

Krzysztof CISZOWSKI¹
Aneta MIĘTKA-CISZOWSKA²

Właściwości jadów błonkówek (Hymenoptera)

Toxinology of Hymenoptera venoms

¹Klinika Toksykologii i Chorób Środowiskowych
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
w Krakowie
p.o. Kierownika Kliniki: dr n. med. *Piotr Hydzik*

²Oddział Toksykologii i Chorób Wewnętrznych
Szpital Specjalistyczny im. Ludwika Rydygiera
w Krakowie
Ordynator Oddziału:
dr n. med. *Barbara Groszek*

Dodatkowe słowa kluczowe:

jad błonkówek
biochemia
mechanizm działania
toksyczność

Additional key words:

Hymenoptera venom
biochemistry
mechanism of action
toxicity

Jad błonkówek (Hymenoptera) jest wydzieliną specjalnych gruczołów jadowych owadów, która służy zarówno jako substancja obronna przed napastnikiem, jak również jako broń paraliżująca atakowane ofiary podczas zdobywania pożywienia. Pod względem chemicznym jad stanowi mieszaninę biologicznie czynnych substancji (makrocząsteczkowych i drobnocząsteczkowych) o rozmaitych funkcjach fizjologicznych. Poszczególne substancje mogą wykazywać efekty toksyczne na ukąszonego człowieka, przyczyniając się do powstania niektórych objawów klinicznych zatrucia jadem błonkówek. W niniejszej pracy omówiono budowę chemiczną, rolę fizjologiczną i działanie toksyczne poszczególnych składników jadu błonkówek.

Wprowadzenie

Jad błonkówek (*Hymenoptera*) jest wydzieliną specjalnych gruczołów jadowych owadów, która służy zarówno jako substancja obronna przed napastnikiem, jak również jako broń paraliżująca atakowane ofiary podczas zdobywania pożywienia. W obu przypadkach jest ona wstrzykiwana do ciała napastnika lub ofiary za pomocą wyspecjalizowanego aparatu żądłowego znajdującego się na końcu odwłoka. Pod względem budowy chemicznej jad jest mieszaniną wielu aktywnych biologicznie związków o specyficznym działaniu na organizm użądłonego zwierzęcia lub człowieka, a których rodzaj i funkcje nie zostały jeszcze dostatecznie poznane.

W jadzie błonkówek można zasadniczo wyróżnić trzy główne grupy składników, a mianowicie:

(1) makrocząsteczki o masie cząsteczkowej >10 kDa (głównie białka o aktywności enzymatycznej);

(2) związki o pośredniej masie cząsteczkowej <10 kDa (głównie peptydy bez aktywności enzymatycznej);

(3) mikrocząsteczki (cukry, składniki lipidowe, wolne aminokwasy, aminy biogenne i acetylocholina) [97].

Poniżej zostaną omówione poszczególne grupy składników jadu ze zwróceniem uwagi na ich budowę chemiczną, rolę pełnioną *in vivo* w ciele owada oraz wpływ na ustrój użądłonego osobnika.

Hymenoptera venom is a secretion of special poison glands of insects. It serves both as a defensive substance against aggressors, as well as weapon used to paralyze the victim during gaining food. Chemically, the venom is a mixture of biologically active substances of high-, medium-, and small molecular weight with a variety of physiological functions. Individual substances may have toxic effects on stung human contributing to certain clinical signs and symptoms of venom poisoning. In the present paper, chemical structure, physiological role and toxicity of particular components of Hymenoptera venom are described.

Makrocząsteczkowe składniki jadu błonkówek

Fosfolipazy

Spośród makromolekuł zawartych w jadzie błonkówek największe znaczenie mają fosfolipaza (PL) i hialuronidaza. Fosfolipazy (PLs, EC 3.1.1.4) to grupa enzymów katalizujących rozkład fosfolipidów błonowych, wśród których, zależnie od rodzaju rozbijanego wiązania w cząsteczce fosfolipidu, wyróżnia się fosfolipazy A₁, A₂, C i D (PLA₁, PLA₂, PLC, PLD). W jadzie błonkówek zidentyfikowano obecność PLA₁ i PLA₂, które katalizują hydrolizę kwasów tłuszczowych odpowiednio w pozycji 1 i 2 cząsteczki fosfolipidu [52]. Są one uważane za silne antygeny biorące udział w reakcjach alergicznych związanych z ukąszeniem przez błonkówki u osobników predysponowanych, przy czym PLA₂ jest charakterystyczna dla pszczołowych (Api m 1, Bom p 1), a PLA₁ dla osowatych (Ves v 1, Dol m 1, Vesp c 1, Pol a 1) oraz mrówkowatych (Sol i 1) [13,52]. Główną rolę fosfolipaz zawartych w jadzie błonkówek jest ich bezpośrednie działanie cytotoxiczne, polegające na hydrolizie fosfolipidów błon komórkowych i niszczeniu błon, w czym synergistycznie współdziałają z nimi niektóre peptydy, np. melityna [19]. Dawkę letalną LD₅₀ po podaniu *iv.* u myszy określono dla PLA na 10-20 mg/kg [15].

PLA₂ zawarta w jadzie pszczoły jest 128-aminokwasową glikoproteiną zawierającą 4 mostki dwusiarczkowe w swej cząsteczce [103], której masa cząsteczkowa wynosi 14 555 Da dla samego peptydu, a 15 800 Da z przyłączonymi resztami węglowodanowymi [102]. Jej ilość w jadzie *A. mellifica* wynosi 12-15% suchej masy [13], ale może być

Adres do korespondencji:
Dr n. med. Krzysztof Ciszowski
Klinika Toksykologii i Chorób Środowiskowych
UJ CM
31-531 Kraków, ul. Śniadeckich 10
tel. (fax): (12) 424-89-02
e-mail: wt_poohatek@wp.pl

osobniczo zmienna wśród pszczoł europejskich (1,8-27,4%) i jest większa wśród osobników afrykańskich (*A. mellifica satellata*) niż europejskich (*A. mellifica mellifica*) [101]. Wykazano, że ilość PLA₂ w jadzie robotnic *A. mellifica* jest najmniejsza w momencie przeobrażenia poczwarki w postać dorosłą, następnie rośnie w ciągu 10 dni od przeobrażenia do maksymalnej wartości około 40 µg PLA₂ w pojedynczym zbiorniczku jadowym i utrzymuje się na stałym poziomie przez resztę życia robotnicy w ciągu lata [82]. PLA₂ z jadu trzmieli *B. terrestris* (alergen Bom t 1) wykazywała 52,9% homologii w stosunku do PLA₂ pszczoł [43].

PLA₁ zawarta w jadzie osowatych w ilości 6-14% [13] nie jest prawdopodobnie jedynym enzymem, ale jej aktywność wykazują różne peptydy o zbliżonej do siebie masie cząsteczkowej. PLA₁ z jadu osy pospolitej (*V. vulgaris*) zawiera 300 aminokwasów i wykazuje 67% homologii ze swoim odpowiednikiem u *D. maculata* [51]. W jadzie szerszenia *Vespa verutina* wykryto obecnie 3 białek zwanych werutoksynami VT-1, VT-2a i VT-2b, o masach cząsteczkowych odpowiednio 34 982, 33 360 i 33 374 Da, z których VT-1 wykazywała największą aktywność fosfolipazy, natomiast VT-2a i 2b wykazywały u myszy większą toksyczność (LD₅₀ 0,87 µg/g) niż VT-1 (LD₅₀ 3,61 µg/g), która polegała na bezpośredniej aktywności hemolitycznej w stosunku do mysich erytrocytów [41]. Jad szerszenia *Vespa basalis* zawiera tzw. białko letalne o masie cząsteczkowej 32 kD, które wykazuje aktywność PLA₁ i silne własności hemolityczne (LD₅₀ 0,32 µg/g u myszy) [40]. W jadzie europejskich klecank także znaleziono PLA₁, które są jednymi z głównych alergenów tych błonkówek, tj. Pol g 1 (m. cz. 33 475 Da) u *Polistes gallicus* [85] i Pol d 1 u *P. dominulus* [74]. Oprócz aktywności PLA₁ jad osowatych zawiera także szereg białek o aktywności PLA₂, np. u szerszeni: orientotoksyna II (152 aminokwasów) z jadu *Vespa orientalis* [60], hornetyna (m. cz. 32±1 kDa; LD₅₀ 0,42 µg/g u myszy) z jadu *Vespa flavitarsus* [39].

Podobne właściwości PLA₂ wykazują także agelotoksyna z jadu brazylijskiej *Agelesia pallipes pallipes* (występuje w postaci monomeru 14 kDa, trimeru 42 kDa i pentameru 74 kDa) [17], czy dibiotoksyny I, II, III i IV z *Polybia paulista* (dimery o m. cz. 115 do 132 kDa) [20]; wszystkie one posiadają właściwości hemolityczne. Jad niektórych mrówek zawiera także enzymy o aktywności zarówno PLA₁, czego przykładem jest alergen Sol i 1 u mrówek ognistych, który jest 148-aminokwasowym białkiem wykazującym w 31-32% podobieństwo do fosfolipazy os z rodzaju *Vespa* [45], jak i PLA₂ z jadu *Pogonomyrmex badius* [99], czy *Pseudomyrmex triplarinus* [34].

Mianem fosfolipaza B (PLB) określa się enzym (mieszanie enzymów) o łącznej aktywności PLA₁ i PLA₂, chociaż nazwa ta jest niekiedy stosowana jako synonim lizofosfolipazy. Obecność PLB wykryto w jadach niektórych gatunków osowatych, co prawdopodobnie jest wynikiem enzymatycznej adaptacji do drapieżnego trybu życia (uniwersalna aktywność fosfolipazy w jednym enzymie) w odróżnieniu od wegetarian-

Tabela I

Budowa aminokwasowa peptydów pszczoły miodnej (*Apis mellifica*).

Amino acid sequence of peptides from honey bee (*Apis mellifica*) venom.

Nazwa	Sekwencja aminokwasowa	Piśmiennictwo
melityna	GIGAVLKVLT TGLPALISWIKRKRQQ-NH ₂	[4,63,97]
melityna F	VLT TGLPALISWIKRKRQQ-NH ₂	[26]
apamina	CNCKAPETALCARRCQQH	[26,97]
MCDP	IKCNCKRHKVPHICRKC GKN	[26,97]
sekapina	YIIDVPPRCPPGSKFIKNCRCRVPV	[26]
tertiapina	ALCNCNRIIPHMCWKKCGKK-NH ₂	[53]
prokamina	AGQG-histamina	[97]
minimina	brak danych	
kardiopep	brak danych	
adolapina	brak danych	
inhibitor proteaz	brak danych	

Objaśnienie oznaczeń aminokwasów (tabela I - VIII):

A - alanina, C - cysteina, D - kwas asparaginowy, E - kwas glutaminowy, F - fenyloalanina, G - glicyna, H - histydyna, I - izoleucyna, K - lizyna, L - leucyna, M - metionina, N - asparagina, P - prolina, Q - glutamina, R - arginina, S - seryna, T - treonina, V - walina, W - tryptofan, Y - tyrozyna

Tabela II

Skład aminokwasowy bombolityn [24].

Amino acid sequence of bombolitin.

Nazwa	Budowa aminokwasowa	Masa cząsteczkowa (Da)
bombolityna 1	IKITPolistesMLAKL GKVLAAHV-NH ₂	1818,6
bombolityna 2	SKITDILAKL GKVLAAHV-NH ₂	1792,6
bombolityna 3	IKIMDILAKL GKVLAAHV-NH ₂	1848,8
bombolityna 4	INIKDILAKL GKVLGHV-NH ₂	1859,7
bombolityna 5	INVLGILG LLVKALSHL-NH ₂	1717,7
bombolityna 6	LNLTKWLGKLG VILSHLNK	2146,3
bombolityna 7	LKLDILGKIKVILSHLNK	2172,4
bombolityna 8	LKLSILGKLG VILSHLNK	2073,3

skich pszczoł (posiadających tylko PLA₂). Przykładem PLB są dwa enzymy zawarte w jadzie szerszenia *V. mandarinia*, tj. PLBα (29,5 kDa) o działaniu powodującym obrzęk, kardiotoxyczny i słabo hemolitycznym oraz PLBβ (26 kDa) o działaniu powodującym obrzęk i silnie hemolitycznym [3]. Analogiczne PLB wykryto u gatunku *V. xanthoptera*: Vx I i Vx II - oba o m. cz. 30,9 kDa [113], ponadto PLB obecna była w gatunkach rodzimych osowatych, tj. szerszenia *V. crabro* i 2 gatunków os *V. germanica* i *V. vulgaris* [126]. Aktywność PLB znaleziono też w jadach niektórych mrówek, tj. *Myrmecia pilosula* i *Myrmecia pyriformis* [69].

Zasadniczą rolą fosfolipaz, jak wspomniano powyżej, jest hydroliza fosfolipidów błon komórkowych z wytworzeniem aktywnych biologicznie produktów. Efekt ten jest przyczyną bezpośredniego działania cytolytycznego na komórki, w tym hemoliza erytrocytów [15,66,126]. Niektóre białka o aktywności fosfolipaz mogą wykazywać działanie neurotoksyczne i miotoksyczne, jak hornetyna, która w preparatach nerwowo-mięśniowych kurczaka powodowała w niskich stężeniach (1-3 µg/ml) hamowanie skurczów mięśniowych bez hamowania odpowiedzi postsynaptycznej mięśnia na acetylocholinę, a w wysokich (10 µg/ml) powodowała skurcz mięśnia i hamowanie jego odpowiedzi na acetylocholinę [39]. W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że podanie iv. PLA może powodować drgawki, porażenie oddychania, spadek systemowego ciśnienia tętniczego, migotanie komór, wzrost ośrodkowego ciśnienia żylnego, ciśnienia w lewym przedsionku i obwodowego oporu naczyniowego, epizody bezdechu, bradykardii, całkowity zanik aktywności korowej w EEG i ostatecznie zgon zwierzęcia [15].

Hialuronidaza i inne enzymy

Hialuronidaza jest białkiem o masie cząsteczkowej od 35 do 53 kDa o właściwościach enzymatycznych (glikanohydrolaza hialuronianu, hialuronoglukozaminidaza, EC 3.2.1.35), który katalizuje rozkład składników macierzy zewnątrzkomórkowej: kwasu hialuronowego i siarczanu chondroityny [61,97]. Działanie biologiczne hialuronidazy polega na rozkładzie macierzy międzykomórkowej i przez to ułatwienie penetracji innych składników jadu w tkankach ukąszonej ofiary (tzw. *spreading factor*) [19, 61,97,123]. Dobrze poznana jest budowa hialuronidazy z jadu pszczoły miodnej, której cząsteczka składa się z 349 aminokwasów i wykazuje homologię z białkiem błonowym PH-20, zawartym w nasieniu świnki morskiej i uczestniczącej w adhezji plemników do komórki jajowej [27,61]. Jad szerszenia zawiera hialuronidazę o krótszej budowie łańcucha (331 aminokwasów), który w 56% jest identyczny z hialuronidazą pszczałą [61]. Hialuronidaza klecanki *P. gallicus* jest białkiem o m. cz. 42173 Da [85]. Pomimo że enzym ten stanowi zaledwie 1-2% suchej masy jadu, to jest uważany za jeden z głównych alergenów jadu błonkówek (np. Api m 2, Dol m 2, Pol a 2, Ves v 2) [13,52].

Enzymami obecnymi w jadzie błonkówek w mniejszych ilościach są lizofosfolipaza (fosfolipaza B), kwaśna fosfataza, proteazy i inne.

Lizofosfolipaza (zwana niekiedy fosfolipazą B) jest enzymem, który hydrolizuje produkty powstałe w wyniku działania fosfolipazy, czyli lizofosfolipidy, powodując odcięcie od nich kolejnego łańcucha kwasu tłuszczowego w pozycji 1 lub 2. Obecność lizofosfolipazy wykryto w jadzie pszczoł [126],

osy *V. germanica* i szeregu gatunków klecanek (*P. annularis*, *carolina*, *exclamans*, *fuscatus* i *instabilis*) [50]. Aktywność lizofosfolipazy posiada także orientotoksyna I (m. cz. 18 kDa) z jadu szerszenia *V. orientalis*, która wykazuje działanie neurotoksyczne blokując spontaniczne i indukowane uwalnianie neurotransmitera z zakończeń presynaptycznych neuronów [60, 118] i lizofosfolipaza z jadu *V. orientalis* o działaniu hemolitycznym na ludzkie erytrocyty [48].

Kwaśna fosfataza (EC 3.1.3.2), zwana też fosfomonoesterazą, wykazuje swoje optimum działania w środowisku kwaśnym (pH 4,4-4,8) i po raz pierwszy została opisana w jadzie pszczoły miodnej przez *Bentona* już w latach 60-tych XX wieku [19], a później zidentyfikowana jako alergen B złożony z polimerów łańcucha o m. cz. 49 kDa [42]. *Barboni E.* i wsp. wyizolowali z jadu *A. mellifica* kwaśną fosfatazę, która posiadała dwie formy o m. cz. 45 i 96 kDa i była istotnym alergenem posiadającym zdolność do uwalniania histaminy z bazofilów u osób uczulonych na jad pszczoł [9, 19]. Rola fizjologiczna kwaśnej fosfatazy nie jest do końca poznana. Obecnie jest ona uważana za jeden z głównych alergenów jadu pszczoł i określana jako Api m 3 [13, 29, 52]. Oprócz jadu pszczoł obecność kwaśnej fosfatazy stwierdzono także w jadzie trzmiela (*Bombus terrestris*) [43] oraz niektórych gatunków mrówek z rodzaju *Myrmecia* [69]. Jad niektórych mrówek zawiera również pewne ilości fosfatazy alkalicznej (EC 3.1.3.1) [69, 100].

Proteazy serynowe są znaczącym składnikiem jadu klecanek, stanowiąc obok PLA₂, hialuronidazy i antygeny 5, jeden z 4 głównych alergenów [128]. Najwcześniej opisana została 243-aminokwasowa proteaza z jadu trzmiela *Bombus pennsylvanicus* (Bom p 4). Proteaza pszczoły miodnej o masie cząsteczkowej 39 kD posiada łańcuch złożony z 245 aminokwasów zawierający 88-aminokwasową domenę CUB (tzw. CUB-proteaza) i jest jednym z alergenów pszczelego jadu oznaczonym jako Api m 7 [128]. Proteaza *P. dominulus* składa się z 244-aminokwasowego łańcucha z 4 potencjalnymi miejscami N-glikozylacji i jest alergenem oznaczonym jako Pol d 4 [128], natomiast u *P. gallicus* (Pol g 4) ma masę cząsteczkową 36669 Da [85]. Z jadu trzmieli została wyizolowana tryptamidaza, nieobecna w jadzie pszczoł, a podobna do enzymów kaskady krzepnięcia i akrozyzny [44]. W jadzie pszczoły miodnej wykryto obecność α -glikozydazy [97], która stanowiła 0,6% suchej masy i wykazywała optimum aktywności przy pH 5,5. Jej rolą jest prawdopodobnie udział w wytwarzaniu miodu [19].

W mniejszych ilościach znaleziono w jadach błonkówek także aktywności takich enzymów jak: lipazy (EC 3.1.1.3), esterazy (3.1.1.1), fosfodiesterazy (EC 3.1.4.1), β -galaktozydazy, β -acetylaminoodeoksyglukozydazy, arylamidazy i inne [19, 97, 100].

Antygen 5

Istotnym składnikiem jadu osowatych jest antygen 5, którego rola fizjologiczna nie została jak dotąd określona. Jest on uważany za jeden z głównych alergenów osowatych (np. Ves v 5, Dol m 5, Vesp c 5, Pol

Tabela III

Przykłady mastoparanów z jadu osowatych.

Examples of mastoparans from vespid venom.

Pochodzenie	Nazwa	Budowa aminokwasowa	Piśmiennictwo
<i>Paravespula lewisii</i>	mastoparan	INL K A L A A L A K K I L-NH ₂	[49, 75, 77, 97]
<i>Vespula vulgaris</i>	mastoparan-V1	INW K K I K S I I K A A M N-NH ₂	[49]
	mastoparan-V2	INW K K I K S L I K A A M S-NH ₂	[49]
<i>Vespa crabro</i>	mastoparan-C	INL K A L L A V A K K I L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>V. basalis</i>	mastoparan-B	L K L K S I V S W A K K V L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>V. mandarinia</i>	mastoparan-M	INL K A I A A L A K K L L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>V. tropica</i>	mastoparan-T	INL K A I A A F A K K L L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>V. analis</i>	mastoparan-A	I K W K A I L D A V K K V L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>V. xanthoptera</i>	mastoparan-X	INW K Q I A A M A K K L L-NH ₂	[49, 75, 77, 97]
<i>V. orientalis</i>	mastoparan-II	INL K A L A A L V K K V L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>Polistes jadvigae</i>	polistes mastoparan	V D W K K I G Q H I L S V L-NH ₂	[49, 75, 77]
<i>P. rothnei iwatai</i>	polistes-mastoparan-R 1 (Pm-R1)	INW L K L G K K I L G A I-NH ₂	[75]
	polistes-mastoparan-R 2 (Pm-R2)	L N F K A L A A L A K K I L-NH ₂	[75]
	polistes-mastoparan-R 3 (Pm-R3)	INW L K L G K Q I L G A L-NH ₂	[75]
<i>Polybia paulista</i>	polybia-MPI	I D W K K L D A A W Q I L-NH ₂	[75]
<i>Protopolybia exigua</i>	protopolybia MPI	INW L K L G K K V S A I L-NH ₂	[75]
	protopolybia MP II	INW K A L I E A A K Q A L-NH ₂	[75]
	protopolybia MP III	INW L K L G K A V I D A L-NH ₂	[75]
<i>Parapolybia indica</i>		INW A K L G K L A L E V I-NH ₂	[75]
<i>Agelaia pallipes pallipes</i>	agelaia-MP	INW L K L G K A I I D A L-NH ₂	[75]
<i>Protonectarina sylveirae</i>	protonectarina mastoparan	INW K A L L D A A K K V L-NH ₂	[75]
<i>Ropalidia sp.</i>		INW S K L L S M A L E V I-NH ₂	[75]
<i>Anterhynchium flavomarginatum micado</i>	eumenine-mastoparan-AF (EMP-AF)	INL L L K I A K G I I K S L-NH ₂	[58]

a 5) oraz mrówek z rodzaju *Solenopsis* (Sol i 3) [13, 52]. Antygen 5 osy pospolitej (Ves v 5) zawiera 204 aminokwasy i wykazuje 69% i 60% homologię sekwencji odpowiednio z Dol m 5 i Pol a 5 [51], natomiast u *P. gallicus* antygen 5 jest 206 aminokwasowym peptydem o masie cząsteczkowej 23 135 Da [85]. Antygen 5 pod względem budowy jest podobny białek z nadrodziny zwanej *pathogenesis-related proteins* (PRP), które są wytwarzane zwłaszcza przez rośliny w odpowiedzi na zakażenie wywołane przez grzyby, wirusy, wirydy i inne patogeny, chociaż ich obecność wykryto także w tkankach ssaków, gadów, owadów czy grzybów [33]. Obecny w jadzie *Dolichovespula maculata* antygen 5 posiada dwie formy (204- i 205-aminokwasową) podobne do siebie pod względem antygenowym i wykazujące podobieństwo sekwencji do PRP z liści tytoniu [23]. Donoszono, że antygen 5 z jadu szerszenia *V. mandarinia* wykazywał działanie neurotoksyczne na połączenia nerwo-mięśniowe w odnóżach krocznych homara [52].

Związki o pośredniej masie cząsteczkowej

Peptydy z jadu pszczołowatych

Jad pszczoły miodnej jest jednym z najlepiej poznanych pod względem budowy chemicznej jadów zwierzęcych, w skład którego wchodzi liczne peptydy (tabela I), w tym melityna (40-50%), apamina (2-3%), peptyd wywołujący degranulację mastocytów (2-3%), minimina (2-3%), adolapina (1%), sekapina (0,5%), tertiapina (0,1%), prokamina A i B (1,4%), kardiopеп (<0,7%), inhibitor proteaz (0,8%) [31] oraz melityna F (<1%) [30].

Melityna jest 26-aminokwasowym peptydem o charakterze hydrofobowym (z wyjątkiem hydrofilnego C-końca), który ma właściwości hemolityczne [25, 115]. Cztery α -helikalne monomery melityny łącząc się w

tetramery formują w błonie komórkowej kanały jonowe, które zmieniają przepuszczalność błon komórkowych [116, 125]. Ponadto melityna ma właściwości aktywujące fosfolipazy i kalmodulinę po interakcji z błonami komórkowymi [114], gdyż powodując dezintegrację błon komórkowych, ułatwia PLA₂ przecięcie wiązań kwasów tłuszczowych w obrębie dwuwarstwy lipidowej [123]. Stwierdzono, że melityna odpowiada za działanie kardiotoxyczne jadu pszczoł, powodując zarówno dysfunkcję skurczową serca, jak i zmiany morfologiczne (zwrodnienie balonowate) [78]. Początkowa dawka melityny powoduje przejściową hipotensję z następczym skrajnym wzrostem ciśnienia prowadzącym do śmierci. Jej duże dawki powodują nieodwracalny skurcz mięśnia sercowego i szybką śmierć [98]. Peptyd ten może spowodować bradykardię, zaburzenia rytmu i bloki przedsionkowo-komorowe [76]. Melityna zaburza także transport niektórych substancji przez błony komórek cewek nerkowych [30]. Odpowiada ona w głównej mierze również za lokalny stan zapalny i wrażliwość bólową wokół miejsca ukąszenia przez pszczołę [111].

Melityna powstaje w wyniku posttranslacyjnej obróbki 70-aminokwasowego prekursora zwanego pre-promelityną, którego C-końcowa sekwencja od 44 do 69 aminokwasu odpowiada melitynie [109]. W wyniku alternatywnego odcięcia z pre-promelityny powstaje peptyd zwany melityną F, który jest o 7 aminokwasów od strony N-końcowej krótszy od melityny [26].

Apamina jest zasadowym 18-aminokwasowym peptydem posiadającym 2 mostki dwusiarczkowe (Cys1-Cys11, Cys3-Cys15), zawartym w jadzie pszczoł i wykazującym działanie neurotoksyczne [64]. Wykazano, że podanie apaminy myszom w dawce letalnej lub subletalnej powodowało skrajne, nieskoordynowane pobudzenie ruchowe. Dawki śmiertelne indukują toniczne drgawki z następczymi zaburzeniami oddychania

i śmiercią. Apamina blokuje Ca^{2+} -zależne kanały potasowe w taśmach okrężnicy i wątrobie [47]. W centralnym systemie nerwowym apamina wiąże się z wysokim powinowactwem do specyficznych receptorów postsynaptycznych i blokuje wiele hamujących lub hiperpolaryzujących efektów α -adrenergicznych, cholinergicznymi i purynergicznymi oraz zmniejsza efekty indukowane przez neurotensynę [19]. Dawkę letalną LD_{50} u myszy oszacowano dla czystej apaminy na 3-5 mg/kg [25].

22-aminokwasowy peptyd wywołujący degranulację mastocytów (MCDP; peptyd 401) jest chemicznie podobny do apaminy [26] i odpowiada za masywne uwalnianie histaminy w miejscu ukąszenia przez pszczoły. Jest bogaty w struktury α -helikalne i zawiera w swej budowie 2 mostki dwusiarczkowe (Cys3-Cys15, Cys5-Cys19) [19,25]. Z jednej strony degranulacja mastocytów prowadzi do uwalniania histaminy i serotoniny, czyli do działania prozapalnego, z drugiej zaś stwierdzono, że MCDP wykazywał silne właściwości przeciwzapalne [8,25]. MCDP może działać jako neurotoksyna powodując drgawki, blokować kanały potasowe oraz powodować obniżenie ciśnienia krwi u szczurów [134].

Sekapina jest 24-aminokwasowym peptydem izolowanym z jadu *A. mellifica*, posiadającym 1 mostek dwusiarczkowy w cząsteczce (Cys9-Cys20) [26]. W badaniach na zwierzętach nie stwierdzono istotnej toksyczności sekapiny: w dawce 10-20 mg/kg nie wywoływała żadnych uchwytynych zmian; przy dawce 40 mg/kg pojawiała się łagodna sedacja, a przy 80 mg/kg występowały znaczna sedacja, piloerekcja i hipotermia [25].

Tertiapina jest 21-aminokwasowym peptydem wyizolowanym z jadu pszczoły miodnej, zawierającym 2 mostki dwusiarczkowe w cząsteczce (Cys3-Cys14, Cys5-Cys18). Ma zdolność do blokowania kanałów potasowych I_{KACH} w kardiomiocytach [53] i przeciwdziała powstawaniu bloków AV związanych z nadmierną stymulacją cholinergiczną [22]. W mózgu działa neurotoksycznie, prawdopodobnie przez blokowanie funkcji kalmoduliny [73].

Prokamina była pierwszym peptydem zawierającym histaminę w C-końcowym odcinku swojego łańcucha, który został wyizolowany z naturalnych źródeł, tj. jadu pszczoł [87]. Zawarte w jadzie *A. mellifica* 2 odmiany prokaminy, tj. A i B, mogą w warunkach *in vivo* uwalniać histaminę poprzez powolną hydrolizę oraz mogą uwalniać schelatowane jony miedzi Cu^{2+} , przyczyniając się do radioprotekcyjnych własności naturalnego jadu pszczoł [122].

Minimina jest zasadowym oligopeptydem o masie cząsteczkowej 6 kDa wyizolowanym z jadu pszczoł na początku lat 70-tych XX w. Swoją nazwę zawdzięcza zdolności do zaburzania rozwoju *Drosophila melanogaster*, gdyż podana larwom powodowała letarg i anoreksję i przez to powstanie z larw miniatury osobników dorosłych [15,68].

Kardiopep jest peptydem zawartym w jadzie pszczoł, który wywołuje efekty β -adrenergiczne i antyarytmiczne. Podany bezpośrednio do krążenia wieńcowego w izolowanych sercach psów i małp powodował

Tabela IV

Peptydy chemotaktyczne wyizolowane z jadu osowatych.

Chemotactic peptides isolated from vespid venom.

Pochodzenie	Nazwa	Budowa aminokwasowa	Piśmiennictwo
<i>Paravespula lewisii</i>	Ves-CP-L	FLPIIAKLVSGLL-NH ₂	[77]
<i>Vespa crabro</i>	krabrolina	FLPLILRKIVTAL-NH ₂	[4,77,88]
<i>V. mandarinia</i>	Ves-CP-M	FLPIIGKLLSGLL-NH ₂	[77]
<i>V. tropica</i>	Ves-CP-T	FLPILGKILGGLL-NH ₂	[77]
<i>V. analis</i>	Ves-CP-A	FLPMIAKLLGGLL-NH ₂	[77]
<i>V. xanthoptera</i>	Ves-CP-X	FLPIIAKLLGGLL-NH ₂	[77]
<i>V. orientalis</i>	HR-II	FLPLILGKLVKGLL-NH ₂	[77]
<i>Ropalidia</i> sp.	Icaria-CP	IVPFLGPLLGLL-NH ₂	[77]

wzrost częstości rytmu o 50±10% i siły skurczu o 150±50%, ponadto przywracał prawidłowy rytm w sercach z zaburzeniami rytmu [124]. Jego dodatni efekt inotropowy na mięsień sercowy może być wynikiem nasilenia depolaryzacji komór, wyrażającej się wzrostem amplitudy załamków R [76]. Dawkę LD_{50} u psów i małp dla kardiopepu ustalono na 15 mg/kg [124].

Adolapina jest peptydem o masie cząsteczkowej 11,5 kDa, który wykazuje silny efekt przeciwzapalny i przeciwbólowy, przy czym pierwszy z nich jest związany z hamowaniem syntezy prostaglandyn, a drugi polega na działaniu ośrodkowym adolapiny [105]. Znane jest także działanie przeciwgorączkowe tego peptydu. Wykazano, że adolapina hamuje aktywność cyklooksygenazy, fosfolipazy A₂ zawartej w jadzie pszczoł oraz lipooksygenazy zawartej w płytkach krwi. U szczurów podanie adolapiny w dawce 20 mg/kg powodowało wzrost poziomu cGMP w śledzionie i mózgu, a spadek poziomu cAMP w śledzionie [55].

W latach 70-tych XX w. *Shkenderov* S. zidentyfikował i częściowo wyizolował z jadu pszczoł niskocząsteczkowy peptyd (m. cz. 9000±1000 Da) o właściwościach inhibitora proteaz serynowych, który hamował aktywność proteolityczną trypsyny. Autor ten uważa, że rolą fizjologiczną tego peptydu jest ochrona innych komponentów białkowych jadu pszczoł (hialuronidazy, fosfolipazy, melityny i apaminy) przed nieuczynieniem przez proteazy ukąszonego człowieka lub zwierzęcia [104].

Bombolityny są peptydami zawartymi w jadzie trzmieli, które funkcjonalnie odpowiadają pszczelej melitynie, mastoparanom os czy krabrolinie szerszeni. Początkowo poznano 5 17-aminokwasowych bombolityn: 1, 2, 3, 4 i 5, które wyizolowano z jadu *Megabombus pennsylvanicus* [4], a następnie 3 kolejne z jadu *Bombus lapidarius* zawierające po 19 aminokwasów w łańcuchu: 6, 7 i 8 [24]. Ich budowę aminokwasową przedstawiono w tabeli II. Bombolityny formując amfipatyczne α -helisy, wchodzi w interakcje z agregatami fosfolipidowymi, niszczą struktury micelli oraz zaburzają strukturę monowarstwy fosfolipidowej. Uważa się, że reagując na poziomie błonowym mogą one zwiększać aktywność PLA₂ [88].

Peptydy z jadu osowatych

W jadzie błonkówek z rodziny osowatych można wyróżnić 3 zasadnicze grupy peptydów o podobnej budowie aminokwasowej, a mianowicie: (1) mastoparany, (2) czynniki chemotaktyczne oraz (3) kininy. Oprócz tego jad niektórych gatunków zawiera

inne, mniej poznane peptydy, np. sylweryny, protonektyny, pompilidotoksyny czy anoplinę.

Związkami o działaniu podobnym do melityny czy bombolityn zawartymi w jadzie osowatych są mastoparany (MPs). Są to 14-aminokwasowe peptydy bogate w hydrofobowe aminokwasy, takie jak alanina, leucyna i izoleucyna oraz zasadową lizynę (tabela III). Jako pierwsze zostały wyizolowane pod koniec lat 70-tych mastoparan (m.cz. 1479,1 Da) z jadu os i szerszeni *Paravespula lewisii* [36] i mastoparan-X z jadu *Vespa xanthoptera* [35], a w kolejnych latach także inne: mastoparan-M (*V. mandarinia*), mastoparan-T (*V. tropica*), mastoparan-II (*V. orientalis*), mastoparan-C (*V. crabro*), mastoparan-A (*V. analis*), mastoparan-V1 i -V2 (*Vespa vulgaris*) [49,77] oraz mastoparan-B (*V. basalis*) [38]. Podobne w budowie peptydy zawarte są także w jadzie kłecanek: polistesmastoparan u *Polistes jadwigae*, dominulina A (m.cz. 1854 Da) i B (m.cz. 1909 Da) u *P. dominulus* [119,120] oraz ostatnio wyizolowane polistesmastoparan-R1, 2 i 3 z jadu *Polistes rothneyi iwatai* [75]. W badaniach na izolowanych komórkach mastoparan powodował degranulację mastocytów otrzewnowych szczura z uwolnieniem histaminy, uwalnianie serotoniny z płytek krwi u królików, uwalnianie adrenaliny i kwasu adenylogowego z komórek chromaffinowych nadnerczy wołu oraz hemolizę erytrocytów [77]. Zdolność mastoparanu do uwalniania histaminy wiąże się prawdopodobnie z jego C-końcowym odcinkiem, gdyż fragment peptydu zawierający aminokwasy 7-14 nadal posiadał takie działanie [36]. Aktywacja mechanizmu degranulacji wynika z interakcji peptydu z receptorami sprzężonymi z białkami G, natomiast właściwości lityczne są efektem formowania porów w błonach komórkowych przez cząsteczki mastoparanów [84]. Stwierdzono, że mastoparany są związane z wysokim powinowactwem przez kalmodulinę i hamują aktywność fosfodiesterazy stymulowanej przez kalmodulinę [10,77], mają ponadto zdolność do aktywacji fosfolipazy A [5] i D [67]. Mastoparan i mastoparan-B posiadają właściwości przeciwbakteryjne, przy czym pierwszy z nich wykazywał aktywność przeciw bakteriom G(+), natomiast drugi - przeciwko G(-) i G(+) [86]. Podobne właściwości przeciw bakteriom G(+) i G(-) wykazują dominulina A i B, których rolą jest prawdopodobnie naturalna obrona owada przez patogenami bakteryjnymi [120]. Ostatnio wykazano, że w jadzie *Vespa magnifica* mastoparany powstają z 40-aminokwasowego prekursora, mastoparanogenu, kodowa-

Tabela V

Przykłady kinin pochodzących z jadu błonkówek. Dla porównania przedstawiono budowę podstawowych kinin ssaków.

Examples of kinins from Hymenoptera venom. The structure of main mammalian kinins are shown for a comparison.

Pochodzenie	Nazwa	Sekwencja aminokwasowa	Piśmiennictwo
ssaki	bradykinina (BK)	RPPGFSPFR	[72,90]
	kalidyna (Lys-BK)	KRPPGFSPFR	[90]
<i>Vespa mandarinia</i>	wespakinina-M	GRPXGFSPFRID	[72,77,90,97]
<i>Vespa xanthoptera</i>	wespakinina-X	ARPPGFSPFRIV	[72,77,90,97]
<i>Vespa analis</i>	wespakinina-A	GRPPGFSPFRVI	[72,77,90]
<i>Vespa tropica</i>	wespakinina-T	GRPXGFSPFRVV	[72,77,90]
<i>Paravespula maculifrons</i>	wespulakinina 1	carbohy carbohy TATRRRGRPPGFSPFR	[77,90,97,132]
	wespulakinina 2	carbohy carbohy TTRRRGRPPGFSPFR	[97,132]
<i>Paravespula lewisii</i>	wespulakinina-L	TATTKRRGRPPGFSPFR NAcGal-Gal	[77,90]
<i>Polistes fuscatus, P. exclamans, P. annularis</i>	polisteskinina-3	pETNKKKLRGRPPGFSPFR	[72,77,90,119]
<i>Polistes rothneyi</i>	polisteskinina R-1 (Thr ⁶ -BK)	RPPGFTPFR	[72,75,90,97,119]
	polisteskinina R-2	ARRPPGFTPFR	[75,97]
<i>Polistes jadwigae</i>		RRRPPGFTPFR	[72,77,90]
	polisteskinina-J	RRRPPGFSPFR	[72,77,90,119]
		RTRPPGFSPFR	[72,77,90,119]
<i>Polistes chinensis</i>	polisteskinina-C	SKRPPGFSPFR	[72,77,90,119]
<i>Polistes yokohamae</i>		RRRPPGFTPFR	[77]
<i>Polistes gallicus</i>	peptyd I	IKAGGIVKKKL	[119]
	peptyd II	LAIPFCGRPPGFSPFR	[119]
	peptyd III	FKLVKRPPGFSPFR	[119]
	peptyd IV	IRPPGFSPFRV	[119]
	peptyd V	FKVPPKGVFTSPL	[119]
	peptyd VI	IRPVGFSFRTS	[119]
<i>Parapolybia indica</i>		pEGlxKRRPPGFSPFRK	[90]
<i>Protopolybia exigua</i>	protopolibiakinina I	DKNKKPIRVGRRPPGFTPFR	[72]
	protopolibiakinina II	DKNKKPIWMAGFPGFPIR	[72]
<i>Megascolia flavifrons</i>	Thr ⁶ -BK	RPPGFTPFR	[90]
	megaskoliakinina	RPPGFTPFRKA	[90]
<i>Colpa interrupta</i>	Thr ⁶ -BK	RPPGFTPFR	[90]
<i>Megacamp-someris prismatica</i>	Thr ⁶ -BK	RPPGFTPFR	[59]
<i>Campsomeriella annulata</i>	Thr ⁶ -BK	RPPGFTPFR	[59]
<i>Carinoscolia melanosoma</i>	Thr ⁶ -BK	RPPGFTPFR	[59]

nego przez odcinek DNA złożony z 236 par zasad [130]. Z jadu samotnych os *Anterhynchium flavomarginatum micado* wyizolowano eumenine-mastoparan-AF, złożony z 14 aminokwasów i zawierający motyw α -helisy, który oprócz działania aktywującego degranulację oddziaływał na transmisję nerwo-mięśniową w preparacie z odnoży kroczyńskich homara [58,84]. Jad szerszenia *Vespa orientalis* zawiera 14-aminokwasowe peptydy uwalniające histaminę HR-1, HR-2 i HR-3, z których HR-1 w niskich stężeniach (2-20 μ g/ml) wybiórczo uwalniał histaminę z komórek tłuszcznych u szczurów, natomiast w wyższych stężeniach (50-100 μ g/ml) wykazywał nieselektywne działanie cytotoksyczne. HR-1 powodował hemolizę erytrocytów, hamował pompę wapiową (Ca^{2+} -ATP-azę) oraz indukował przepuszczalność dwuwarstwy lipidowej szczególnie dla jednowartościowych kationów [117].

Drugą grupą peptydów zawartych w jadzie osowatych są tzw. peptydy chemotaktyczne (Ves-CPs), których cząsteczki składają się z 13 aminokwasów, głównie leucyny, izoleucyny, fenyloalaniny i glicyny (tabe-

la IV). Wszystkie one posiadają zdolność do chemotaksji makrofagów i leukocytów wielojądrowych, chociaż niektóre z nich mogą także wywoływać degranulację komórek tłuszcznych, jednak w mniejszym stopniu niż klasyczne peptydy degranulujące jak melityna czy mastoparany [77]. Efektem klinicznym ich działania jest łagodny obrzęk wokół miejsca użądlenia przez osy, spowodowany zapalnym wysiękiem zawierającym głównie leukocyty wielojądrowe [84]. Do czynników chemotaktycznych należą m.in. Ves-CP-T (*Vespa tropica*), Ves-CP-M (*V. mandarinia*), Ves-CP-A (*V. analis*), Ves-CP-X (*V. xanthoptera*), krabrolina (*V. crabro*), Ves-CP-L (*Paravespula lewisii*) i HR-II (*V. orientalis*) [77]. Krabrolina (m.c. 1506 Da) jest czynnikiem chemotaktycznym zawartym w jadzie szerszenia europejskiego (*V. crabro*) o typowej dla tej grupy peptydów 13-aminokwasowej budowie tworzącej motyw α -helisy, zawierającym oprócz lizyny także argininę. Wykazano, że krabrolina oprócz działania chemotaktycznego posiada także zdolność do uwalniania histaminy z komórek tłuszcznych w otrzewnej u szczurów oraz słabiej od masto-

paranów ułatwia działanie PLA₂ [6,77]; ponadto peptyd ten ma działanie hemolityczne i przeciwbakteryjne [62,84]. Z jadu azjatyckiego gatunku szerszenia (*V. basalis*) wyizolowano trzy 13-aminokwasowe peptydy HP-1, HP-2 i HP-3 o słabych właściwościach chemotaktycznych, różniące się trójaminokwasowymi sekwencjami przy swoich C- i N-końcach od peptydów znajdowanych w jadzie innych szerszeni. Wszystkie one powodowały miejscowy obrzęk łapy szczura, który reagował na leki antyhistaminowe oraz wykazywały silne działanie hemolityczne [37]. W jadzie *Agelaia pallipes pallipes* budowę podobną do czynników chemotaktycznych wykazywał peptyd APP-6 [16].

Kolejną grupą peptydów obecną w jadzie osowatych są kininy, których obecność wykazano już w 1954 roku badając jad osy pospolitej (*Vespa vulgaris*) [28,90,97]. Są to polipeptydy składające się z 9-18 aminokwasów zawierające sekwencję analogiczną do bradykininy, którą może być bradykinina, Hyp³-bradykinina czy Thr⁶-bradykinina [90]. Przykłady poznanych dotychczas kinin z jadu błonkówek przedstawiono w tabeli V. W organizmie ssaków kininy (bradykinina, kalidyna in.) powstają dzięki proteolizie białkowych prekursorów zwanych kininogenami (kininogen o dużej masie cząsteczkowej - HMWK, kininogen o małej masie cząsteczkowej - LMWK, T-kininogen) przez enzym zwany kalikreiną. Dokładna synteza kinin pochodzących z jadu błonkówek nie jest znana, ale prawdopodobnie powstają one również z prekursorów, choć w odmienny sposób niż kininy ssaków. Ostatnio zsekwencjonowano cDNA składający się ze 168 nukleotydów i kodujący 55-aminokwasowy polipeptyd z jadu szerszenia *Vespa magnifica*, który składał się z 23-aminokwasowego odcinka sygnałowego, 20-aminokwasowego kwaśnego peptydu oraz dojrzałej formy wespakininy-M (10 aminokwasów) [133]. Funkcja kinin zawartych w jadzie os żyjących samotnie polega na wywoływaniu w centralnym układzie nerwowym owadów bloku presynaptycznego w nikotynowej transmisji cholinergicznej, prawdopodobnie przez niekompetycyjne zahamowanie wychwytu cholicy, co powoduje porażenie ofiary i pomaga w zdobywaniu pożywienia dla os. W przypadku os społecznych uważa się, że po ukąszeniu u zwierząt kręgowych kininy są przyczyną bólu, co jest sposobem na odstrąszenie intruzów od kolonii os [59,90]. Działanie wywołujące ból wiąże się prawdopodobnie z oddziaływaniem kinin na receptory bradykininowe typu B₂, co wykazano w przypadku kinin zawartych w jadzie osy pospolitej (*V. vulgaris*) czy protopolibiakininy I [28,72]. Poza tymi działaniami kininy osowatych wykazywały również działanie obkurczające w przypadku większych preparatów mięśniówki gładkiej, rozkurcz dwunastnicy u szczurów, nadciśnienie u szczurów, psów, królików i kotów, natomiast hipotensję u kurcząt, skurcz oskrzeli u świńek morskich [84]. Niektóre kininy mają zdolność do uwalniania histaminy z komórek tłuszcznych w skórze - protopolibiakinina I wykazywała 7 razy większą zdolność do degranulacji mastocytów, a protopolibiaki-

nina II - 10 razy większą od bradykininy [72].

Czwartą grupę peptydów w jadzie os stanowią sylweryny, które po raz pierwszy wyizolowano z jadu brazylijskiej *Protonectaria sylveirae*. Składają się one z 21-25-aminokwasowego łańcucha zwierającego jeden mostek dwusiarczkowy i posiadają właściwości uwalniania histaminy z mastocytów, natomiast nie wykazują aktywności hemolitycznej [21,84]. Peptyd o homologicznej sekwencji do sylweryny (P-6) z *P. sylveirae* znaleziono w jadzie *Agelais pallipes pallipes* - oznaczony jako APP-4 [16].

W jadzie osowatych z podrodziny *Polistinae* znaleziono również 12-aminokwasowe peptydy zwane protopektynami (tabela VI), którego pierwszego przedstawiciela, zwanego protonektyną (P-10), wyizolowano z jadu *P. sylveirae* [21,75]. W badaniach na szczurach peptyd ten powodował degranulację mastocytów oraz wykazywał aktywność hemolityczną. Innymi przedstawicielami tej grupy jest polybia-CP z *Polybia paulista* i *Polistes*-protonektyna z *Polistes rothneyi* [75]. Polybia-CP scharakteryzowano jako peptyd o właściwościach chemotaktycznych dla leukocytów wielojądrowych, który w stężeniach fizjologicznych miał działanie przeciwbakteryjne przeciw bakteriom G(+), ale nie powodował hemolizy ani degranulacji komórek tucznych [106]. Budowę aminokwasową protonektyn przedstawiono w tabeli VI. Z jadu kłecanki *Polistes comanchus navajoe* wyizolowano peptyd zwany polistyną, który odpowiadał za właściwości hemolityczne jadu, jednakże jego termolabilność, duża masa cząsteczkowa (około 26 kDa) oraz skład aminokwasowy wskazują, że może on mieć charakter enzymu w odróżnieniu od typowych hemolizyn z jadu pszczoł i mrówek, które są niskocząsteczkowymi peptydami pozbawionymi aktywności enzymatycznej [11].

Jad os samotnych z rodziny nastecznikowatych (*Pompilidae*) zawiera neurotoksyczne pompilidotoksyny (PMTXs) (tabela VI) - 13-aminokwasowe peptydy, które wzmacniają neurotransmisję synaptyczną poprzez działanie polegające na blokowaniu inaktywacji kanałów sodowych [84]. Dotychczas poznano 2 związki z tej grupy, tj. α -PMTX z jadu *Anoplius samariensis* i β -PMTX z jadu *Batozonellus maculifrons* [57], różniące się tylko aminokwasem w pozycji 12-tej łańcucha peptydowego. Ich sekwencje aminokwasowe przedstawiono w tabeli VI.

W jadzie *A. samariensis* znaleziono także oryginalny, krótki peptyd - anoplinę - składający się z 10 aminokwasów (GLLKRIK-TLL-NH₂), którego sekwencja jest homologiczna do krabroliny i mastoparanu-X. Wykazano, że ma on działanie przeciwbakteryjne w stosunku bakterii G(-) i G(+) oraz silne właściwości pobudzające mastocyty otrzewnowe szcúra do uwalniania histaminy [56,84].

Właściwości neurotoksyczne posiada mandaratoksyna (MDTX) - jednołańcuchowy polipeptyd bogaty w lizynę o masie cząsteczkowej około 20 kDa, który został wyizolowany w 1981 roku z jadu azjatyckiego szerszenia *Vespa mandarinia*. Nie wykazano aktywności hemolitycznej ani enzymatycznej (proteazowej, fosfolipazowej i esterażowej) MDTX, natomiast stwierdzono, że

Tabela VI

Budowa aminokwasowa poznanych protonektyn i pompilidotoksyn z jadu osowatych.

Amino acid sequence of known protonectins and pompilidotoxins from vespid venom.

Pochodzenie	Nazwa	Budowa aminokwasowa
protonektyny [75]		
<i>Protonectaria sylveirae</i>	protonektyna	ILGTILGLLKG L-NH ₂
<i>Polybia paulista</i>	polybia-CP	ILGTILGLLKS L-NH ₂
<i>Polistes rothneyi iwatai</i>	polistes-protonektyna	ILSALLGLLKS L-NH ₂
pompilidotoksyny (PMTXs) [57]		
<i>Anoplius samariensis</i>	α -PMTX	RIKIGLFQDLSKL-NH ₂
<i>Batozonellus maculifrons</i>	β PMTX	RIKIGLFQDLSRL-NH ₂

Tabela VII

Pilosuliny wyizolowane z jadu *Myrmecia pilosula* (wg [127], zmodyfikowany).

Pilosulins isolated from *Myrmecia pilosula* venom.

Nazwa	Opis	Masa cząsteczkowa [Da]
pilosulina 1		6052
[Ile ⁵]pilosulina 1		6066
pilosulina 2	nie obserwowany w [127]	3212
pilosulina 3	heterodimer złożony z pilosuliny 3a i 3b	5608
pilosulina 3.1	pilosulina 3 z dodatkową Gly przy C-końcu	5665
pilosulina 3a	des-Gly ²⁷ -pilosulina 2	3155
pilosulina 3b		2457
pilosulina 3.1b	pilosulina 3b z dodatkową Gly przy C-końcu	2514
pilosulina 4	nie obserwowany w [127]	4087
pilosulina 4.1	homodimer [Glu ³¹]-pilosuliny 4	8198
pilosulina 4.1a	[Glu ³¹]-pilosulina 4	4101
pilosulina 5	homodimer pilosuliny 5a	8546
pilosulina 5a		4274

Tabela VIII

Budowa aminokwasowa i masy cząsteczkowe ponerycyn z jadu mrówek *Pachycondyla goeldii* [79].

Amino acid sequence and molecular weights of ponerocins from ants *Pachycondyla goeldii* venom.

Nazwa	Budowa aminokwasowa	Masa cząsteczkowa [Da]
ponerycyny G		
G1	GWKDWAKKAGGWLKKKGGPMAKAAALKAAMQ	3213
G2	GWKDWLKKGKEWLKAKGPGIVKAALQAATQ	3307
G3	GWKDWLNGKKEWLKKKGGPIMKAALKAATQ	3382
G4	DFKDWMTAGEWLKKKGGPILKAAMAAAT	3164
G5	GLKDWVKIAGWLLKKKGGPILKAAMAAATQ	3108
G6	GLVDVVGKVGGLIKKLLP-NH ₂	1819
G7	GLVDVVGKVGGLIKKLLPG	1876
ponerycyny W		
W1	WLGSALKIGAKLLPSVVGFLFKKKKQ	2710
W2	WLGSALKIGAKLLPSVVGFLFKKKKQ	2710
W3	GIWGTALAKIGKAVPRVISM LKKKKQ	2864
W4	GIWGTALKWGVKLLPKLVGMAQTKKQ	2851
W5	FWGALIKGAALIPSVVGFLFKKKKQ	2600
W6	FIGTLGIASAIPAIVKLFK-NH ₂	2030
ponerycyny L		
L1	LLKELWTKMKGAGKAVLKG IKG L L-NH ₂	2595
L2	LLKELWTKIKGAGKAVLKG IKG L L-NH ₂	2577

w połączeniach nerwowo-mięśniowych odnoży kroczych homara nieodwracalnie blokował postsynaptyczne potencjały pobudzające, bez istotnego wpływu na przewodnictwo spoczynkowe błony postsynaptycznej. W obrębie aksonu presynaptycznego MDTX blokował potencjał czynnościowy głównie przez zmniejszenie prądu sodowego [2,97].

Peptydy z jadu mrówkowatych

Peptydy znajdowane są również w jadzie mrówek, głównie z podrodziny *Ponerinae*, *Myrmeciinae*, *Pseudomyrmecinae* i *Ecitoninae*. W jadzie australijskiego gatunku mrówek *Myrmecia pilosula* znaleziono peptydy o właściwościach alergenów, które określono jako Myr p 1 i Myr p 2. Później bardziej szczegółowa analiza wykazała, że peptydy powstałe po odcięciu sekwencji liderowych wykazują aktywność biologiczną - były to pilosulina 1 z Myr p 1 (Myr p 1

57→112; m.cz. 6052 Da) i pilosulina 2 z Myr p 2 (Myr p 2 49→75; 3212 Da) [18,84]. Ostatnio postępując się metodą HPLC-MS wyizolowano kolejne peptydy z rodziny pilosuliny, które zestawiono w tabeli VII [127]. Wykazano, że pilosulina 1 ma szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego przeciw bakteriom G(-) i G(+) oraz przeciw grzybom *Candida albicans* [84], a jej α -helikalna struktura drugorzędowa determinuje właściwości cytolityczne [129]. Inne pilosuliny także miały działanie hemolityczne i uwalniające histaminę [84].

Jad mrówek z gatunku *Pachycondyla goeldii* zawiera około 15 peptydów o właściwościach przeciwbakteryjnych i owadobójczych zwanych ponerycynami. Pod względem budowy chemicznej można je podzielić na trzy grupy: (1) ponerycyny G o budowie podobnej do peptydów cekropinopodobnych, (2) ponerycyny W podobne do

gaeguryn i melityny oraz (3) ponerycyny L o budowie zbliżonej do dermaseptyny. Wszystkie ponerycyny w środowisku polarnym, jak np. błony komórkowe, prawdopodobnie mogą formować amfipatyczne struktury α -helikalne. Wykazano, że ponerycyny posiadają szerokie działanie przeciw bakteriom G(-) i G(+) oraz owadobójcze w stosunku do larw świerszczy, a ponadto ponerycyny W mają właściwości hemolityczne [79,84]. W warunkach naturalnych peptydy te spełniają prawdopodobnie rolę obronną, chroniąc kolonie mrówek przed drobnoustrojami mogącymi dostać się do gniazda wraz przyniesioną zdobyczą lub po jej spożyciu. Budowę poszczególnych ponerycyn przedstawiono w tabeli VIII [79].

W jadach mrówek występują także peptydy o działaniu neurotoksycznym. Przykładem jest poneratoksyna (PoTX) z jadu mrówki *Paraponera clavata*, która składa się z 25-aminokwasowego łańcucha formującego dwie, różniące się charakterem i sposobem oddziaływania z błonami komórkowymi, α -helisy połączone ze sobą przez zakręt β . Jedna z helis (3-9) od N-końca jest niepolarna i może wchodzić w interakcje z nienaladowanymi lipidami dwuwarstwy, natomiast druga (17-25) od C-końca jest polarna i dodatnio naladowana, dzięki czemu może przyczepiać się do ujemnie naladowanych powierzchni komórek [112]. PoTX powoduje zależne od stężenia hamowanie transmisji synaptycznej w centralnym systemie nerwowym owadów oraz oddziałuje na bramkowane napięciem kanały sodowe [84,93]. Jej własności neurotoksyczne w stosunku do innych owadów czynią z niej potencjalny substrat do produkcji środków owadobójczych [112].

Innym przykładem neurotoksyny jest ekatamina (m.cz. 7928 Da) z jadu mrówek *Ectatomma tuberculatum*, która składa się z 2 łańcuchów polipeptydowych (37 i 34 aminokwasy) połączonych ze sobą mostkiem dwusiarczkowym (A)Cys22-Cys20(B). Każdy z łańcuchów jest zbudowany z 2 anty-równoległych α -helis połączonych ze sobą 4-aminokwasowym regionem zawiasowym wzmocnionym dodatkowo mostkami dwusiarczkowymi [84,96]. Tak utworzona struktura może formować nieselektywne kanały jonowe w błonach komórkowych zmieniając przepuszczalność błon oraz wykazano jej hamujący wpływ na kanały wapniowe typu L w kardiomiocytach szczura [96].

W jadzie północnoamerykańskiej mrówki żniwiarki *Pogonomyrmex barbatulus* odkryto obecność 34-aminokwasowego peptydu o aktywności hemolitycznej. Analiza aminokwasowa peptydu wykazała wysoką zawartość His, Gly i Glx przy całkowitej nieobecności Lys, Arg, Ile i Leu, a jego masę cząsteczkową obliczono na około 3,5 kDa. W badaniach z przemianami krwinkami czerwonymi powodowała liżę erytrocytów większości gatunków ssaków bardziej skutecznie niż melityna z jadu pszczoł [12,63].

Jad mrówek może zawierać również peptydy kininopodobne. *Piek T.* i wsp. stwierdzili aktywność kininową w jadzie 5 z 6 badanych gatunków mrówek [94]. Kininy z tych jadów wykazywały działanie blokujące nikotynowe przewodnictwo w synapsach centralnego układu nerwowego owadów współ-

działając z obecnymi w jadzie neurotoksynami o większej masie cząsteczkowej, jak np. u *P. clavata* [91].

Mikrocząsteczki jadu błonkówek

Jad błonkówek zawiera liczne drobno-cząsteczkowe związki, których rola nie została do końca wyjaśniona. Należą m.in. tu węglowodany, związki lipidowe, wolne aminokwasy, aminy biogenne, acetylocholina, piperydyny, kwas mrówkowy.

W jadzie osowatych znaleziono liczne wolne aminokwasy o działaniu neurotoksycznym. Analiza ekstraktu ze zbiorniczków jadowych szerszeni *V. mandarinia*, *V. xanthoptera*, *V. tropica* i *V. analis* oraz osy *Vespa lewisii* wykazały obecność licznych ω -aminokwasów, będących neuroprzebieżnikami hamującymi, takich jak: kwas γ -aminomasłowy, tauryna, β -alanina i glicyna, przy czym stanowiły one dominujący składnik jadu szerszeni, natomiast w mniejszych ilościach obecne były w jadzie *Vespa*. U tych gatunków stwierdzono także obecność w jadzie innych aminokwasów - kwasu glutaminowego, leucyny, argininy, glutaminy, tryptofanu i histydy. Uważa się, że aminokwasy te mogą wywierać hamujący wpływ na zakończenia nerwowe i połączenia nerwo-mięśniowe owadów, które ulegają sparaliżowaniu przez jad osowatych padając ich ofiarą [1].

W jadzie błonkówek znaleziono szereg amin biogennych. U pszczoły miodnej dominowała dopamina i noradrenalina, podczas gdy u os *Dolichovespula arenaria* - dopamina i serotonina; zawartość amin była zależna od wieku owadów, zaś w przypadku pszczoły również od pory roku. W jadzie os stwierdzono przewagę ilości serotoniny nad dopaminą, obecne były także niewielkie ilości noradrenaliny i DOPA [81,83]. Jad niektórych mrówek zawiera w swoim składzie wolną histaminę - dowiedziono tego dla australijskich gatunków mrówek *Myrmecia pyriformis* [71] i *Myrmecia pilosula* [70]. Rola amin biogennych zawartych w jadzie nie jest dokładnie poznana. Uważa się, że mają one działanie rozszerzające naczyń i zwiększające przepuszczalność kapilar, stymulują mięśnie gładkie oraz zwiększają przepływ krwi. Wszystkie te efekty mają na celu przyspieszenie rozprowadzenia jadu z miejsca wstrzyknięcia po ustroju ofiary. Aminy biogenne pełnią również rolę w reakcji alergicznej wywołanej jadem błonkówek [80].

Blisko spokrewniona z pszczołowatymi rodzina grzebaczowatych (*Sphaeciidae*) zawiera gatunki, które żywią się innymi owadami i pająkami, paraliżując je wcześniej swoim jadem. W Polsce występuje taszczyń pszczeli (*Philanthus triangulum*), który żywi się wyłącznie osobnikami pszczoły miodnej. Jego jad zawiera neurotoksyczne filantotoksyny (PTXs), które są poliaminowymi blokerami receptorów glutaminergicznych w układzie nerwowo-mięśniowym owadów. *Piek T.* wykrył obecność 4 filantotoksyn, które nazwał α -PTX, β -PTX, γ -PTX i δ -PTX - pierwsza z nich blokowała przewodnictwo nerwowe w ośrodkowym układzie nerwowym karalucha, a pozostałe blokowały przewodnictwo nerwowo-mięśniowe [89]. Dalsze badania wykazały, że tylko δ -PTX hamowała wychwyt glutaminianu w połączeniach

nerwowo-mięśniowych owadów, a β -PTX, γ -PTX były nieaktywne w tym zakresie [121], natomiast β -PTX miała zdolność do hamowania potencjałów indukowanych przez glutaminian we włóknach mięśniowych szarańczy [54,91]. Delta-PTX, zwana obecnie PTX-433 oraz jej liczne analogi są aktywne także w układzie nerwowym ssaków oddziałując na nikotynowe receptory cholinergiczne oraz jonotropowe receptory glutaminergiczne, dlatego stanowią żywy przedmiot zainteresowania neurofarmakologii [107,108].

Acetylocholina jest ważnym neuroprzebieżnikiem w układzie nerwowym owadów, natomiast relatywnie rzadko stanowi składnik ich jadu. Jej obecność stwierdzono w jadzie trzmiała *B. terrestris* (około 30 μ g w zbiorniczku jadowym) [95], szerszenia *Vespa cincta* [65] oraz taszczyń *P. triangulum* (około 400 ng w zbiorniczku jadowym) [92].

Jad pszczoły miodnej zawiera liczne substancje lotne o budowie złożonych eterów lub alkoholi (octan izopentylu, octan n-butylu, izopentanol, octan n-heksylu, octan n-oktylu, 2-nonanol, octan n-decyłu, octan benzylu, alkohol benzylowy, (2)-11-eikozen-1-ol). Związki te pełnią rolę feromonów wydzielanych przez zagrożone owady w celu poinformowania kolonii o zagrożeniu i wywołują u nich zachowania obronne [80].

Jad większości mrówek zawiera przewagę substancji białkowych i peptydowych, natomiast u mrówek ognistych (*Solenopsis spp.*) skład jadu został zdominowany przez obecność niskocząsteczkowych związków organicznych, w tym alkaloidów piperydynowych zwanych solenopsynami. Są to związki o podobnej budowie chemicznej, *cis*- i *trans*-2-metylo-6-alkilopiperidyny, różniące się od siebie względną konfiguracją podstawników przy atomach C2 i C6 w pierścieniu piperydynowym oraz długością i liczbą wiązań nienasyconych w łańcuchach bocznych. Najpowszechniejszymi alkaloidami są spośród form *trans*: solenopsyna A, B i C, a spośród form *cis*: izosolenopsyna A i B. Alkaloidy te pełnią rolę obronną przed innymi mrówkami, jako feromony oraz jako środki bakterio- i grzybobójcze rozpylane na składane jaja [14]. Wykazano działanie przeciwbakteryjne solenopsyn i izosolenopsyn przeciwko różnym patogenom bakteryjnym u ludzi (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*) [110]. Solenopsyna A i izosolenopsyna A w badaniu na szczurach wykazywały działanie depresyjne na układ sercowo-naczyniowy, zaś pierwsza z nich miała również działanie depresyjne na układ oddechowy oraz drgawkotwórcze [46]. Izosolenopsyna A jest silnym i selektywnym inhibitorem neuronalnej syntazy NO [131].

Jad bezżądłowych mrówek z podrodziny *Formycinae* składa się głównie (>99%) z wodnego roztworu kwasu mrówkowego o stężeniu sięgającym 60%. Jego ilość wynosi przeciętnie 0,6 mg na jednego osobnika, ale niektóre gruczoły jadowe mogą zawierać do 2 mg. Główną rolą kwasu mrówkowego jest działanie jako obrony allomon przed drapieżcami, ale u niektórych gatunków może on działać jako feromon alarmowy [7,32].

Piśmiennictwo

- Abe T., Hariya Y., Kawai N., Miwa A.: Comparative study of amino acid composition in an extract from hornet venom sacs: high content of neuroactive amino acids in *Vespa*. *Toxicon* 1989, 27, 683.
- Abe T., Kawai N., Niwa A.: Purification and properties of a presynaptically acting neurotoxin, mandaratoxin, from hornet (*Vespa mandarinia*). *Biochemistry* 1982, 21, 1693.
- Abe T., Sugita M., Fujikura T. et al.: Giant hornet (*Vespa mandarinia*) venomous phospholipases. The purification, characterization and inhibitory properties by bisocloaurine alkaloids. *Toxicon* 2000, 38, 1803.
- Argiolas A., Pisano J.J.: Bombolitiins, a new class of mast cell degranulating peptides from the venom of the bumblebee *Megabombus pennsylvanicus*. *J. Biol. Chem.* 1985, 260, 1437.
- Argiolas A., Pisano J.J.: Facilitation of phospholipase A2 activity by mastoparans, a new class of mast cell degranulating peptides from wasp venom. *J. Biol. Chem.* 1983, 258, 13697.
- Argiolas A., Pisano J.J.: Isolation and characterization of two new peptides, mastoparan C and crabrolin, from the venom of the European hornet, *Vespa crabro*. *J. Biol. Chem.* 1984, 259, 10106.
- Attygalle A.B., Morgan E.D.: Chemicals from the glands of ants. *Chem. Soc. Rev.* 1984, 13, 245.
- Banks B.E., Dempsey C.E., Vernon C.A. et al.: Anti-inflammatory activity of bee venom peptide 401 (mast cell degranulating peptide) and compound 48/80 results from mast cell degranulation in vivo. *Br. J. Pharmacol.* 1990, 99, 350.
- Barboni E., Kemeny D.M., Campos S., Vernon C.A.: The purification of acid phosphatase from honey bee venom (*Apis mellifica*). *Toxicon* 1987, 25, 1097.
- Barnette M.S., Daly R., Weiss B.: Inhibition of calmodulin activity by insect venom peptides. *Biochem. Pharmacol.* 1983, 32, 2929.
- Bernheimer A.W., Avigad L.S., Schmidt J.O., Ishay J.S.: Proteins in venoms of two wasps, *Polistes comanchus navajoe* and *Vespa orientalis*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1982, 71, 203.
- Bernheimer A.W., Rudy B.: Interactions between membranes and cytolitic peptides. *Biochim. Biophys. Acta* 1986, 864, 123.
- Bilo B.M., Rueff F., Mosbech H. et al.: The EAACI Interest Group on Insect Venom Hypersensitivity: Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005, 60, 1339.
- Braekman J.C., Daloz D., Pasteels J.M.: Alkaloids in Animals. [in:] Roberts M.F., Wink M. (eds): Alkaloids: Biochemistry, Ecology, and Medicinal Applications. Plenum Press, New York, NY, USA, 1998.
- Cavagnol R.M.: The pharmacological effects of hymenoptera venoms. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1977, 17, 479.
- Costa H.: Biochemical characterization of the venom of the social wasp *Agelais pallipes pallipes* (Hymenoptera - Vespidae). *J. Venom. Anim. Toxins [online]* 1997, 3, 50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-79301997000100008>.
- Costa H., Palma M.S.: Agelotoxin: a phospholipase A(2) from the venom of the neotropical social wasp *casununga* (*Agelais pallipes pallipes*) (Hymenoptera - Vespidae). *Toxicon* 2000, 38, 1367.
- Davies N.W., Wiese M.D., Brown S.G.: Characterisation of major peptides in "jack jumper" ant venom by mass spectrometry. *Toxicon* 2004, 43, 173.
- de Lima P.P., Brochetto-Braga M.R.: Hymenoptera venom review focusing on *Apis mellifera*. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* 2003, 9, 149.
- de Oliveira M.R., Palma M.S.: Polybitoxins, a group of phospholipases A2 from the venom of the neotropical social wasp *paulistinha* (*Polybia paulista*). *Toxicon* 1998, 36, 189.
- Dohtsu K., Okumura K., Hagiwara K. et al.: Isolation and sequence analysis of peptides from the venom of *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera - Vespidae). *Nat. Toxins* 1993, 1, 271.
- Drici M.D., Diocot S., Terrenoire C. et al.: The bee venom peptide tertiapin underlines the role of I(KACh) in acetylcholine-induced atrioventricular blocks. *Br. J. Pharmacol.* 2000, 131, 569.
- Fang K.S., Vitale M., Fehner P., King T.P.: cDNA cloning and primary structure of a white-face hornet venom allergen, antigen 5. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1988, 85, 895.
- Favreau P., Menin L., Michalet S. et al.: Mass spectrometry strategies for venom mapping and peptide sequencing from crude venoms: case applications with single arthropod specimen. *Toxicon* 2006, 47, 676.
- Gauldie J., Hanson J.M., Rumjanek F.D. et al.: The peptide components of bee venom. *Eur. J. Biochem.* 1976, 61, 369.
- Gauldie J., Hanson J.M., Shipolini R.A., Vernon C.A.: The structures of some peptides from bee venom. *Eur. J. Biochem.* 1978, 83, 405.
- Gmachl M., Kreil G.: Bee venom hyaluronidase is homologous to a membrane protein of mammalian sperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1993, 90, 3569.
- Griesbacher T., Althuber P., Zenz M. et al.: *Vespa vulgaris* venom, role of kinins and release of 5-hydroxytryptamine from skin mast cells. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 351, 95.
- Grunwald T., Bockisch B., Spillner E. et al.: Molecular cloning and expression in insect cells of honeybee venom allergen acid phosphatase (Api m 3). *J. Allergy Clin. Immunol.* 2006, 117, 848.
- Han H.J., Lee J.H., Park S.H. et al.: Effect of bee venom and its melittin on apical transporters of renal proximal tubule cells. *Kidney Blood Press. Res.* 2000, 23, 393.
- Han H.J., Yoon B.C., Oh Y.J. et al.: The water-soluble fraction (<10 kD) of bee venom (*Apis mellifera*) produces inhibitory effect on apical transporters in renal proximal tubule cells. *Kidney Blood Press. Res.* 2002, 25, 375.
- Hefetz A., Blum M.S.: Biosynthesis of formic acid by the poison glands of formicine ants. *Biochim. Biophys. Acta.* 1978, 543, 484.
- Henriksen A., King T.P., Mirza O. et al.: Major venom allergen of yellow jackets, *Ves v 5*: structural characterization of a pathogenesis-related protein superfamily. *Proteins* 2001, 45, 438.
- Hink W.F., Pappas P.W., Jaworski D.C.: Partial biochemical characterization of venom from the ant, *Pseudomyrmex triplarinus*. *Toxicon* 1994, 32, 763.
- Hirai Y., Kuwada M., Yasuhara T. et al.: A new mast cell degranulating peptide homologous to mastoparan in the venom of Japanese hornet (*Vespa xanthoptera*). *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1979, 27, 1945.
- Hirai Y., Yasuhara T., Yoshida H. et al.: A new mast cell degranulating peptide "mastoparan" in the venom of *Vespa lewisii*. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1979, 27, 1942.
- Ho C.L., Chen W.C., Lin Y.L.: Structures and biological activities of new wasp venom peptides isolated from the black-bellied hornet (*Vespa basalis*) venom. *Toxicon* 1998, 36, 609.
- Ho C.L., Hwang L.L.: Structure and biological activities of a new mastoparan isolated from the venom of the hornet *Vespa basalis*. *Biochem. J.* 1991, 274 Pt 2, 453.
- Ho C.L., Ko J.L.: Hornetin, the lethal protein of the hornet (*Vespa flavitarsus*) venom. *FEBS Lett.* 1986, 209, 18.
- Ho C.L., Ko J.L.: Purification and characterization of a lethal protein with phospholipase A1 activity from the hornet (*Vespa basalis*) venom. *Biochim. Biophys. Acta* 1988, 963, 414.
- Ho C.L., Lin Y.L., Li S.F.: Three toxins with phospholipase activity isolated from the yellow-legged hornet (*Vespa verutina*) venom. *Toxicon* 1999, 37, 1015.
- Hoffman D.R.: Allergens in bee venom. III. Identification of allergen B of bee venom as an acid phosphatase. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1977, 59, 364.
- Hoffman D.R., El-Choufani S.E., Smith M.M., de Groot H.: Occupational allergy to bumblebees, allergens of *Bombus terrestris*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001, 108, 855.
- Hoffman D.R., Jacobson R.S.: Allergens in Hymenoptera venom. XXVII: bumblebee venom allergy and allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 97, 812.
- Hoffman D.R., Sakell R.H., Schmidt M.: Sol i 1, the phospholipase allergen of imported fire ant venom. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2005, 115, 611.
- Howell G., Butler J., Deshazo R.D. et al.: Cardiodepressant and neurologic actions of *Solenopsis invicta* (imported fire ant) venom alkaloids. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2005, 94, 380.
- Hugues M., Duval D., Kitabgi P. et al.: Preparation of a pure monoiodo derivative of the bee venom neurotoxin apamin and its binding properties to rat brain synaptosomes. *J. Biol. Chem.* 1982, 257, 2762.
- Iakubov I.T., Tuichibaev M.U., Rakhimov M.M.: [Purification and properties of lysophospholipase from the venom of the giant hornet *Vespa orientalis*]. *Biokhimiia* 1988, 53, 1093.
- King T.P., Jim S.Y., Wittkowski K.M.: Inflammatory role of two venom components of yellow jackets (*Vespa vulgaris*): a mast cell degranulating peptide mastoparan and phospholipase A1. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003, 131, 25.
- King T.P., Kochoumian L., Joslyn A.: Wasp venom proteins: phospholipase A1 and B. *Arch. Biochem. Biophys.* 1984, 230, 1.
- King T.P., Lu G., Gonzalez M. et al.: Yellow jacket venom allergens: hyaluronidase and phospholipase, sequence similarity and antigenic cross-reactivity with their hornet and wasp homologs and possible implications for clinical allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996, 98, 588.
- King T.P., Spangfort M.D.: Structure and biology of stinging insect venom allergens. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2000, 123, 99.
- Kitamura H., Yokoyama M., Akita H. et al.: Tertiapin potently and selectively blocks muscarinic K(+) channels in rabbit cardiac myocytes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000, 293, 196.
- Kits K.S., Piek T.: Action of the polyamine beta-philanthotoxin on neuromuscular transmission in insects. *Neuropharmacology* 1986, 25, 1089.
- Koburova K.L., Michailova S.G., Shkenderov S.V.: Further investigation on the antiinflammatory properties of adolapin - bee venom polypeptide. *Acta Physiol. Pharmacol. Bulg.* 1985, 11, 50.
- Konno K., Hisada M., Fontana R. et al.: Anoplin, a novel antimicrobial peptide from the venom of the solitary wasp *Anoplius samariensis*. *Biochim. Biophys. Acta* 2001, 1550, 70.
- Konno K., Hisada M., Itagaki Y. et al.: Isolation and structure of pompidotoxins, novel peptide neurotoxins in solitary wasp venoms. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998, 250, 612.
- Konno K., Hisada M., Naoki H. et al.: Structure and biological activities of eumenine mastoparan-AF (EMP-AF): a new mast cell degranulating peptide in the venom of the solitary wasp (*Anterhynchium flavomarginatum micado*). *Toxicon* 2000, 38, 1505.
- Konno K., Palma M.S., Hitara I.Y. et al.: Identification of bradykinins in solitary wasp venoms. *Toxicon* 2002, 40, 309.
- Korneev A.S., Salikhov Sh.I., Tuichibaev M.U.: [Amino acid sequence of orientotoxins I and II from the venom of the hornet *Vespa orientalis*]. *Biorg. Khim.* 1989, 15, 127.
- Kreil G.: Hyaluronidases - a group of neglected enzymes. *Protein Sci.* 1995, 4, 1666.
- Krishnakumari V., Nagaraj R.: Antimicrobial and hemolytic activities of crabrolin: a 13-residue peptide from the venom of the European hornet, *Vespa crabro*, and its analogs. *J. Pept. Res.* 1997, 50, 88.
- Kuhn-Nentwig L.: Antimicrobial and cytolitic peptides of venomous arthropods. *Cell. Mol. Life Sci.* 2003, 60, 2651.
- Labbe-Julie C., Granier C., Albericio F. et al.: Binding and toxicity of apamin. Characterization of the active site. *Eur. J. Biochem.* 1991, 196, 639.
- Lahiri S.C., Sarangi B.: Acetylcholine, 5-HT and histamine in the venom of the wasp *Vespa cincta* Fabr. *Indian. J. Med. Res.* 1979, 69, 505.
- Lankisch P.G., Vogt W.: Direct haemolytic activity of phospholipase A. *Biochim. Biophys. Acta* 1972, 270, 241.
- Lee S.Y., Park N.G., Choi M.U.: Effects of mastoparan B and its analogs on the phospholipase D activity in L1210 cells. *FEBS Lett.* 1998, 432, 50.
- Lowy P.H., Sarmiento L., Mitchell H.K.: Polypeptides minimine and melittin from bee venom, effects on *Drosophila*. *Arch. Biochem. Biophys.* 1971, 145, 338.
- Matuszek M.A., Hodgson W.C., King R.G., Sutherland S.K.: Some enzymic activities of two Australian ant venoms: a jumper ant *Myrmecia pilosula* and a bulldog ant *Myrmecia pyriformis*. *Toxicon* 1994, 32, 1543.
- Matuszek M.A., Hodgson W.C., Sutherland S.K., King R.G.: Pharmacological studies of jumper ant (*Myrmecia pilosula*) venom: evidence for the presence of histamine, and haemolytic and eicosanoid-

- releasing factors. *Toxicon* 1992, 30, 1081.
71. **Matuszek M.A., Hodgson W.C., Sutherland S.K., King R.G.:** Pharmacological studies of the venom of an Australian bulldog ant (*Myrmecia pyriformis*). *Nat. Toxins* 1994, 2, 36.
 72. **Mendes M.A., Palma M.S.:** Two new bradykinin-related peptides from the venom of the social wasp *Protopolybia exigua* (Saussure). *Peptides* 2006, 27, 2632.
 73. **Miroshnikov A.I., Boikov V.A., Snezhkova L.G. et al.:** [Interaction of tertiapin, a neurotoxin from bee venom, with calmodulin]. *Bioorg. Khim.* 1983, 9, 26.
 74. **Moawad T.I., Hoffman D.R., Zalat S.:** Isolation, cloning and characterization of *Polistes dominulus* venom phospholipase A1 and its isoforms. *Acta. Biol. Hung.* 2005, 56, 261.
 75. **Murata K., Shinada T., Ohfune Y. et al.:** Novel biologically active peptides from the venom of *Polistes rothneyi iwatai*. *Biol. Pharm. Bull.* 2006, 29, 2493.
 76. **Nabil Z.I., Hussein A.A., Zalat S.M., Rakha M.Kh.:** Mechanism of action of honey bee (*Apis mellifera* L.) venom on different types of muscles. *Hum. Exp. Toxicol.* 1998, 17, 185.
 77. **Nakajima T., Yasuhara T., Uzu S. et al.:** Wasp venom peptides; wasp kinins, new cytotrophic peptide families and their physico-chemical properties. *Peptides* 1985, 6 Suppl. 3, 425.
 78. **Okamoto T., Isoda H., Kubota N. et al.:** Melittin cardiotoxicity in cultured mouse cardiac myocytes and its correlation with calcium overload. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1995, 133, 150.
 79. **Orivel J., Redeker V., Le Caer J.P. et al.:** Ponerinins, new antibacterial and insecticidal peptides from the venom of the ant *Pachycondyla goeldii*. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 17823.
 80. **Oršolić N.:** Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2012, 31, 173.
 81. **Owen M.D., Bridges A.R.:** Catecholamines in honey bee (*Apis mellifera* L.) and various vespid (Hymenoptera) venoms. *Toxicon* 1982, 20, 1075.
 82. **Owen M.D., Pfaff L.A., Reisman R.E., Wypych J.:** Phospholipase A2 in venom extracts from honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Toxicon* 1990, 28, 813.
 83. **Owen M.D., Sloley B.D.:** 5-Hydroxytryptamine in the venom of the honey bee (*Apis mellifera* L.): variation with season and with insect age. *Toxicon* 1988, 26, 577.
 84. **Palma M.S.:** Insect Venom Peptides. [in:] Abba Kastin (ed.): *Handbook of Biologically Active Peptides*. Elsevier/Academic Press, San Diego, CA, USA, 2006.
 85. **Pantera B., Hoffman D.R., Carresi L. et al.:** Characterization of the major allergens purified from the venom of the paper wasp *Polistes gallicus*. *Biochim. Biophys. Acta* 2003, 1623, 72.
 86. **Park N.G., Yamato Y., Lee S., Sugihara G.:** Interaction of mastoparan-B from venom of a hornet in Taiwan with phospholipid bilayers and its antimicrobial activity. *Biopolymers* 1995, 36, 793.
 87. **Peck M.L., O'Connor R.:** Procaine and other basic peptides in the venom of the honeybee (*Apis mellifera*). *J. Agric. Food Chem.* 1974, 22, 51.
 88. **Peggion E., Mammi S., Schievano E.:** Conformation and interactions of bioactive peptides from insect venoms, the bombolittins. *Biopolymers* 1997, 43, 419.
 89. **Piek T.:** delta-Philanthotoxin, a semi-irreversible blocker of ion-channels. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1982, 72, 311.
 90. **Piek T.:** Neurotoxic kinins from wasp and ant venoms. *Toxicon* 1991, 29, 139.
 91. **Piek T.:** Neurotoxins from venoms of the Hymenoptera - twenty-five years of research in Amsterdam. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1990, 96, 223.
 92. **Piek T., Buitenhuis A., Veldsema-Currie R.D., Mantel P.:** Smooth muscle contracting compounds in venoms of sphecid wasps (Hym: Sphecidae). *Comp. Biochem. Physiol. C* 1983, 75, 153.
 93. **Piek T., Duval A., Hue B. et al.:** Poneratoxin, a novel peptide neurotoxin from the venom of the ant, *Paraponera clavata*. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1991, 99, 487.
 94. **Piek T., Schmidt J.O., de Jong J.M., Mantel P.:** Kinins in ant venoms - a comparison with venoms of related Hymenoptera. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1989, 92, 117.
 95. **Piek T., Veldsema-Currie R.D., Spanjer W., Mantel P.:** Acetylcholine and an unidentified, muscle-contracting factor in the venom of the bumblebee, *Bombus terrestris* L. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1983, 75, 351.
 96. **Pluzhnikov K., Nosyreva E., Shevchenko L. et al.:** Analysis of ectatomin action on cell membranes. *Eur. J. Biochem.* 1999, 262, 501.
 97. **Schmidt J.O.:** Biochemistry of insect venoms. *Annu. Rev. Entomol.* 1982, 27, 339.
 98. **Schmidt J.O.:** Toxicology of venoms from the honeybee genus *Apis*. *Toxicon* 1995, 33, 917.
 99. **Schmidt J.O., Blum M.S.:** A harvester ant venom: chemistry and pharmacology. *Science* 1978, 200, 1064.
 100. **Schmidt J.O., Blum M.S., Overal W.L.:** Comparative enzymology of venoms from stinging Hymenoptera. *Toxicon* 1986, 24, 907.
 101. **Schumacher M.J., Schmidt J.O., Egen N.B., Dillon K.A.:** Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992, 90, 59.
 102. **Shipolini R.A., Callewaert G.L., Cottrell R.C., Vernon C.A.:** The amino-acid sequence and carbohydrate content of phospholipase A2 from bee venom. *Eur. J. Biochem.* 1974, 48, 465.
 103. **Shipolini R.A., Doonan S., Vernon C.A.:** The disulphide bridges of phospholipase A2 from bee venom. *Eur. J. Biochem.* 1974, 48, 477.
 104. **Shkenderov S.:** A protease inhibitor in bee venom. Identification, partial purification and some properties. *FEBS Lett.* 1973, 33, 343.
 105. **Shkenderov S., Koburova K.:** Adolapin - a newly isolated analgetic and anti-inflammatory polypeptide from bee venom. *Toxicon* 1982, 20, 317.
 106. **Souza B.M., Mendes M.A., Santos L.D. et al.:** Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polobia paulista*. *Peptides* 2005, 26, 2157.
 107. **Stromgaard K., Andersen K., Krogsgaard-Larsen P., Jaroszewski J.W.:** Recent advances in the medicinal chemistry of polyamine toxins. *Mini Rev. Med. Chem.* 2001, 1, 317.
 108. **Stromgaard K., Jensen L.S., Vogensen S.B.:** Polyamine toxins, development of selective ligands for ionotropic receptors. *Toxicon* 2005, 45, 249.
 109. **Suchanek G., Kreil G., Hermodson M.A.:** Amino acid sequence of honeybee prepromelittin synthesized in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 1978, 75, 701.
 110. **Sullivan D.C., Flowers H., Rockhold R. et al.:** Antibacterial activity of synthetic fire ant venom: the solenopsins and isosolenopsins. *Am. J. Med. Sci.* 2009, 338, 287.
 111. **Sumikura H., Andersen O.K., Drewes A.M., Arendt-Nielsen L.:** A comparison of hyperalgesia and neurogenic inflammation induced by melittin and capsaicin in humans. *Neurosci. Lett.* 2003, 337, 147.
 112. **Szolańska E., Poznański J., Ferber M.L. et al.:** Poneratoxin, a neurotoxin from ant venom. Structure and expression in insect cells and construction of a bio-insecticide. *Eur. J. Biochem.* 2004, 271, 2127.
 113. **Takasaki C., Fukumoto M.:** Phospholipases B from Japanese yellow hornet (*Vespa xanthoptera*) venom. *Toxicon* 1989, 27, 449.
 114. **Terra R.M., Guimaraes J.A., Verli H.:** Structural and functional behavior of biologically active monomeric melittin. *J. Mol. Graph. Model.* 2007, 25, 767.
 115. **Tosteson M.T., Holmes S.J., Razin M., Tosteson D.C.:** Melittin lysis of red cells. *J. Membr. Biol.* 1985, 87, 35.
 116. **Tosteson M.T., Tosteson D.C.:** The sting. Melittin forms channels in lipid bilayers. *Biophys. J.* 1981, 36, 109.
 117. **Tuichibaev M.U., Akhmedova N.U., Kazakov I. et al.:** [Low molecular weight peptides from the venom of the giant hornet *Vespa orientalis*. Structure and function]. *Biokhimiia* 1988, 53, 219.
 118. **Tuichibaev M.U., Tashmukhamedov B.A., Gotgil'f I.G., Mazannik L.G.:** [Orientotoxin - a new presynaptic neurotoxin from the venom of the giant hornet *Vespa orientalis*]. *Bioorg. Khim.* 1984, 10, 318.
 119. **Turillazzi S.:** *Polistes* venom, a multifunctional secretion. *Ann. Zool. Fennici* 2006, 43, 488.
 120. **Turillazzi S., Mastrobuoni G., Dani F.R. et al.:** Dominulin A and B: two new antibacterial peptides identified on the cuticle and in the venom of the social paper wasp *Polistes dominulus* using MALDI-TOF, MALDI-TOF/TOF, and ESI-ion trap. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2006, 17, 376.
 121. **van Marle J., Piek T., Lind A., van Weeren-Kramer J.:** Inhibition of the glutamate uptake in the excitatory neuromuscular synapse of the locust by delta-philanthotoxin, a component of the venom of the solitary wasp *Philanthus triangulum* F. A high resolution autoradiographic study. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1984, 79, 213.
 122. **Varanda E.A., Tavares D.C.:** Radioprotection, mechanisms and radioprotective agents including honeybee venom. *J. Venom. Anim. Toxins* 1998, 4, 5.
 123. **Vetter R.S., Visscher P.K., Camazine S.:** Mass envenomations by honey bees and wasps. *West. J. Med.* 1999, 170, 223.
 124. **Vick J.A., Shipman W.H., Brooks R. Jr.:** Beta adrenergic and anti-arrhythmic effects of cardioprep, a newly isolated substance from whole bee venom. *Toxicon* 1974, 12, 139.
 125. **Vogel H., Jahnig F.:** The structure of melittin in membranes. *Biophys. J.* 1986, 50, 573.
 126. **Watala C., Kowalczyk J.K.:** Hemolytic potency and phospholipase activity of some bee and wasp venoms. *Comp. Biochem. Physiol. C* 1990, 97, 187.
 127. **Wiese M.D., Chataway T.K., Davies N.W. et al.:** Proteomic analysis of *Myrmecia pilosula* (jack jumper) ant venom. *Toxicon* 2006, 47, 208.
 128. **Winningham K.M., Fitch C.D., Schmidt M., Hoffman D.R.:** Hymenoptera venom protease allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004, 114, 928.
 129. **Wu Q.X., King M.A., Donovan G.R. et al.:** Cytotoxicity of pilosulin 1, a peptide from the venom of the jumper ant *Myrmecia pilosula*. *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1425, 74.
 130. **Xu X., Yang H., Yu H. et al.:** The mastoparanogen from wasp. *Peptides* 2006, 27, 3053.
 131. **Yi G.B., McClendon D., Desai D. et al.:** Fire ant venom alkaloid, isosolenopsin A, a potent and selective inhibitor of neuronal nitric oxide synthase. *Int. J. Toxicol.* 2003, 22, 81.
 132. **Yoshida H., Geller R.G., Pisano J.J.:** Vespulakinins: new carbohydrate-containing bradykinin derivatives. *Biochemistry* 1976, 15, 61.
 133. **Zhou Z., Yang H., Xu X. et al.:** The first report of kininogen from invertebrates. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2006, 347, 1099.
 134. **Ziai M.R., Russek S., Wang H.C. et al.:** Mast cell degranulating peptide: a multi-functional neurotoxin. *J. Pharm. Pharmacol.* 1990, 42, 457.