściwości przeciwbakteryjne. Jad pszczoły swoje silne właściwości bakteriostatyczne i bakteriobójcze posiada dzięki melittynie. Melittyna jest rozpuszczalnym w wodzie polipeptydem kationowym zbudowanym z 26 aminokwasów, który charakteryzuje się dużym powinowactwem do struktur wchodzących w skład ściany bakterii. W początkowym etapie melittyna doprowadza do wytwarzania kanałów, a następnie dochodzi do rozrywania ściany komórki bakteryjnej. Działanie bakteriobójcze melittyny stwierdzono w stosunku do większości bakterii Gram ujemnych. Skuteczność i moc działania przeciwbakteryjnego melittyny są porównywalne do streptomycyny [8,9].

Melittyna posiada również właściwości przeciwwirusowe, które wykazano w in vitro, na przykładzie HIV-1. Stwierdzono, że peptyd ten bezpośrednio hamuje aktywność głównych genów tego retrowirusa: gag i pol. Geny gag są odpowiedzialne za wytwarzanie białek rdzenia, natomiast geny pol kodują odwrotną transkryptazę. Blokada tych genów uniemożliwia replikację retrowirusów. Poza medycyną, bardzo interesująco wyglądają wyniki badań prowadzone nad syntetycznymi analogami melittyny. Okazuje się, że tego typu peptydy skutecznie blokują rozwój wirusa mozaiki tytoniowej atakującego rośliny [10].

Obiecująco wyglądają również badania nad wpływem melittyny i jej pochodnych na niektóre choroby wywołane przez pasożyty. Doniesienia omawiające takie działanie melittyny dotyczą leiszmaniozy. Mechanizm działania przeciw pasożytniczemu melittyny polega na uszkodzeniu błony komórkowej i zwiększaniu jej przepuszczalności, a w końcowym etapie dochodzi do lizy tego wiciowca. Wykazano, że najskuteczniej melittyna i jej pochodne niszczą formy promastigota leiszmanii. Postać amastigota jest bardziej oporna na działanie wspomnianych składników jadu pszczoły [11].

Jad pszczoły a reumatoidalne zapalenie stawów

Doniesienia badaczy z Korei wskazują na korzystne działanie jadu pszczoły w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS). Stosowanie jadu wraz z akupunkturą znosi bóle stawowe oraz hamuje proces zapalny. Badania (randomizowane z podwójnie ślepą próbą u 60 pacjentów z RZS) z zastosowaniem akupunktury i akupunktury połączonej z jadem pszczelim przeprowadzone przez Kwona [12,13] oraz innych badaczy [14] wskazują na silny efekt przeciwbólowy, hamujący obrzęki i stan zapalny stawów. Potwierdzenie skuteczności wspomnianej terapii uzyskano również stosując kwestionariusz jakości życia. Badania eksperymentalne na modelu zwierzęcym oraz in vitro wskazują na melittynę, jako najbardziej aktywny czynnik jadu pszczoły w terapii RZS. Park i wsp. [15] wykazali, że melittyna poprzez wpływ na kinazy JNK hamuje jądrowe czynniki transkrypcyjne- κ B (nuclear factor- κ B – NF- κ B) w komórkach zapalnych stawów. Melittyna posiada również zdolność hamowania aktywności COX-2 oraz czynników wzrostowych, które są zaangażowane w przebudowę i niszczenie chrząstki stawowej. Jeszcze inny mechanizm terapeutycznego działania melittyny w RZS przytacza Lee i wsp. [16]. Badacze ci uważają, że melittyna działa immunosupersyjn timer poprzez hamowanie dojrzewania komórek dendrytycznych, co z kolei powoduje zahamowanie wytwarzania cytokin prozapalnych, a jednocześnie ograniczenie postępu choroby.

Jad pszczoły a nowotwory

Doniesienia epidemiologiczne sugerują, że alergie mogą zmniejszać ryzyko zachorowania na nowotwór [17]. W przypadku jadu pszczoły badania skupiają się nad wpływem jadu na wyizolowane komórki nowotworowe. Badania przeprowadzone w warunkach hodowli tkankowej i u zwierząt doświadczalnych pokazują działanie przeciwnowotworowe melittyny. Dotychczas przeprowadzone obserwacje dotyczą zarówno guzów litych jak i różnego typu białaczek.

W krajach Azji i Afryki często występującym nowotworem jest rak pierwotny wątroby (*hepatocellular carcinoma* – HCC). Liu i wsp. [18] badał wpływ melittyny na komórki tego raka. Eksperyment in vitro wykazał, że melittyna hamuje proliferację komórek i zdolność tworzenia przerzutów nowotworowych HCC. Liu zauważył również,

że melittyna stosowana w dawce 80µg/kg c.c. myszom obarczonym HCC hamuje wzrost guzów pierwotnych oraz zmniejsza liczbę przerzutów. Jednak badania te wykazały również, że melittyna doprowadza do uszkodzenia komórek wątroby i do hemolizy. Zdaniem wspomnianych autorów, melittyna hamuje rozwój przerzutów nowotworowych poprzez białka Rac1. Białka te należą do rodziny protein kodowanych przez onkogeny Ras, które z kolei czyni się odpowiedzialnymi za proliferację, przyleganie, migrację i ekstrawazację komórek nowotworowych. Melittyna blokując Rac1 powoduje zahamowanie wzrostu HCC. Podobne działanie melittyny wykazano w stosunku do komórek raka gruczołu piersiowego i nerki. Dowiedziono, że melittyna nie tylko hamuje rozwój, ale wręcz eliminuje komórki potencjalnie nowotworowe, w których transformacja nowotworowa została zainicjowana przez onkogeny ras [19].

W przypadku linii komórkowych czerniaka (A2058) Tu i wsp. [20] wykazali, że jad pszczeleli doprowadza do apoptozy tych komórek poprzez indukcję rodników hydroksylowych, które z kolei odpowiedzialne są za uszkodzenia błon organelli komórkowych. Warto podkreślić, że śmierć melanocytów w eksperymencie Tu [20] zachodziła bez udziału kaspaz.

W przypadku komórek białaczkowych rozważane są różne mechanizmy działania jadu pszczelego. Podobnie jak w przypadku guzów litych, najczęściej uwagi przyciąga melittyna. Badania przeprowadzone na liniach komórkowych białaczki monocytowej (U937) człowieka przez Saini i wsp. [21] wykazały, że melittyna może doprowadzać do uszkodzenia błony komórkowej i doprowadzać do śmierci tych komórek. Destrukcja błony komórek białaczkowych następowała poprzez aktywację lipaz błonowych, w wyniku czego stwierdzano uwalnianie metabolitów kwasu arachidonowego. Zdaniem Moon i wsp. [22] możliwa jest destrukcja organelli komórkowych, a następnie apoptoza komórek białaczkowych w wyniku aktywacji kaspazy -3 przez melittynę [23].

Podsumowanie

W przytaczanych doniesieniach zwraca szczególnie uwagę korzystne działanie jadu pszczelego w chorobach reumatycznych, hamujące progresję niektórych linii komórek nowotworowych oraz przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne i przeciw pasożytnicze.

Piśmiennictwo

1. Gawlik R. Jad owadów błonkoskrzydłych i jego alergeny. [w] Alergia na jad owadów błonkoskrzydłych. Marita Nittner-Marszalska [red.]. Wyd. Mediaton, 2003: 23-31.
2. Autrum H. Karl von Frisch zum 90. Geburtstag. J. Comp. Physiol, 1976; 112: 1-4.
3. Mądrość Syrycha 11, 3, Biblia Tysiąclecia Wyd. IV Wyd. Pallotinum, Poznań 1993.
4. Hoffman DR, Weimer ET, Sakell RH. i wsp. Sequence and characterization of honeybee venom acid phosphatase. J. Allergy Clin. Immunol. 2005; 115: 107.
5. Peiren N, Graaf DC, Brunain M. Molecular cloning and expression of icarapin, a novel IgE-binding bee venom protein. FEBS Lett. 2006; 580: 4895-4899.
6. Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. Nature 2002; 24: 389-395.
7. Ferre R, Badosa E, Feliu L, i wsp. Inhibition of plant-pathogenic bacteria by short synthetic cecropin A-melittin hybrid peptides. Appl. Environ Microbiol., 2006; 72: 3302-3308.
8. Bulet P, Stocklin R, Menin L. Antimicrobial peptides: from invertebrates to vertebrates. Immunol. Rev., 2004; 198:169-184.
9. Jenssen H, Hamill P, Hancock REW. Peptide Antimicrobial Agents Clin Microbiol Rev. 2006; 19: 491-511.
10. Wachinger M, Saermark T, Erfle V. Influence of amphipathic peptides on the HIV-1 production in persistently infected T lymphoma cells. FEBS Lett., 1992; 309: 235-241.
11. Luque-Ortega JR, Saugar JM, Chiva C. i wsp. Identification of new leishmanicidal peptide lead structures by automated real-time monitoring of changes in intracellular ATP. Biochem J. 2003; 375: 221-230.
12. Kwon YB, Kim JH, Yoon JH, i wsp. The analgesic efficacy of bee venom acupuncture for knee osteoarthritis: a comparative study with needle acupuncture. Am. J. Chin Med. 2001; 29: 187-199.
13. Kwon GR. Clinical study on treatment of rheumatoid arthritis by bee venom therapy. Proc. Congress Kor Med. 1998; 99:130-131.
14. Lee SH, Lee HJ, Baek YH i wsp. Effects of bee venom on the pain, edema, and acute inflammatory reactant of rheumatoid arthritic patients. J. Kor. Acu Mox Coc., 2003; 20: 77-84.
15. Park HJ, Lee HJ, Choi MS i wsp. JNK pathway is involved in the inhibition of inflammatory target gene expression and NF-kappaB activation by melittin. J Inflamm. 2008; 5: 1-13.
16. Lee SH, Chung SH, Song MY. Effects of bee venom on the maturation of murine dendritic cells stimulated by LPS. J Ethnopharmacol. 2008; 120: 215-219.
17. Pałgan K, Bartuzi Z. Alergia a nowotwory układu pokarmowego. Przegląd Gastroenterologiczny 2007; 2: 235-239.
18. Liu S, Yu M, He Y. i wsp.: Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. Hepatology 2008; 47: 1964-1973.
19. Sharma SV. Melittin-induced hyperactivation of phospholipase A2 activity and calcium influx in ras-transformed cells. Oncogene, 1993; 8: 939-947.
20. Tu W-H, Wu C-C, Hsieh H-L i wsp. Honeybee venom induces calcium-dependent but caspase-independent apoptotic cell death in human melanoma A2058 cells. Toxicon 2008; 52:318-329.
21. Saini SS, Chopra AK, Peterson JW. Melittin activates endogenous phospholipase D during cytolysis of human monocytic leukemia cells. Toxicon. 1999; 37: 1605-1619.
22. Moon DO, Park SY, Choi YH. i wsp. Melittin induces Bcl-2 and caspase-3-dependent apoptosis through downregulation of Akt phosphorylation in human leukemic U937 cells. Toxicon. 2008; 51: 112-120.
23. Ip SW, Wei HC, Lin JP. i wsp. Bee venom induced cell cycle arrest and apoptosis in human cervical epidermoid carcinoma Ca Ski cells. Anticancer Res. 2008; 28: 833-842.