

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Chemie

Studijní obor:

Chemie se zaměřením na vzdělávání - Biologie se zaměřením na vzdělávání



Jakub Spurný

Vliv jednotlivých složek včelího jedu na lidský organismus

The effect of individual components of bee venom on the human body

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Daniela Horníková, Ph.D.

Externí konzultant: prof. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 2.5.2021

Podpis:

Poděkování:

Mé velké poděkování patří RNDr. Daniele Horníkové, Ph.D. a prof. RNDr. Daliboru Kodříkovi, CSc za odborné vedení, vstřícnost při konzultacích, trpělivost a věcné rady při vypracování této bakalářské práce. V neposlední řadě děkuji také své rodině a blízkým, jež mi byli po celou dobu mého studia oporou.

Abstrakt

Včela medonosná (*Apis mellifera*) využívá ke své obraně žihadlový aparát. Ten je složen z žihadlové části a části související s produkcí jedu. Včelí jed je secernován speciálními jedovými žlázami. Chemické složení jedu je směsí aminokyselin, peptidů a enzymů s různými (pato)fyziologickými efekty. Některé složky včelího jedu např. způsobují rozpad červených krvinek, inhibují vzrušivost tkání, zvyšují srdeční frekvenci a střední arteriální tlak nebo vyvolávají alergickou reakci. Na druhé straně však složky včelího jedu vykazují i zásadní pozitivní účinky na lidský organismus. Tyto účinky byly popsány u některých onemocnění nervové soustavy (Parkinsonova a Alzheimerova choroba), kardiovaskulárního systému (ateroskleróza), integumentu (*Acne vulgaris*) a při léčbě onkologických onemocnění. Z tohoto důvodu je studium složek včelího jedu a jejich potenciální využití v terapii nejruznějších patologických stavů a onemocnění významné.

Klíčová slova: žihadlový aparát; včelí jed; orgánová soustava; terapie

Abstract

The honeybee (*Apis mellifera*) uses the sting apparatus to defend itself. It consists of a sting's part and a part related to the production of poison. Bee venom is secreted by special venom glands of bees. The chemical composition of the poison is a mixture of amino acids, peptides and enzymes with the various (patho)physiological effects. Some components of bee venom, for example, cause the breakdown of red blood cells, inhibit tissue excitement, increase heart rate and mean arterial pressure or cause an allergic reaction. On the other hand, the same components of bee venom also show significant positive effects on the human body. These effects have been reported in some diseases of the nervous system (Parkinson's and Alzheimer's disease), the cardiovascular system (atherosclerosis), integument (*Acne vulgaris*) and in the treatment of oncological diseases. For this reason, the study of bee venom components and their potential use in the therapy of various pathological conditions and diseases is important.

Key words: sting apparatus; bee venom; organ system; therapy

Seznam použitých zkratek

AD	Alzheimerova choroba
AC	adenylátcykláza
ACh	acetylcholin
AKI	akutní poškození ledvin (<i>z angl. Acute Kidney Injury</i>)
ALS	amyotrofni laterální skleróza
AMK	aminokyselina
AP	akční potenciál
ATP	adenosintrifosfát
A β	amyloid- β peptid
bvPLA2	včelí fosfolipáza A2
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CNS	centrální nervová soustava
DA	dopaminergní neuron
DR	receptor smrti (<i>z angl. Death Receptor</i>)
IgE, G4	imunoglobulin E, G4
I _{KACH, K, Ca}	K ⁺ kanály
IL-10, 1 β	interleukin 10, 1 β
INF- γ	interferon γ
MEL	melittin
mtSOD1	mutantní proteinový agregát superoxid dismutázy
NF- κ B	jaderný faktor kappa B
PD	Parkinsonova choroba
PKA	proteinkináza A
RAAS	renin-angiotensin-aldosteronový systém
SK kanál	Ca ²⁺ -aktivovaný K ⁺ kanál (<i>z angl. Small Conductance channels</i>)
STAT	přenašeč signálu a aktivátor transkripčních faktorů (<i>z angl. Signal Transducer and Activator of Transcription</i>)
TGF- β 1	transformující růstový faktor β 1 (<i>z angl. Transforming Growth Factor β1</i>)
T _H 1, 2	pomocný lymfocyt 1, 2
TNF- α	tumor nekrotizující faktor α
Treg	regulační T _H lymfocyt
β -AR	β -Adrenergní receptor

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Struktura žihadlového aparátu	7
3. Složení včelího jedu.....	8
3.1. Struktura jednotlivých složek včelího jedu	9
3.1.1. Melittin	9
3.1.2. Apamin	10
3.1.3. Fosfolipáza A2	10
3.1.4. Degranulační peptid žírných buněk.....	11
3.1.5. Tertiapin	11
3.1.6. Cardiopep	11
4. Vliv účinků jednotlivých složek včelího jedu na orgánové systémy	12
4.1. Vliv na biologické membrány	12
4.2. Vliv na kardiovaskulární systém	13
4.3. Vliv na centrální nervovou soustavu	15
4.4. Vliv na imunitní systém.....	16
4.5. Vliv na ledvinový systém	16
5. Terapeutické využití včelího jedu	18
5.1. Specifická alergenová imunoterapie.....	18
5.2. Neurodegenerativní choroby	19
5.3. Kožní onemocnění	21
5.4. Ateroskleróza.....	21
5.5. Jaterní fibróza	22
5.6. Nádorové onemocnění	23
6. Závěr	25
7. Seznam citované literatury.....	26
8. Příloha	36

1. Úvod

Včela medonosná (*Apis mellifera*) se v současné době vyskytuje téměř na celém světě. V Evropě dle statistik ročně zemře po bodnutí včelou 200 lidí, z toho 44 v České republice. Data z Centra pro kontrolu a prevenci nemocí ukazují úmrtí u 1 109 lidí během posledních 17 let v USA. Ministerstvo zdravotnictví ČR uvádí, že 4,5 % populace trpí lokální alergickou reakcí a 3,5 % celkovou alergickou reakcí vyvolanou včelím bodnutím.

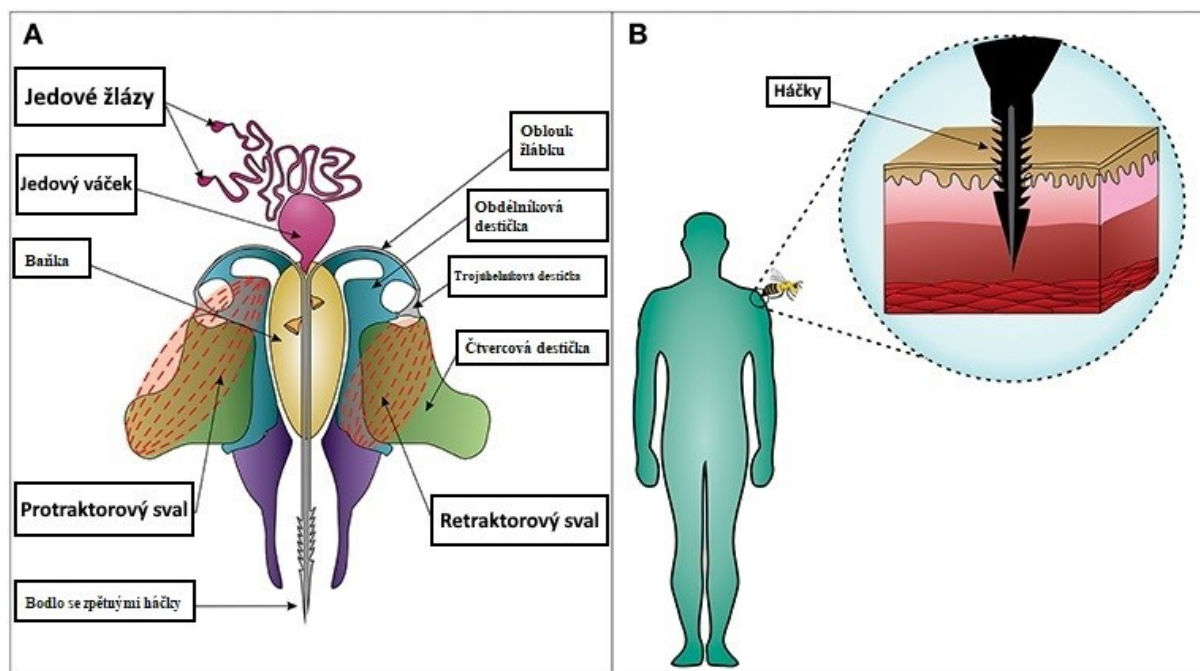
Prostřednictvím žihadla včela dokáže do oběti vpravovat včelí jed, což je její obranný mechanismus, kterým se snaží zneškodnit nepřítele. Bohužel bezprostředně po bodnutí dochází k vytržení celého žihadlového aparátu z břišní dutiny včely a její následné smrti. Hlavními komponenty včelího jedu z řad peptidů jsou melittin, apamin, tertiapin, cardiopep a degranulační peptid žírných buněk. Včelí jed také obsahuje enzymy, jako je fosfolipáza A2 a hyaluronidáza, aminokyseliny a těkavé sloučeniny. Většina zmíněných látek je zásadní, ať už pozitivně či negativně, v procesu odpovědi lidského těla na včelí bodnutí. Z tohoto důvodu jsou jejich struktury a vlastnosti dále popsány v jednotlivých kapitolách této práce, které se zaměřují na vliv jednotlivých součástí jedu na kardiovaskulární a imunitní systém a také na centrální nervovou soustavu.

Negativním účinkem složek včelího jedu je vyvolání alergické reakce po bodnutí. Několik studií, z nichž některé jsou starší již více než 5 000 let, však prokázalo také terapeutický potenciál těchto složek, ať už ve využití v alternativní medicíně či při léčbě lidských zánětlivých onemocnění nebo onemocnění centrálního nervového systému, jako je Parkinsonova choroba, Alzheimerova choroba a amyotrofická laterální skleróza. Přibývají důkazy o tom, že včelí jed se podílí na protizánětlivých mechanismech, potlačení apoptotických procesů v buňce, fibrotických procesů ve tkáních a na zamezení exprese zánětlivých cytokinů při ateroskleróze. Dále byl prokázán i příznivý potenciál při řešení nádorových onemocnění, která jsou v současnosti největším celosvětovým problémem.

Cílem této bakalářské práce je shrnout poznatky o vybraných složkách včelího jedu, zejména melittinu, apaminu, fosfolipázy A2 a degranulačním peptidu žírných buněk, tertiapinu a cardiopepu. Popsat strukturu, vlastnosti a význam těchto látek a také jejich pozitivní a negativní působení na lidský organismus. Poslední část práce je věnována využití složek jedu v prevenci a při léčbě nejrůznějších onemocnění.

2. Struktura žihadlového aparátu

Včela medonosná (*Apis mellifera*) patří do čeledi *Apidae* (včelovití) rodu *Apis*, jejíž nezbytnou součástí je žihadlo. Žihadlový aparát se skládá ze tří odlišných částí; motorická část, žihadlová část a část související se syntézou jedu (Zhao et al., 2015). Žihadlová část obsahuje bodla, jež jsou pokryta zpětnými háčky, které zabraňují vytažení žihadla z oběti (obr. č. 1B). Část související s jedem se skládá z jedového váčku, dvou jedových žláz a baňky. Motorická část, jež manipuluje s žihadlem, je složena ze svalů a jednotlivých desek – obdélníkové, trojúhelníkové, čtvercové (obr. č. 1A) (Pucca et al., 2019). Na žihadlový aparát je napojen jedový váček, do něhož ústí jedová žláza. Tato žláza produkuje obranný sekret, který je znám pod názvem včelí jed. Včelí jed je produkován včelími královnami a dělnicemi a je známo, že obsahuje mnoho aktivních složek a těkavých sloučenin (Wehbe et al., 2019).



Obr. č.1: Struktura žihadlového aparátu. Převzato a upraveno Pucca et al., 2019.

3. Složení včelího jedu

Včelí jed, znám pod názvem Apisin, někdy také jako Apitoxin, je bezbarvá kapalina bez zápachu, s kyselým pH (4,5 až 5,5), kterou včely používají jako obranný nebo útočný prostředek (Wehbe et al., 2019). Včelí jed obsahuje široké spektrum aminokyselin (AMK), peptidů a enzymů (Oršolić, 2012). Všechny tyto složky včelího jedu, jejichž zastoupení je uvedeno v tabulce (viz Tab. č.1), mají rozmanité fyziologické účinky, jimiž mohou být vznik membránových pórů (Pandidan & Mechler, 2019), stimulace buněk hladké svaloviny (Jeong et al., 2012), degranulace mastocytů (Jasani et al., 1979; Ziai et al., 1990), alosterická inhibice K⁺ kanálů (Jin & Lu, 1998; Okada et al., 2020; Patel et al., 2020; Pease & Wemmer, 1988; Rehm & Lazdunski, 1988) či imunostimulační a imunosupresivní efekt (Moolenaar, 1999).

Třída molekul	Složka	Zastoupení v sušině (%)	Koncentrace (nM) v bodnutí
Malé bílkoviny a peptidy	Melittin	40–50	10–12
	Apamin	2–3	0,75
	Degranulační peptid žírných buněk	2–3	0,6
	Adolapin	0,5–1	0,06
	Inhibitor proteáz	0,1–0,8	0,07
	Tertiapin	0,1	0,03
	Kardiopep	<0,7	
	Minimin	2–3	
Bílkoviny (enzymy)	Fosfolipáza A2	10–12	0,23
	Hyaluronidáza	1,5–2	0,03
	Alkalická fosfatáza	1	
	α-Glucosidáza	0,6	
	Lysofosfolipáza	1	0,03
Fyziologicky aktivní aminy	Histamin; Dopamin; Noradrenalin	0,5–2; 0,13–1; 0,1–0,7	5–10; 2,7–5,5; 0,9–4,5
	Aminokyseliny	Kyselina γ-aminomáselná	1
		α-aminokyseliny	0,5
Cukry	Glukóza, Fruktóza	2–4	
Minerály	P, Ca, Mg	3–4	
Těkavé látky	Isoamylacetát	4–8	

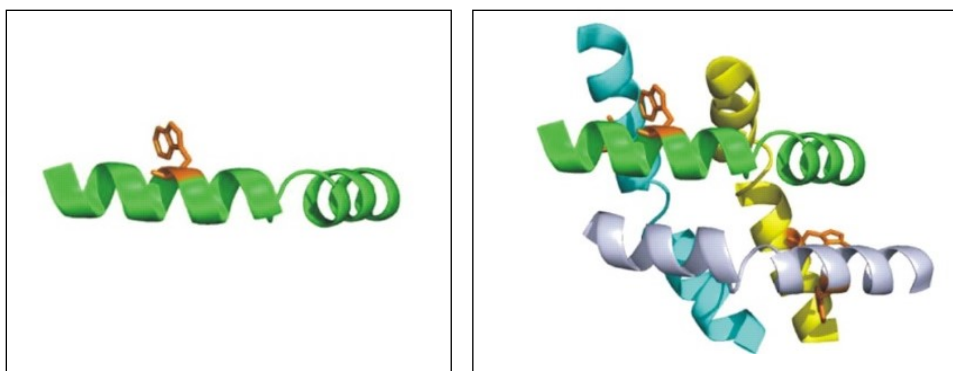
Tab. č.1 Hlavní složky včelího jedu. Převzato z Oršolić, 2012.

3.1. Struktura jednotlivých složek včelího jedu

Apisin obsahuje mnoho aktivních látek, které v těle oběti vyvolávají celou škálu fyziologických či biochemických účinků. Tyto účinky na sebe navazují, a zvyšují tak celkové působení jedu. V následujících podkapitolách jsou uvedeny vybrané z nich a popsána jejich struktura a vlastnosti.

3.1.1. Melittin

Melittin (MEL) je nejvíce obsaženou složkou ve včelím jedu, tvoří téměř 52 % sušiny. Syntéza MEL vychází z prekursoru promelittinu, kdy během vícestupňovitého procesu vznikne polypeptid, skládající se z 26 AMK s hydrofobním N-koncem a hydrofilním C-koncem (Habermann, 1972). Ve vodném roztoku může existovat ve dvou formách – α -helikální monomer (viz. Obr. 2 vlevo), který se může náhodně skládat do tetrameru (viz. Obr. 2 vpravo) (random-coil)¹ (Brown et al., 1980; Lauterwein et al., 1980). MEL má různé biologické, farmakologické a toxikologické vlastnosti. Hlavní vlastností MEL je vytváření pórů (praskliny, toroidní póry) v biologických membránách či ovlivňování srdeční činnosti.



Obr. č. 2: Struktura melittinu v konfiguraci α -helikálního monomeru (vlevo). Struktura melittinu v nativním tetrameru (vpravo), každý řetězec je zvýrazněn jinou barvou. Zbytky tryptofanu jsou zvýrazněny oranžově. Převzato Othon et al., 2009.

¹ Náhodná cívka je polymerní konformace, kde jsou podjednotky monomeru orientovány náhodně, zatímco jsou stále vázány k sousedním jednotkám.

3.1.2. Apamin

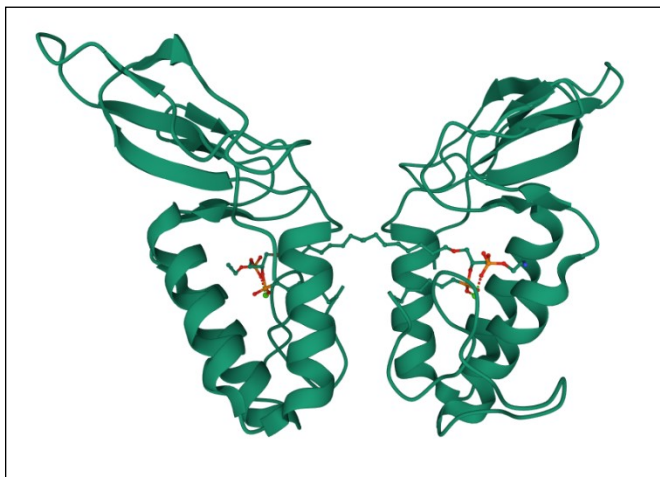
Apamin je neurotoxický polypeptid, který se skládá z 18 AMK se 2 disulfidickými můstky. Na rozdíl od jiných proteinů nese karboxylový amid namísto karboxylové kyseliny na C-konci. Jedná se o peptidový neurotoxin, který dokáže procházet hematoencefalickou bariérou, kde dále působí jako alosterický inhibitor na Ca^{2+} -aktivované K^+ kanály (SK kanály, z *angl.* *Small Conductance channels*) (Lamy et al., 2010; Pease & Wemmer, 1988).

3.1.3. Fosfolipáza A2

Fosfolipázy jsou velkou skupinou enzymů a rozdělují se do 4 skupin. Tyto skupiny se rozlišují typem reakcí, které katalyzují, místem lokalizace či podle toho, z jakých živočišných zdrojů pocházejí.

Včelí fosfolipáza A2 (bvPLA2) (viz. Obr. 3) patří do třídy sekretovaných PLA2. Vyznačuje se hydrolytickou funkcí a nízkou molekulovou hmotností (13-15 kDa) a je složena z 128 AMK a čtyř disulfidických můstků. Tento enzym má v místě katalyzátoru histidin, k jejichž aktivaci jsou zapotřebí Ca^{2+} ionty (Scott et al., 1990; Yu & Dennis, 1991).

Díky své hydrolytické funkci bvPLA2 specificky štěpí molekulu glycerolfosfolipidu mezi acylovou skupinou a druhým uhlíkem glycerolu, přičemž vzniká mastná kyselina a lipofilní látky (lysofosfolipidy) (Welker et al., 2011). Všechny tyto enzymy katalyzují hydrolyzu prostřednictvím protonu z molekuly vody a následným nukleofilním atakem na SN_2 vazbu. Molekula vody je aktivována párem histidin/kyselina asparagová způsobem závislým na Ca^{2+} iontech (Scott et al., 1990; Yu & Dennis, 1991).



Obr. č. 3: 3D struktura fosfolipázy A2 obsažené ve včelím jedu. Zelená barva označuje sekvenci AMK enzymu, oranžová a červená znázorňují katalytické místo s histidinem a světle zelené body představují Ca^{2+} ionty. Převzato RCSB PDB databanka: <https://www.rcsb.org/3d-view/IPOC/1> (vid. 02.05.2021)

3.1.4. Degranulační peptid žírných buněk

Degranulační peptid žírných buněk je tvořen 22 AMK, z nichž 10 AMK je jich bazických a vyznačuje se α -helikální strukturou (Kumar et al., 1988), což hraje roli při stimulaci secernace histaminu ze žírných buněk (Ziai et al., 1990). Jedním z možných mechanismů uvolňování tohoto mediátoru může být schopnost napodobit konkrétní sekvenci AMK v oblasti konstantní domény těžkého řetězce imunoglobulinu E (IgE), a zajistit tak přímou reakci způsobující degranulaci mastocytů (Jasani et al., 1979). Peptidová sekvence degranulačního peptidu vykazuje podobnost s apaminem (Gmachl & Kreil, 1995). Nejen že oba peptidy obsahují 2 disulfidické můstky (Buku & Price, 2001), ale také se společně s apaminem řadí k neurotoxickým složkám jedu, kdy degranulační peptid blokuje A-typ napěťově řízených K^+ kanálů (Rehm & Lazdunski, 1988).

3.1.5. Tertiapin

Tento peptid je zastoupen ve včelím jedu pouze ve velmi malém množství. Obsahuje 21 AMK a svou strukturou se podobá apaminu či degranulačnímu peptidu žírných buněk (Hider & Ragnarsson, 1981). Je inhibitorem heterotetramerních K^+ kanálů ($I_{K_{Ach}}$) lokalizovaných v srdci. Tyto kanály jsou spřaženy s G-proteiny a jsou aktivovány acetylcholinem (Ach) při parasympatické stimulaci (Jin & Lu, 1998). Tertiapin také inhibuje vnitřně usměřující K^+ kanály, které se nacházejí v ledvinách a v nervových buňkách (Okada et al., 2020; Patel et al., 2020).

3.1.6. Cardiopep

Cardiopep nebo také kardioaktivní polypeptid tvoří 0,7 % sušiny včelího jedu. Jako jediný vykazuje pozitivní anti-arytmické účinky (Vick et al., 1974).

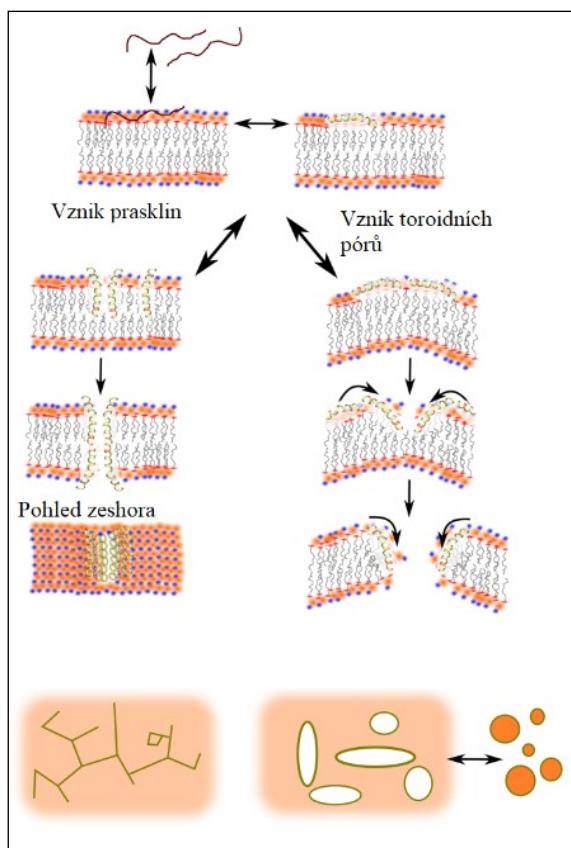
4. Vliv účinků jednotlivých složek včelího jedu na orgánové systémy

Včelí jed a složky v něm obsažené působí velmi komplexně na lidský organismus. Již jedno včelí bodnutí může u citlivého jedince způsobit kardiovaskulární kolaps, potlačení vyvolání hyperpolarizace u nervových buněk či uvolnění prozánětlivých mediátorů vedoucí k anafylaktickému šoku. Složky jedu mají vliv na mnoho orgánových soustav. Především na kardiovaskulární systém, centrální nervovou soustavu a imunitní systém. V následujících podkapitolách jsou uvedeny konkrétní složky a jejich mechanismy účinků na danou orgánovou soustavu.

4.1. Vliv na biologické membrány

Nejvýznamnějším účinkem včelího jedu je dopad jeho složek na funkce a vlastnosti biologických membrán. Zásadní roli v narušování integrity buněčných membrán má MEL.

Díky svým amfifilním vlastnostem je MEL dobře rozpustný ve vodě a snadno se váže na negativně nabitě povrchy membrán. Díky jeho α -helikální struktuře a kladnému náboji (Lauterwein et al., 1980), který MEL na svém povrchu vykazuje, se již při nízké dávce dokáže dobře zabudovat do buněčných membrán, a vytvořit v nich tak praskliny nebo při vyšších koncentracích tzv. toroidní póry (viz. Obr. č. 4). Tuto funkci zastává C-koncová část, neboť je zodpovědná za štěpící aktivitu peptidu (Pandidan & Mechler, 2019). Prasklinami mohou difundovat jen malé molekuly, jako např. ionty. Toroidními póry mohou procházet větší molekuly, např. glukóza, a umožňují tak průnik molekul o velikosti desítek kDa (Lee et al., 2013). DeGrado et al., (1982) zjistili, že jakmile se MEL navázal na vnější povrch membrány erytrocytů, vytvářel povrchově vázané monomery, kterými unikalo přibližně 40 molekul hemoglobinu. Díky tomu docházelo k degradaci erytrocytů, což vedlo ke snížení obsahu erytrocytů v krevním séru. Analogií může být spolupráce MEL a bvPLA2. Navázáním na vnější povrch membrány erytrocytů, vytvářejí povrchově vázané monomery, kterými molekuly hemoglobinu také unikají.



Obr. č. 4: Dráhy mechanismu tvorby pórů melittinem. Ve schematickém znázornění lipidových hlavních skupin jsou červená esterová, oranžová fosfátová a modrá cholinová skupina. Pokud jde o mechanismus, nejprve se musí peptid absorbovat na povrch membrány. Absorbovaný protein následně proniká membránou a vytváří tak póry. Převzato a upraveno Pandidan & Mechler, 2019.

4.2. Vliv na kardiovaskulární systém

Na kardiovaskulární systém působí především MEL, bvPLA2, apamin, tertiapin a cardiopep. Každá z těchto látek působí odlišným způsobem a zapříčiňuje různé typy procesů, které ovlivňují činnost srdce, ať už negativně či pozitivně.

Mezi negativní vlivy na kardiovaskulární systém patří silné kardiotoxické účinky vyvolané nejčastěji skloňovanou složkou, která je obsažena ve včelím jedu, MEL. Okamoto et al., (1995), poukazují na kardiotoxicitu MEL u myších fetálních kardiomyocytů. Ze všech složek včelího jedu je právě MEL, který vykazuje kontraktlní a morfologické změny, např. jadernou pyknózu či balonovou dystrofii, které vedou k apoptóze. Bylo pozorováno, že po přidání malého množství (3,13 $\mu\text{g/ml}$) MEL dochází k inhibici akčního potenciálu (AP), což má za následek zastavení činnosti srdce. Tento proces je reverzibilní. Jakmile se kardiomyocyty umístí na čisté medium bez přidání MEL, postupem času se obnoví spontánní bití. Dalším efektem MEL v závislosti na dávce a čase je zvýšení středního arteriálního tlaku a srdeční frekvence u normotenzních potkanů (Yalcin et al., 2009).

Mechanismy, kterými srdeční selhání prodlužuje trvání AP při nízkých a vysokých stimulačních frekvencích, nejsou zcela objasněny. Jedním z možných vysvětlení je, že selhávající komorové kardiomyocyty zvyšují expresi SK kanálů (Bonilla et al., 2014; Ni et al., 2013). SK kanály hrají důležitou roli v různých orgánech lidského těla. Jedním typem těchto kanálů je $I_{K, Ca}$, který v srdci zajišťuje repolarizaci (Xu et al., 2003). Blokováním tohoto typu kanálu apaminem, u selhávajícího srdce člověka, se prodlužuje trvání AP, čímž nedochází k repolarizaci, a zastaví se tak proces tvorby vzniku nových AP (Bonilla et al., 2014).

V blízkosti MEL se zvyšuje aktivita bvPLA2. Synergickým působením těchto složek se společně mění na lytický faktor (Mingarro et al., 1995). Další příklad působení obou složek včelího jedu byl dokázán ve studii na potkanech, kde autoři zkoumali vazokonstrikční efekt aorty. Izolované bvPLA2 a MEL neměly žádný kontraktilní účinek, na rozdíl od proteinového komplexu bvPLA2 + MEL, který byl schopen vyvolat vazokonstrikci aorty (Sousa et al., 2013).

Je zajímavé, že tatáž složka včelího jedu může mít v jiných koncentracích a na odlišný typ tkáně kardiovaskulárního systému naopak pozitivní vliv. Bylo prokázáno, že MEL ovlivňuje citlivost beta adrenergních receptorů (β -AR) skrze aktivaci endogenní PLA2. Studie *in vitro* dokázala, že vystavení kardiomyocytů koncentracím MEL nižším než 2,5 $\mu\text{g/ml}$ nemělo vliv na aktivaci endogenní PLA2 v sarkolemě ani na citlivost β -AR, zatímco vyšší koncentrace MEL blížící se k 5 $\mu\text{g/ml}$ zaktivovala endogenní PLA2, která odpojila adenylátcyklázu (AC) od β -AR (Bobik et al., 1983). Tato odpojená AC katalyzuje přeměnu adenosintrifosfátu (ATP) na cyklický adenosinmonofosfát (cAMP) (Daly et al., 1981). Vlivem nashromážděného množství cAMP dojde k aktivaci proteinkinázy A (PKA), která fosforyluje klíčové regulační proteiny (troponin, fosfolamban) a také Ca^{2+} kanály typu L podílející se na regulaci kontraktility srdečního svalu (Gao et al., 1997; Simmerman et al., 1986; Westwood & Perry, 1981). Tyto výsledky naznačují, že aktivace endogenní PLA2 v sarkolemě může modulovat aktivitu AC vázanou na β -AR intaktních kardiomyocytů (Bobik et al., 1983).

Další prospěšnou složkou včelího jedu, která má pozitivní vliv na činnost srdce, je netoxický stimulant cardiopep, který vykazuje anti-arytmické vlastnosti. Ve studii Vick et al., (1974), která se zabírala účinkem právě tohoto stimulantu na izolované perfundované psí a opičí srdce, bylo zjištěno, že po přidání cardiopepu do koronárního oběhu psích perfundovaných srdcí se jejich srdeční frekvence zvýšila o $50 \pm 10 \%$ a kontraktilita se zvýšila o $150 \pm 50 \%$. U opičích perfundovaných srdcí došlo ke zvýšení srdeční frekvence o $65 \pm 8 \%$ a u kontraktility došlo ke zvýšení o $130 \pm 20 \%$. Tyto účinky trvaly během celého experimentu. U perfundovaných psích i opičích srdcí, ve kterých byla přítomna arytmie,

cardiopep obnovil normální srdeční rytmus. Během těchto experimentů nebyla zaznamenána žádná změna koronárního perfúzního tlaku.

Další složkou včelího jedu, která pozitivně ovlivňuje pochody spjaté s činností srdce, je tertiapin, který silně blokuje jednu z podjednotek obsaženou v $I_{K_{ACh}}$ (Jin & Lu, 1998). Tento kanál je důležitým konečným cílem ACh, který vyvolává při parasympatické stimulaci záporné chronotropní a dromotropní účinky (DiFrancesco et al., 1989). Hlavním výsledkem studie Drici et al., (2000) na izolovaném srdci morčete bylo zjištění, že tertiapin brání vzniku negativních účinků vyvolaných ACh inhibicí $I_{K_{ACh}}$ kanálu. Tyto fyziologické účinky byly již zřejmé při použití 10 nM koncentrace tertiapinu.

4.3. Vliv na centrální nervovou soustavu

Na centrální nervovou soustavu (CNS) působí především apamin. Tento peptid, s vysoce specifickým působením, se váže na SK kanály, a tím působí jako alosterický inhibitor, který ireversibilně tyto kanály uzavírá (Lamy et al., 2010). Na základě této funkce bylo zjištěno, že jako jediný polypeptid ze všech složek včelího jedu dokáže procházet hematoencefalickou bariérou (Pease & Wemmer, 1988), neboť výše zmíněné SK kanály se nacházejí v šedé hmotě mozku (Köhler et al., 1996).

SK kanály, které se aktivují pouze zvýšeným množstvím intracelulárních Ca^{2+} iontů, přispívají k regulaci excitability neuronů (Begenisich et al., 2004), přičemž je tato aktivace zprostředkována kalmodulinem (Schumacher et al., 2001). Dochází tak k regulaci membránového potenciálu, a to zvyšujícím se množstvím intracelulárních Ca^{2+} iontů a následným otevřením těchto kanálů doprovázených odtokem K^+ iontů z buňky. V případě, že dojde k zablokování těchto kanálů apaminem, dochází ke snížení (potlačení) hyperpolarizace nervových buněk. Tato inhibice hraje zásadní roli v regulovatelnosti neuronální excitability tím, že řídí frekvenci nově vzniklých AP (Teshima et al., 2003).

4.4. Vliv na imunitní systém

Včelí jed má také vliv na imunitní systém. Působí na něj degranulační peptid žírných buněk a bvPLA2, která zastupuje hlavní alergen včelího jedu. Včelí PLA2 štěpí molekulu glycerfosfolipidu obsaženou v buněčných membránách na produkty, jimiž jsou lysofosfatidylcholin, kyselina lysofosfatidová a lysophosphatidylserine (Urasaki et al., 2000). Tyto látky mohou mít cytotoxický nebo imunostimulační účinek na různé typy buněk, což může způsobovat zánět či vyvolání imunitní odpovědi (anafylaktického šoku) (Moolenaar, 1999). Příkladem může být kyselina lysofosfatidová, která aktivuje eosinofily (typ granulocytu, bílé krvinky) (Urasaki et al., 2000).

Kromě svých katalytických aktivit se ukázalo, že bvPLA2 je schopna se vázat na specifické membránové receptory a působit jako ligand k vyvolání buněčných signálů nezávisle na jejich enzymatické aktivitě. Také se může přímo vázat na mannózový receptor na povrchu dendritických buněk. Tato vazba následně podpoří sekreci prostaglandinu E₂, což vede k diferenciaci regulačních T_H lymfocytů, tzv. Treg buněk. Vazba na receptor podporuje vznik Treg buněk, které jsou důležité při imunitní toleranci a přispívá k prevenci různých neurodegenerativních onemocnění, včetně Parkinsonovy choroby (Chung et al., 2015).

Mechanismus vyvolání anafylaktického šoku využívá také degranulační peptid žírných buněk obsažený ve včelím jedu (McLachlan et al., 2008). Při nízkých dávkách je degranulační peptid žírných buněk schopen indukovat anafylaktoidní reakci degranulací žírné buňky. Tím dochází ke vzniku lokálních otoků vlivem zvýšené dilatace krevních kapilár a kontrakce hladké svaloviny, což způsobují uvolněné mediátory (histamin) (Ziai et al., 1990). Vysoká koncentrace degranulačního peptidu žírných buněk naopak představuje opačný účinek, kdy inhibuje degranulaci žírných buněk (tj. inhibice uvolňování histaminu), a může tak působit jako antialergická molekula, čehož je využíváno v terapeutických metodách (Hanson et al., 1974).

4.5. Vliv na ledvinový systém

Bylo pozorováno, že včelí jed má přímý toxický účinek na funkci ledvin. Mechanismy poškození ledvin jsou závažná renální vazokonstrikce aferentní arterioly, intenzivní přímá tubulární toxicita a rhabdomyolýza, jež je způsobena rozpadem a nekrózou svalové tkáně a uvolňováním intracelulárního obsahu do krevního řečiště (Grisotto et al., 2006; Honda & Kurokawa, 1983).

Touto problematikou se zabíraly i další studie, díky nimž bylo zjištěno, že některé složky včelího jedu mohou přímo poranit renální tubuly. Proximální část ledvin je náchylnější k toxickým účinkům včelího jedu a to kvůli zvýšené reabsorpci toxických látek na tomto místě, spojené s intenzivní metabolickou aktivitou, výdejem energie a zranitelností enzymatického systému (dos Reis et al., 1998).

Složky včelího jedu, které negativně působí na ledviny, jsou MEL a bvPLA2. Všechny tyto látky mají značný vliv na uvolňování mediátorů, jež působí na kardiovaskulární systém, což má dále neblahé následky na činnost ledvin, jelikož dochází k jejich poškození a nevratnému selhání.

Akutní poškození ledvin (AKI, z *angl. Acute Kidney injury*) je dáno narušením renální funkce po dobu několika hodin a následným selháním ledvin, které vede k nahromadění dusíkatých produktů a nerovnováze elektrolytů (Whipple et al., 1917). Jednou z možných predispozic k AKI může být sada funkcí složek jedu generující systémovou hypoperfúzi, čímž dochází ke snížení průtoku krve ledvinami (da Silva et al., 2017). Těmito složkami jsou MEL a bvPLA2, jež dokáží uvolňovat mediátory (katecholaminy, vazokonstrikční eikosanoidy), které právě přispívají ke snížení průtoku krve ledvinami. Další vazoaktivní látkou uvolňovanou při styku se včelím bodnutím je histamin, který svými následky může vést ke snížení krevního tlaku. Kvůli změnám v srdeční tkáni může také docházet k akutnímu selhávání ledvin. Těmito změnami je myšlen akutní infarkt myokardu, který může mít za následek snížení srdečního výdeje a tím opět dojde ke snížení průtoku krve ledvinami (França et al., 1994). Důsledkem již výše zmíněné renální hypoperfúze je aktivace renin-angiotenzin-aldosteronového systému (RAAS), který stimuluje sekreci katecholaminů z kůry nadledvin (Tigerstedt & Bergman, 1898). Bylo dokázáno, že MEL dokáže aktivovat důležité enzymy v ledvinách potkanů a to kallikrein a renin (Nishimura et al., 1980). Jakmile dojde k aktivaci reninu, důležitého enzymu v RAAS, MEL, dochází k aktivaci angiotenzinu II, který má vliv na vazokonstrikci aferentní a eferentní arterioly. Výsledkem procesu je snížení průtoku krve ledvinami a pokles glomerulární filtrace (Guthrie, 1995).

5. Terapeutické využití včelího jedu

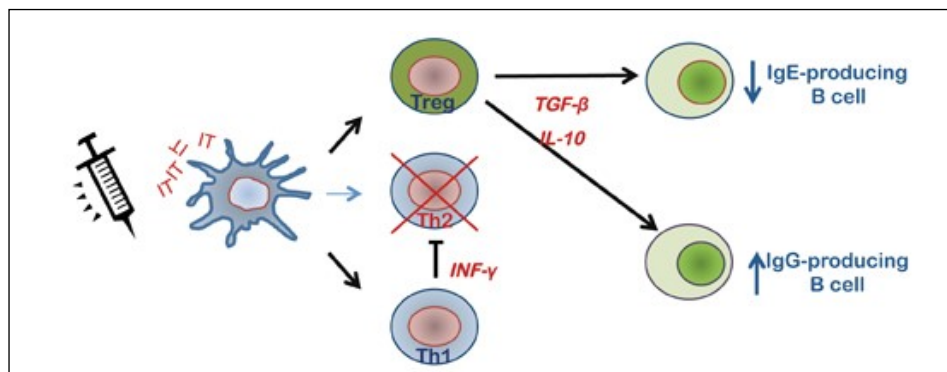
Již mnoho let existují studie zabývající se včelím jedom a jeho použitím proti různým onemocněním či předejitím rizikovému stavu anafylaktického šoku. V následujících podkapitolách se práce bude věnovat nejprve terapiím a následně uplatněním pozitivních účinků jedu na vážné choroby a onemocnění.

5.1. Specifická alergenová imunoterapie

Alergická reakce na jed blanokřídlých je potenciálně život ohrožující obranný mechanismus organismu. Příznaky vyvolané imunitním systémem mají různou závažnost v závislosti na druhu reakce. Lokální reakce jsou obvykle generalizovány na kůži s příznaky jako jsou návaly horka v místě vpichu, kopřivka a někdy i angioedém. Tyto příznaky mohou přetrvávat i několik dní. Systémové alergické reakce jsou mnohem závažnější. Typickými projevy jsou závratě, dušnost, nevolnost a v některých případech dochází k anafylaktickému šoku, kdy se u jedince projevuje např. astma, ztráta vědomí, nebo dokonce zástava srdce či dýchání (Golden, 2005).

Alergenová imunoterapie je efektivní léčbou, která se snaží předcházet závažným projevům způsobeným alergickou reakcí při druhém setkání s alergenem (Golden, 2005). Alergenově specifická imunoterapie je obecně založena na dlouhodobém podávání zvyšujících se dávek alergenu (včelího jedu), pro dosažení hyposenzibilizace, což vede ke zmírnění či vymizení symptomů u senzibilního jedince (Durham et al., 1999). Úspěšná léčba je tedy spojena se sníženou citlivostí bazofilů (Eržen et al., 2012). Imunologické rysy tohoto stavu zahrnují potlačené proliferační a T buněčné cytokinové reakce a současné zvýšení produkce interleukinu 10 (IL-10). IL-10 potlačuje imunitní odpovědi na alergeny jedu prostřednictvím různých účinků. Dochází ke změně z pomocného lymfocytu 2 (T_H2), který secernuje IL-4 a IL-5, na odpověď pomocného lymfocytu 1 (T_H1), u něhož dochází k tvorbě interferonu gama (IFN- γ) (Akdis & Blaser, 2000). Výsledkem těchto pochodů je přechod imunoglobulinu z třídy IgE na imunoglobulin G4 (IgG4) v B buňkách (Meiler et al., 2008). Bylo zjištěno, že za imunitní odpovědi na bvPLA2, obsaženou ve včelím jedom, stojí poměr IL-4/INF- γ , který řídí regulaci tvorby IgE a IgG4. V závislosti na dávce bvPLA2 dochází k poklesu již zmíněného poměru, což vede i k poklesu poměru IgE/IgG4, který byl navozen specifickou alergenovou imunoterapií (Carballido et al., 1994). Tento pokles je velmi důležitý pro objasnění

přecitlivělosti na daný typ alergenu u alergického jedince a nastavení úspěšné léčby vedoucí k hyposenzibilizaci. Při tomto procesu dochází ke změně v imunitní odpovědi z IgE, který souvisí s přecitlivělostí, na IgG4, který spouští ochranné mechanismy, čímž se předchází dalším závažným projevům alergické reakce po následujícím setkání s alergenem. Tato imunoterapie navíc indukuje vznik IL-10 a TGF- β , jež hrají supresivní roli v proliferačních a cytokinových reakcích proti jedovým alergenům. Treg buňky ovlivňují B buňky tak, že potlačují produkci IgE a indukují produkci IgG4 proti jedovým antigenům (viz. Obr. č. 5) (Meiler et al., 2008).



Obr. č. 5: Proces desenzibilizace. Při senzibilizaci iniciuje expozice některých alergenů reakci T_H2 , generuje protilátky IgE a budoucí senzibilizaci vůči expozici alergenu. To zahrnuje zránění B buněk IL-4 a IL-5 a prezentaci IgE povrchovými receptory žírných buněk. Při desenzibilizaci dochází k potlačení T_H2 dráhy T_H1 buňkami, zatímco regulační T buňky (Treg) stimuluji přechod z IgE na IgG protilátky. Tato akce omezuje aktivaci žírných buněk a potlačuje alergické reakce. Převzato: <https://www.reviewofophthalmology.com/article/fight-fire-with-fire-with-immunotherapy> (vid. 02.05.2021)

5.2. Neurodegenerativní choroby

Včelí jed ovlivňuje také neurodegenerativní choroby postihující CNS, které v současné době nelze vyléčit, a tak se hledají alespoň alternativní přístupy k potlačení rozvíjejících se projevů či pozastavení dalších degenerací. Bylo zjištěno, že bvPLA2 a apamin obsažené ve včelím jedu mohou být použity právě v léčbě neurodegenerativních chorob, kterými jsou Alzheimerova a Parkinsonova choroba a amyotrofní laterální skleróza.

Alzheimerova choroba (AD) je progresivní neurodegenerativní porucha projevující se postupným ukládáním peptidu amyloid- β ($A\beta$) a tvorbou plaků vedoucí k nevratné ztrátě neuronů spojené se ztrátou kognitivních funkcí (Baek et al., 2018; McKhann et al., 1984). Ye et al., (2016) ukázali použití bvPLA2 jako léčbu k blokování progresu AD u transgenních myši. Ve své studii zjistili, že bvPLA2 má schopnost snížit akumulaci $A\beta$ a zlepšit tak

kognitivní funkce. Stejná studie ukazuje, že bvPLA2 může zvýšit metabolismus glukózy v mozku, a tím snížit neurozánětlivé reakce v hipokampu, což může omezit patogenezí AD.

Parkinsonova choroba (PD) je neurodegenerativní porucha charakterizovaná progresivní ztrátou dopaminergních neuronů (DA, z *angl. Dopaminergic cell groups*) v substantia nigra (struktura ve středním mozku), která vede k typickým motorickým příznakům zahrnujícím bradykinezi, svalovou rigiditu a klidový třes. Mezi nemotorické příznaky patří kognitivní poruchy, poruchy spánku, psychiatrické příznaky, autonomní a čichová dysfunkce (Gibb & Lees, 1988; Parkinson, 1817). Nedávné studie naznačují, že samotný apamin chrání DA před další degenerací (Alvarez-Fischer et al., 2013). Ochranný účinek apaminu byl přičítán malému zvýšení vzrušivosti DA, které způsobily mírné a trvalé zvýšení množství Ca^{2+} iontů v cytosolu (Salthun-Lassalle et al., 2004). To je v souladu se známými farmakologickými vlastnostmi apaminu jakožto silného a nevratného blokátoru SK kanálů. Toto pozorování odpovídá obecnější myšlence, že elektricky aktivní DA mohou být také odolnější vůči degenerativním toxickým změnám (Liss et al., 2005). Vše tedy nasvědčuje tomu, že apamin je možnou rozhodující složkou včelího jedu, pokud jde o jeho ochranný účinek na DA.

Mezi další onemocnění CNS se řadí amyotrofni laterální skleróza (ALS), která způsobuje smrt motorických neuronů (Fang et al., 2008). Významná vlastnost ALS je abnormální akumulace mutantních proteinových agregátů superoxid dismutázy (mtSOD1) (Boillée et al., 2006). Superoxid dismutáza, hojně zastoupený enzym, jehož kofaktory jsou Cu^{2+} a Zn^{2+} ionty, působí jako antioxidační enzym, který snižuje koncentraci toxického superoxidového radikálu ($\text{O}_2^{\cdot-}$). Tím dochází k dismutaci tohoto volného radikálu za vzniku peroxidu vodíku a molekul kyslíku (McCord & Fridovich, 1969). Jak *in vitro*, tak *in vivo* studie, které využívají mtSOD1 transgenní myši, prokázaly různé buněčné patogenní účinky v motorických neuronech, jako je nesprávné skládání bílkovin, dysfunkce mitochondrií a akumulace neurofilament (Jaarsma et al., 2000). Je dokázáno, že právě proti této nemoci nám může pomoci včelí jed. Podání včelího jedu v přesné a symptomatické fázi progresu ALS vede ke zlepšení motorické aktivity. To by mohlo být způsobeno zablokováním aktivovaných mikroglií, obvykle nalezených na myších modelech ALS (Yang et al., 2010).

5.3. Kožní onemocnění

Nedávná studie provedená kolektivem autorů An et al., (2014) uvádí, že včelí jed má potenciál antibakteriálního účinku proti zánětlivému onemocnění kůže. *Acne vulgaris* je nejčastější kožní onemocnění, které způsobuje *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) (Jung et al., 2012). *P. acnes* přispívá k zánětlivé reakci akné indukcí monocytů a keratinocytů, které produkují prozánětlivé cytokiny IL-1 β a tumor nekrotizující faktor α (TNF- α) (Vowels et al., 1995). V této souvislosti byl *P. acnes* intradermálně injektován do uší myší. Po injekci byl na povrch ucha aplikován včelí jed smíchaný s vazelínou. Histologické pozorování odhalilo, že injekce *P. acnes* značně vyvolala zvýšení počtu infiltrovaných zánětlivých buněk a zánětlivých cytokinů, ale včelí jed významně inhiboval počet TNF- α a IL-1 β pozitivních buněk (An et al., 2014).

Han et al., (2013) zkoumali biologický účinek léčby včelího jedu na migraci buněk keratinocytů *in vitro*. Migrační testy ukázaly, že vzdálenost buněčné migrace se dramaticky zvýšila u buněk vystavených včelímu jedu. Proto lze použít včelí jed lokálně, a tím urychlit hojení ran procesem regenerace buněk.

5.4. Ateroskleróza

Zvýšená hladina cholesterolu, způsobená špatným životním stylem, vede k ukládání tukových kapének uvnitř tepen. Kvůli tomuto procesu a množení buněk hladké svaloviny ztrácí tepny na své pružnosti, a postupně tak dochází k jejich zužování. Zmíněné zánětlivé onemocnění se nazývá ateroskleróza. Tato chronická zánětlivá porucha tepen je jednou z hlavních příčin úmrtí dospělých. Nahromaděný plak je tvořen z cholesterolu, triglyceridů, zbytků odumřelých buněk a imunitních buněk – makrofágů. V postupu aterosklerózy je důležitým faktorem proliferace a migrace buněk hladké svaloviny, která je způsobena patologickými jevy, jako je akumulace zánětlivých buněk a uvolňování prozánětlivých cytokinů makrofágy (např. TNF- α) (Jeong et al., 2012). Jeong et al., (2012) také prokázali, že MEL významně snižuje migraci buněk hladké svaloviny cév, která je indukovaná TNF- α , a potlačuje také aktivaci jaderného faktoru kappa B (NF- κ B) aktivovaného TNF- α , čímž dochází k inhibici exprese matrix metaloproteinázy (MMP-9) u buněk hladkého svalstva lidské aorty. Kromě toho MEL také snižuje hladiny exprese prozánětlivých cytokinů (TNF- α , IL-1 β), adhezních molekul (VCAM-1, ICAM-1) a transformujícího růstového faktoru (TGF β -1, z *angl.*

Transforming Growth Factor $\beta 1$) u aterosklerotických myší (Kim et al., 2011). Díky tomu nedochází k ukládání tukových kapének, migraci buněk hladké svaloviny, a předchází se tak závažným stavům aterosklerózy.

5.5. Jaterní fibróza

MEL, bvPLA2 a apamin mohou pozitivně ovlivňovat činnost jater mnohými mechanismy. Co mají ovšem tyto látky společné, je jejich potlačování tvorby cytokinů. Například MEL působí anti-apoptoticky na hepatocyty, které byly vystaveny cytokinu TGF- $\beta 1$. Tyto škodlivé cytokiny způsobují závažné onemocnění jater – jaterní fibrózu (Lee et al., 2011; Park et al., 2010)

Fibróza jater se vyskytuje spolu s chronickým poškozením jater u různých onemocnění, jako je např. virová hepatitida, alkoholická hepatitida a primární sklerotizující cholangitida (Chen et al., 2005). Za těchto podmínek fibrotická játra vykazují změny v tkáňové architektuře a složení extracelulární matrix, které ohrožují funkci orgánu (Friedman, 2008). Příkladem může být alkoholická hepatitida, která je spjata s konzumací ethanolu. V současné době se spekuluje o tom, že patogeneze tohoto onemocnění souvisí s apoptózou. Studie také uvedla optimální dávku včelího jedu, kterou je nutno podat pro vyvolání anti-apoptotických účinků proti poškození hepatocytů prostřednictvím mitochondriální signalizace (Kim et al., 2010).

Park et al., (2010) uvádí, že TGF- $\beta 1$, což je multifunkční cytokin regulující hepatocelulární diferenciaci a růst, snižuje životaschopnost hepatocytů a indukuje jejich apoptózu. Přidáním malého množství včelího jedu se však významně zvýší životaschopnost hepatocytů ovlivněných TGF- $\beta 1$. Lee et al., (2011) navíc poukázali na optimální dávku MEL (1 $\mu\text{g/ml}$), která vykazuje anti-apoptotické účinky proti poškození hepatocytů indukovaných TGF- $\beta 1$, a to konkrétně zvýšením exprese anti-apoptotického proteinu Bcl-2 a snížením tvorby pro-apoptotického proteinu Bax. Tyto výsledky naznačují, že optimální dávka MEL může sloužit k ochraně buňky proti poškození zprostředkovanému TGF- $\beta 1$.

Nejenom MEL má pozitivní vliv na činnost jater. Kim et al., (2014) prokázal, že i bvPLA2 chrání před jaterní dysfunkcí a indukuje protizánětlivou produkci cytokinů v těle myši po podání injekce acetaminofenu (paracetamol). Tato studie naznačuje, že bvPLA2 může mít terapeutický potenciál v prevenci hepatotoxicity vyvolané acetaminofenem.

Další studie poukazuje na možné pozitivní účinky apaminu na biliární fibrózu². Autoři uvedli, že apamin potlačuje aktivované jaterní buňky, které jsou hlavním důvodem vzniku depozice kolagenu způsobující biliární fibrózu. Také si všimli, že apamin snižoval hladiny prozánětlivých cytokinů v jaterní tkáni (Kim et al., 2017).

5.6. Nádorové onemocnění

Nádorové onemocnění je celosvětově hlavní příčinou úmrtí. V současné době se očekává, že počet rakovin a úmrtí spojené s ní bude rychle narůstat. Mezi faktory zvyšující riziko nádorového onemocnění se řadí špatný životní styl, užívání tabáku, fyzická nečinnost a nadměrná tělesná hmotnost.

Existuje mnoho studií o využití MEL při léčbě v boji proti různým typům rakoviny, např. hepatocelulárního karcinomu (Hu et al., 2006), rakoviny prostaty (Park et al., 2011), rakoviny vaječnicků (Jo et al., 2012), rakoviny mléčné žlázy (Ip et al., 2008) nebo melanomu (Tu et al., 2008), nádorům plic (Jang et al., 2003) či močového měchýře (Ip et al., 2011).

Park et al., (2011) také uvedli, že včelí jed a jeho hlavní složka, MEL, indukuje inhibici růstu lidských rakovinných buněk prostaty *in vitro* i *in vivo* prostřednictvím aktivace kaspázy 3 a 9 a inhibicí signalizace NF- κ B a jejich následných proliferačních a anti-apoptotických genových produktů.

Podobně ve studii Zheng et al., (2015) prokázali, že včelí jed má anti-proliferativní účinek a indukuje apoptózu aktivací receptorů smrti (DR, z *angl.* *Death Receptor*). DR obsahují cytoplazmatickou doménu, nazývanou „doména smrti“, a aktivují se interakcí s jejich ligandy. Aktivované DR indukují apoptózu aktivací kaspáz (Ashkenazi & Dixit, 1998).

S DR a apoptotickými ději při nádorových onemocněních souvisí i inhibice přenašečů signálu a aktivátorů transkripčních faktorů (STAT, z *angl.* *Signal Transducer and Activator of Transcription*). Fosforylovaný protein STAT3 hraje v buňce důležitou roli v růstu, proliferaci, diferenciaci, apoptóze, metastázi a angiogenezi (Sun et al., 2012). Jak ukázalo několik studií, aktivovaný STAT3 přispívá k vývoji a progresi nádorů v mnoha formách rakoviny, včetně rakoviny prsu, hlavy a krku, prostaty, kůže, vaječnicků, plic, kostí a krve (Alvarez et al., 2005; Deng et al., 2010). Studie Jo et al., (2012), která pracovala s rakovinnými buňkami vaječnicků,

² Biliární fibróza – chronické onemocnění jater, při němž dochází k závažnému zánětu žlučovodů. Je způsobována primární biliární cholangitidou či primární sklerozující cholangitidou.

poukázala na fakt, že po přidání MEL se zamezilo růstu lidských rakovinných buněk vaječníků indukcí apoptózy zvýšením exprese DR a inhibicí STAT3 dráhy.

Další nedávná studie prokázala, že kombinace MEL s chemoterapeutikem, jako je např. temozolomid, výrazně snižuje růst a invazi buněk melanomu ve srovnání s podmínkami, kdy byly temozolomid nebo MEL použity samostatně (Lim et al., 2019).

6. Závěr

Včelí jed obsahuje široké spektrum látek, které mají různé fyziologické vlastnosti. Je směsí aminokyselin, peptidů, enzymů, minerálních a těkavých látek. Nejvíce zastoupenými složkami jsou melittin, apamin, fosfolipáza A2 a degranulační peptid žírných buněk. Méně obsaženými, avšak poměrně důležitými jsou tertiapin a cardiopep. Pověstinou působí tyto komponenty negativně na lidský organismus, poškozují jeho orgánové soustavy a mohou vyvolat alergickou reakci, která v nejhorším případě končí smrtí. Navzdory těmto nepříznivým účinkům a také negativním konotacím spojeným se slovem jed mohou být jeho výše uvedené složky člověku prospěšné. Těchto terapeutických možností si lidové léčitelé všimli již před 5 000 lety. Postupem času se dostával včelí jed do centra zájmu jak laiků, tak i odborníků, kteří začali provádět studie, jež potvrdily pozitivní vliv na lidský organismus. Dnes se včelí jed běžně používá v terapeutické praxi k léčení různých onemocnění jako je jaterní fibróza, alergická imunitní terapie, kožní problémy a částečně i ateroskleróza. Velmi závažným a celosvětově řešeným problémem jsou nádorová onemocnění, u kterých studie vykazují pozitivní vlivy včelího jedu v jejich terapii. Rakovina je velmi různorodá a postihuje celou řadu orgánových tkání, proto je velmi obtížné najít stoprocentně účinnou léčbu a včelí jed, vzhledem k jeho přírodnímu původu, se tak stává nadějí u onkologicky nemocných pacientů. Zdá se, že včelí jed, působí pozitivně i na nevléčitelné choroby nervového systému, které postihují především jedince staršího věku, a to Parkinsonovu a Alzheimerovu chorobu a amyotrofní laterální sklerózu, u nichž se lékaři snaží pomocí jednotlivých látek včelího jedu zabránit postupné degeneraci nervových buněk a potlačit rozvíjející se projevy onemocnění.

Už jen právě díky tomu, že včelí jed je schopen zmírnit průběh takto závažných nemocí či bojovat s nádorovými buňkami, si studium vlastností jeho složek zaslouží následný výzkum rozšířený o zaměření se na jeho další možné využití v terapii nejrůznějších chorob.

7. Seznam citované literatury

* označení pro review

*Akdis, C. A., & Blaser, K. (2000). Mechanisms of allergen-specific immunotherapy. *Allergy*, 55(6), 522–530. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2000.00120.x>

Alvarez, J. V., Febbo, P. G., Ramaswamy, S., Loda, M., Richardson, A., & Frank, D. A. (2005). Identification of a genetic signature of activated signal transducer and activator of transcription 3 in human tumors. *Cancer Research*, 65(12), 5054–5062. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4281>

Alvarez-Fischer, D., Noelker, C., Vulinović, F., Grünwald, A., Chevarin, C., Klein, C., Oertel, W. H., Hirsch, E. C., Michel, P. P., & Hartmann, A. (2013). Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a Parkinson disease mouse model. *PLoS One*, 8(4), e61700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061700>

An, H.-J., Lee, W.-R., Kim, K.-H., Kim, J.-Y., Lee, S.-J., Han, S.-M., Lee, K.-G., Lee, C.-K., & Park, K.-K. (2014). Inhibitory effects of bee venom on *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory skin disease in an animal model. *International Journal of Molecular Medicine*, 34(5), 1341–1348. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1933>

*Ashkenazi, A., & Dixit, V. M. (1998). Death Receptors: Signaling and Modulation. *Science*, 281(5381), 1305–1308.

Baek, H., Lee, C., Choi, D. B., Kim, N., Kim, Y.-S., Ye, Y. J., Kim, Y.-S., Kim, J. S., Shim, I., & Bae, H. (2018). Bee venom phospholipase A2 ameliorates Alzheimer's disease pathology in A β vaccination treatment without inducing neuro-inflammation in a 3xTg-AD mouse model. *Scientific Reports*, 8(1), 17369. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35030-1>

Begenisich, T., Nakamoto, T., Ovitt, C. E., Nehrke, K., Brugnara, C., Alper, S. L., & Melvin, J. E. (2004). Physiological roles of the intermediate conductance, Ca²⁺-activated potassium channel Kcnn4. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(46), 47681–47687. <https://doi.org/10.1074/jbc.M409627200>

Bobik, A., Campbell, J., Snow, P., & Little, P. J. (1983). The effects of endogenous phospholipase A2 activation on beta adrenoceptor function in cardiac cells. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 15(11), 759–767. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(83\)90335-8](https://doi.org/10.1016/0022-2828(83)90335-8)

Boillée, S., Yamanaka, K., Lobsiger, C. S., Copeland, N. G., Jenkins, N. A., Kassiotis, G., Kollias, G., & Cleveland, D. W. (2006). Onset and Progression in Inherited ALS Determined by Motor Neurons and Microglia. *Science*, 312(5778), 1389–1392. <https://doi.org/10.1126/science.1123511>

- Bonilla, I. M., Long, V. P., Vargas-Pinto, P., Wright, P., Belevych, A., Lou, Q., Mowrey, K., Yoo, J., Binkley, P. F., Fedorov, V. V., Györke, S., Janssen, P. M. L., Kilic, A., Mohler, P. J., & Carnes, C. A. (2014). Calcium-Activated Potassium Current Modulates Ventricular Repolarization in Chronic Heart Failure. *PLoS ONE*, 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108824>
- Brown, L. R., Lauterwein, J., & Wüthrich, K. (1980). High-resolution 1H-NMR studies of self-aggregation of melittin in aqueous solution. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 622(2), 231–244. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90034-3](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90034-3)
- Buku, A., & Price, J. A. (2001). Further studies on the structural requirements for mast cell degranulating (MCD) peptide-mediated histamine release☆ ☆Preliminary reported at the European Peptide Symposium, 2000, Montpellier, France. *Peptides*, 22(12), 1987–1991. [https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(01\)00538-1](https://doi.org/10.1016/S0196-9781(01)00538-1)
- Carballido, J., Carballido-Perrig, N., Oberli-Schrämmli, A., Heusser, C. H., & Blaser, K. (1994). Regulation of IgE and IgG4 responses by allergen specific T-cell clones to bee venom phospholipase A2 in vitro. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 93(4), 758–767. [https://doi.org/10.1016/0091-6749\(94\)90256-9](https://doi.org/10.1016/0091-6749(94)90256-9)
- Daly, J. W., Padgett, W., Creveling, C. R., Cantacuzene, D., & Kirk, K. L. (1981). Cyclic AMP-generating systems: Regional differences in activation by adrenergic receptors in rat brain. *Journal of Neuroscience*, 1(1), 49–59. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.01-01-00049.1981>
- *da Silva, G. B., Vasconcelos, A. G., Rocha, A. M. T., de Vasconcelos, V. R., de Barros, J., Fujishima, J. S., Ferreira, N. B., Barros, E. J. G., & Daher, E. D. F. (2017). Acute kidney injury complicating bee stings – a review. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 59. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201759025>
- DeGrado, W. F., Musso, G. F., Lieber, M., Kaiser, E. T., & Kézdy, F. J. (1982). Kinetics and mechanism of hemolysis induced by melittin and by a synthetic melittin analogue. *Biophysical Journal*, 37(1), 329–338. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(82\)84681-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(82)84681-X)
- Deng, J.-Y., Sun, D., Liu, X.-Y., Pan, Y., & Liang, H. (2010). STAT-3 correlates with lymph node metastasis and cell survival in gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology : WJG*, 16(42), 5380–5387. <https://doi.org/10.3748/wjg.v16.i42.5380>
- DiFrancesco, D., Ducouret, P., & Robinson, R. B. (1989). Muscarinic Modulation of Cardiac Rate at Low Acetylcholine Concentrations. *Science*, 243(4891), 669–671.
- dos Reis, M. A., Costa, R. S., Coimbra, T. M., & Teixeira, V. P. (1998). Acute renal failure in experimental envenomation with Africanized bee venom. *Renal Failure*, 20(1), 39–51. <https://doi.org/10.3109/08860229809045088>
- Drici, M.-D., Diochot, S., Terrenoire, C., Romey, G., & Lazdunski, M. (2000). The bee venom peptide tertiapin underlines the role of IKACH in acetylcholine-induced atrioventricular blocks. *British Journal of Pharmacology*, 131(3), 569–577. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703611>

Durham, S. R., Walker, S. M., Varga, E. M., Jacobson, M. R., O'Brien, F., Noble, W., Till, S. J., Hamid, Q. A., & Nouri-Aria, K. T. (1999). Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *The New England Journal of Medicine*, *341*(7), 468–475. <https://doi.org/10.1056/NEJM199908123410702>

Eržen, R., Košnik, M., Šilar, M., & Korošec, P. (2012). Basophil response and the induction of a tolerance in venom immunotherapy: A long-term sting challenge study. *Allergy*, *67*(6), 822–830. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2012.02817.x>

Fang, F., Kamel, F., Sandler, D. P., Sparén, P., & Ye, W. (2008). Maternal Age, Exposure to Siblings, and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *American journal of epidemiology*, *167*(11), 1281–1286. <https://doi.org/10.1093/aje/kwn056>

França, F. O., Benvenuti, L. A., Fan, H. W., Dos Santos, D. R., Hain, S. H., Picchi-Martins, F. R., Cardoso, J. L., Kamiguti, A. S., Theakston, R. D., & Warrell, D. A. (1994). Severe and fatal mass attacks by „killer" bees (Africanized honey bees--*Apis mellifera scutellata*) in Brazil: Clinicopathological studies with measurement of serum venom concentrations. *The Quarterly Journal of Medicine*, *87*(5), 269–282.

*Friedman, S. L. (2008). Mechanisms of Hepatic Fibrogenesis. *Gastroenterology*, *134*(6), 1655–1669. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2008.03.003>

Gao, T., Yatani, A., Dell'Acqua, M. L., Sako, H., Green, S. A., Dascal, N., Scott, J. D., & Hosey, M. M. (1997). CAMP-Dependent Regulation of Cardiac L-Type Ca²⁺ Channels Requires Membrane Targeting of PKA and Phosphorylation of Channel Subunits. *Neuron*, *19*(1), 185–196. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80358-X](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80358-X)

*Gibb, W. R., & Lees, A. J. (1988). The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, *51*(6), 745–752.

Gmachl, M., & Kreil, G. (1995). The precursors of the bee venom constituents apamin and MCD peptide are encoded by two genes in tandem which share the same 3'-exon. *The Journal of Biological Chemistry*, *270*(21), 12704–12708. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.21.12704>

*Golden, D. B. K. (2005). Insect sting allergy and venom immunotherapy: A model and a mystery. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, *115*(3), 439–447. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.01.005>

Grisotto, L. S. D., Mendes, G. E., Castro, I., Baptista, M. A. S. F., Alves, V. A., Yu, L., & Burdmann, E. A. (2006). Mechanisms of bee venom-induced acute renal failure. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*, *48*(1), 44–54. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.04.016>

Guthrie, G. P. (1995). Angiotensin receptors: Physiology and pharmacology. *Clinical Cardiology*, *18*(S3), 29–34. <https://doi.org/10.1002/clc.4960181507>

*Habermann, E. (1972). Bee and Wasp Venoms. *Science*, *177*(4046), 314–322. <https://doi.org/10.1126/science.177.4046.314>

- Han, S., Park, K., Nicholls, Y., Macfarlane, N., & Duncan, G. (2013). Effects of honeybee (*Apis mellifera*) venom on keratinocyte migration in vitro. *Pharmacognosy Magazine*, 9(35), 220. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.113271>
- Hanson, J. M., Morley, J., & Soria-Herrera, C. (1974). ANTI-INFLAMMATORY PROPERTY OF 401 (MCD-PEPTIDE), A PEPTIDE FROM THE VENOM OF THE BEE *Apis mellifera* (L.). *British Journal of Pharmacology*, 50(3), 383–392. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1974.tb09613.x>
- Hider, R. C., & Ragnarsson, U. (1981). A comparative structural study of apamin and related bee venom peptides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 667(1), 197–208. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(81\)90080-5](https://doi.org/10.1016/0005-2795(81)90080-5)
- Honda, P. discussant: N., & Kurokawa, G. editor: K. (1983). Acute renal failure and rhabdomyolysis. *Kidney International*, 23(6), 888–898. <https://doi.org/10.1038/ki.1983.112>
- Hu, H., Chen, D., Li, Y., & Zhang, X. (2006). Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 58(1), 83–89. <https://doi.org/10.1211/jpp.58.1.0010>
- Chen, M.-H., Chen, J.-C., Tsai, C.-C., Wang, W.-C., Chang, D.-C., Tu, D.-G., & Hsieh, H.-Y. (2005). The role of TGF-beta 1 and cytokines in the modulation of liver fibrosis by Sho-saikoto in rat's bile duct ligated model. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1), 7–13. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.040>
- Chung, E. S., Lee, G., Lee, C., Ye, M., Chung, H., Kim, H., Bae, S. S., Hwang, D.-S., & Bae, H. (2015). Bee Venom Phospholipase A2, a Novel Foxp3+ Regulatory T Cell Inducer, Protects Dopaminergic Neurons by Modulating Neuroinflammatory Responses in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 195(10), 4853–4860. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500386>
- Ip, S.-W., Liao, S.-S., Lin, S.-Y., Lin, J.-P., Yang, J.-S., Lin, M.-L., Chen, G.-W., Lu, H.-F., Lin, M.-W., Han, S.-M., & Chung, J.-G. (2008). The Role of Mitochondria in Bee Venom-induced Apoptosis in Human Breast Cancer MCF7 Cells. *In Vivo*, 22(2), 237–245.
- Ip, S.-W., yung-lin, C., Yao, C.-H., Chen, P.-Y., Ho, H.-C., Yang, J.-S., Huang, H.-Y., Chueh, F.-S., Lai, T.-Y., & Chung, J.-G. (2011). Bee venom induces apoptosis through intracellular Ca²⁺-modulated intrinsic death pathway in human bladder cancer cells. *International journal of urology: official journal of the Japanese Urological Association*, 19, 61–70. <https://doi.org/10.1111/j.1442-2042.2011.02876.x>
- Jaarsma, D., Haasdijk, E. D., Grashorn, J. A. C., Hawkins, R., van Duijn, W., Verspaget, H. W., London, J., & Holstege, J. C. (2000). Human Cu/Zn Superoxide Dismutase (SOD1) Overexpression in Mice Causes Mitochondrial Vacuolization, Axonal Degeneration, and Premature Motoneuron Death and Accelerates Motoneuron Disease in Mice Expressing a Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Mutant SOD1. *Neurobiology of Disease*, 7(6), 623–643. <https://doi.org/10.1006/nbdi.2000.0299>

- Jang, M.-H., Shin, M.-C., Lim, S., Han, S.-M., Park, H.-J., Shin, I., Lee, J.-S., Kim, K.-A., Kim, E.-H., & Kim, C.-J. (2003). Bee Venom Induces Apoptosis and Inhibits Expression of Cyclooxygenase-2 mRNA in Human Lung Cancer Cell Line NCI-H1299. *Journal of Pharmacological Sciences*, *91*(2), 95–104. <https://doi.org/10.1254/jphs.91.95>
- Jasani, B., Kreil, G., Mackler, B. F., & Stanworth, D. R. (1979). Further studies on the structural requirements for polypeptide-mediated histamine release from rat mast cells. *Biochemical Journal*, *181*(3), 623–632.
- Jeong, Y.-J., Cho, H.-J., Whang, K., Lee, I.-S., Park, K.-K., Choe, J.-Y., Han, S.-M., Kim, C.-H., Chang, H.-W., Moon, S.-K., Kim, W.-J., Choi, Y. H., & Chang, Y.-C. (2012). Melittin has an inhibitory effect on TNF- α -induced migration of human aortic smooth muscle cells by blocking the MMP-9 expression. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, *50*(11), 3996–4002. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.026>
- Jin, W., & Lu, Z. (1998). A Novel High-Affinity Inhibitor for Inward-Rectifier K⁺ Channels. *Biochemistry*, *37*(38), 13291–13299. <https://doi.org/10.1021/bi981178p>
- Jo, M., Park, M. H., Kollipara, P. S., An, B. J., Song, H. S., Han, S. B., Kim, J. H., Song, M. J., & Hong, J. T. (2012). Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *258*(1), 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.10.009>
- Jung, M. K., Ha, S., Son, J.-A., Song, J. H., Houh, Y., Cho, E., Chun, J. H., Yoon, S. R., Yang, Y., Bang, S. I., Kim, M., Park, H. J., & Cho, D. (2012). Polyphenon-60 displays a therapeutic effect on acne by suppression of TLR2 and IL-8 expression via down-regulating the ERK1/2 pathway. *Archives of Dermatological Research*, *304*(8), 655–663. <https://doi.org/10.1007/s00403-012-1249-x>
- Kim, H., Keum, D. J., Kwak, J. won, Chung, H.-S., & Bae, H. (2014). Bee venom phospholipase A2 protects against acetaminophen-induced acute liver injury by modulating regulatory T cells and IL-10 in mice. *PloS One*, *9*(12), e114726. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114726>
- Kim, J.-Y., An, H.-J., Kim, W.-H., Park, Y.-Y., Park, K. D., & Park, K.-K. (2017). Apamin suppresses biliary fibrosis and activation of hepatic stellate cells. *International Journal of Molecular Medicine*, *39*(5), 1188–1194. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.2922>
- Kim, S.-J., Park, J.-H., Kim, K.-H., Lee, W.-R., Chang, Y.-C., Park, K.-K., Lee, K.-G., Han, S.-M., Yeo, J.-H., & Pak, S. C. (2010). Bee Venom Inhibits Hepatic Fibrosis Through Suppression of Pro-Fibrogenic Cytokine Expression. *The American Journal of Chinese Medicine*, *38*(05), 921–935. <https://doi.org/10.1142/S0192415X10008354>
- Kim, S.-J., Park, J.-H., Kim, K.-H., Lee, W.-R., Kim, K.-S., & Park, K.-K. (2011). Melittin inhibits atherosclerosis in LPS/high-fat treated mice through atheroprotective actions. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, *18*(12), 1117–1126. <https://doi.org/10.5551/jat.8474>

- Köhler, M., Hirschberg, B., Bond, C. T., Kinzie, J. M., Marrion, N. V., Maylie, J., & Adelman, J. P. (1996). Small-Conductance, Calcium-Activated Potassium Channels from Mammalian Brain. *Science*, 273(5282), 1709–1714. <https://doi.org/10.1126/science.273.5282.1709>
- Kumar, N. V., Wemmer, D. E., & Kallenbach, N. R. (1988). Structure of P401 (mast cell degranulating peptide) in solution. *Biophysical Chemistry*, 31(1), 113–119. [https://doi.org/10.1016/0301-4622\(88\)80015-2](https://doi.org/10.1016/0301-4622(88)80015-2)
- Lamy, C., Goodchild, S. J., Weatherall, K. L., Jane, D. E., Liégeois, J.-F., Seutin, V., & Marrion, N. V. (2010). Allosteric block of KCa2 channels by apamin. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(35), 27067–27077. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.110072>
- Lauterwein, J., Brown, L. R., & Wüthrich, K. (1980). High-resolution ¹H-NMR studies of monomeric melittin in aqueous solution. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 622(2), 219–230. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90033-1)
- Lee, M.-T., Sun, T.-L., Hung, W.-C., & Huang, H. W. (2013). Process of inducing pores in membranes by melittin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(35), 14243–14248. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307010110>
- Lee, W.-R., Park, J.-H., Kim, K.-H., Park, Y.-Y., Han, S.-M., & Park, K. (2011). Protective effects of melittin on transforming growth factor-β1 injury to hepatocytes via anti-apoptotic mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256(2), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.08.012>
- Lim, H. N., Baek, S. B., & Jung, H. J. (2019). Bee Venom and Its Peptide Component Melittin Suppress Growth and Migration of Melanoma Cells via Inhibition of PI3K/AKT/mTOR and MAPK Pathways. *Molecules*, 24(5), 929. <https://doi.org/10.3390/molecules24050929>
- Liss, B., Haeckel, O., Wildmann, J., Miki, T., Seino, S., & Roeper, J. (2005). K-ATP channels promote the differential degeneration of dopaminergic midbrain neurons. *Nature Neuroscience*, 8(12), 1742–1751. <https://doi.org/10.1038/nn1570>
- McCord, J. M., & Fridovich, I. (1969). Superoxide Dismutase. *Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049–6055. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63504-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63504-5)
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., & Stadlan, E. M. (1984). Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*, 34(7), 939–944. <https://doi.org/10.1212/wnl.34.7.939>
- McLachlan, J. B., Shelburne, C. P., Hart, J. P., Pizzo, S. V., Goyal, R., Brooking-Dixon, R., Staats, H. F., & Abraham, S. N. (2008). Mast cell activators: A new class of highly effective vaccine adjuvants. *Nature Medicine*, 14(5), 536–541. <https://doi.org/10.1038/nm1757>
- Meiler, F., Klunker, S., Zimmermann, M., Akdis, C. A., & Akdis, M. (2008). Distinct regulation of IgE, IgG4 and IgA by T regulatory cells and toll-like receptors. *Allergy*, 63(11), 1455–1463. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2008.01774.x>

- Mingarro, I., Pérez-Payá, E., Pinilla, C., Appel, J. R., Houghten, R. A., & Blondelle, S. E. (1995). Activation of bee venom phospholipase A2 through a peptide-enzyme complex. *FEBS Letters*, 372(1), 131–134. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(95\)00964-B](https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00964-B)
- Moolenaar, W. H. (1999). Bioactive Lysophospholipids and Their G Protein-Coupled Receptors. *Experimental Cell Research*, 253(1), 230–238. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4702>
- Ni, Y., Wang, T., Zhuo, X., Song, B., Zhang, J., Wei, F., Bai, H., Wang, X., Yang, D., Gao, L., & Ma, A. (2013). Bisoprolol reversed small conductance calcium-activated potassium channel (SK) remodeling in a volume-overload rat model. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 384(1–2), 95–103. <https://doi.org/10.1007/s11010-013-1785-5>
- Nishimura, K., Alhenc-Gelas, F., White, A., & Erdös, E. G. (1980). Activation of membrane-bound kallikrein and renin in the kidney. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 77(8), 4975–4978.
- Okada, M., Kozaki, I., & Honda, H. (2020). Antidepressive effect of an inward rectifier K⁺ channel blocker peptide, tertiapin-RQ. *PloS One*, 15(11), e0233815. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233815>
- Okamoto, T., Isoda, H., Kubota, N., Takahata, K., Takahashi, T., Kishi, T., Nakamura, T. Y., Muromachi, Y., Matsui, Y., & Goshima, K. (1995). Melittin Cardiotoxicity in Cultured Mouse Cardiac Myocytes and Its Correlation with Calcium Overload. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 133(1), 150–163. <https://doi.org/10.1006/taap.1995.1136>
- *Oršolić, N. (2012). Bee venom in cancer therapy. *Cancer and Metastasis Reviews*, 31(1), 173–194. <https://doi.org/10.1007/s10555-011-9339-3>
- Othon, C. M., Kwon, O.-H., Lin, M. M., & Zewail, A. H. (2009). Solvation in protein (un)folding of melittin tetramer–monomer transition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), 12593–12598. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905967106>
- Pandidan, S., & Mechler, A. (2019). Nano-viscosimetry analysis of the membrane disrupting action of the bee venom peptide melittin. *Scientific Reports*, 9(1), 10841. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47325-y>
- Park, J.-H., Kim, K.-H., Kim, S.-J., Lee, W.-R., Lee, K.-G., Park, J.-H., & Park, K.-K. (2010). Effect of bee venom on transforming growth factor-beta1-treated hepatocytes. *International Journal of Toxicology*, 29(1), 49–56. <https://doi.org/10.1177/1091581809353948>
- Park, M. H., Choi, M. S., Kwak, D. H., Oh, K.-W., Yoon, D. Y., Han, S. B., Song, H. S., Song, M. J., & Hong, J. T. (2011). Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF-κB. *The Prostate*, 71(8), 801–812. <https://doi.org/10.1002/pros.21296>
- Parkinson, J. (1817). *An essay on the shaking palsy*. 1817, 84.

Patel, D., Kuyucak, S., & Doupnik, C. A. (2020). Structural Determinants Mediating Tertiapin Block of Neuronal Kir3.2 Channels. *Biochemistry*, *59*(7), 836–850. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.9b01098>

Pease, J. H. B., & Wemmer, D. E. (1988). Solution structure of apamin determined by nuclear magnetic resonance and distance geometry. *Biochemistry*, *27*(22), 8491–8498. <https://doi.org/10.1021/bi00422a029>

*Pucca, M. B., Cerni, F. A., Oliveira, I. S., Jenkins, T. P., Argemí, L., Sørensen, C. V., Ahmadi, S., Barbosa, J. E., & Laustsen, A. H. (2019). Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. *Frontiers in Immunology*, *10*, 2090. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02090>

Rehm, H., & Lazdunski, M. (1988). Purification and subunit structure of a putative K⁺-channel protein identified by its binding properties for dendrotoxin I. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *85*(13), 4919–4923. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.13.4919>

Salthun-Lassalle, B., Hirsch, E. C., Wolfart, J., Ruberg, M., & Michel, P. P. (2004). Rescue of mesencephalic dopaminergic neurons in culture by low-level stimulation of voltage-gated sodium channels. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *24*(26), 5922–5930. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.5668-03.2004>

Scott, D. L., White, S. P., Otwinowski, Z., Yuan, W., Gelb, M. H., & Sigler, P. B. (1990). Interfacial catalysis: The mechanism of phospholipase A₂. *Science*, *250*(4987), 1541–1546. <https://doi.org/10.1126/science.2274785>

Schumacher, M. A., Rivard, A. F., Bächinger, H. P., & Adelman, J. P. (2001). Structure of the gating domain of a Ca²⁺-activated K⁺ channel complexed with Ca²⁺/calmodulin. *Nature*, *410*(6832), 1120–1124. <https://doi.org/10.1038/35074145>

Simmerman, H. K., Collins, J. H., Theibert, J. L., Wegener, A. D., & Jones, L. R. (1986). Sequence analysis of phospholamban. Identification of phosphorylation sites and two major structural domains. *Journal of Biological Chemistry*, *261*(28), 13333–13341. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69309-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69309-3)

Sousa, P. C. P., Brito, T. S., Freire, D. S., Ximenes, R. M., Magalhães, P. J. C., Monteiro, H. S., Alves, R. S., Martins, A. M. C., Toyama, D. O., Toyama, M. H., Sousa, P. C. P., Brito, T. S., Freire, D. S., Ximenes, R. M., Magalhães, P. J. C., Monteiro, H. S., Alves, R. S., Martins, A. M. C., Toyama, D. O., & Toyama, M. H. (2013). Vasoconstrictor effect of Africanized honeybee (*Apis mellifera* L.) venom on rat aorta. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, *19*. <https://doi.org/10.1186/1678-9199-19-24>

Sun, M., Liu, C., Nadiminty, N., Lou, W., Zhu, Y., Yang, J., Evans, C. P., Zhou, Q., & Gao, A. C. (2012). Inhibition of Stat3 activation by sanguinarine suppresses prostate cancer cell growth and invasion. *The Prostate*, *72*(1), 82–89. <https://doi.org/10.1002/pros.21409>

- Teshima, K., Kim, S. H., & Allen, C. N. (2003). Characterization of an apamin-sensitive potassium current in suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuroscience*, *120*(1), 65–73. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(03\)00270-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(03)00270-7)
- Tigerstedt, R., & Bergman, P. Q. (1898). Niere und Kreislauf. *Skandinavisches Archiv Für Physiologie*, *8*(1), 223–271. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1898.tb00272.x>
- Tu, W.-C., Wu, C.-C., Hsieh, H.-L., Chen, C.-Y., & Hsu, S.-L. (2008). Honeybee venom induces calcium-dependent but caspase-independent apoptotic cell death in human melanoma A2058 cells. *Toxicon*, *52*(2), 318–329. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2008.06.007>
- Urasaki, T., Takasaki, J., Nagasawa, T., & Ninomiya, H. (2000). Induction of the activation-related antigen CD69 on human eosinophils by type IIA phospholipase A2. *Inflammation Research*, *49*(4), 177–183. <https://doi.org/10.1007/s000110050578>
- Vick, J. A., Shipman, W. H., & Brooks, R. (1974). Beta adrenergic and anti-arrhythmic effects of cardiopep, a newly isolated substance from whole bee venom. *Toxicon*, *12*(2), 139–142. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(74\)90237-2](https://doi.org/10.1016/0041-0101(74)90237-2)
- Vowels, B. R., Yang, S., & Leyden, J. J. (1995). Induction of proinflammatory cytokines by a soluble factor of *Propionibacterium acnes*: Implications for chronic inflammatory acne. *Infection and Immunity*, *63*(8), 3158–3165. <https://doi.org/10.1128/IAI.63.8.3158-3165.1995>
- *Wehbe, R., Frangieh, J., Rima, M., El Obeid, D., Sabatier, J.-M., & Fajloun, Z. (2019). Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *24*(16). <https://doi.org/10.3390/molecules24162997>
- Welker, S., Markert, Y., Köditz, J., Mansfeld, J., & Ulbrich-Hofmann, R. (2011). Disulfide bonds of phospholipase A2 from bee venom yield discrete contributions to its conformational stability. *Biochimie*, *93*(2), 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.09.012>
- Westwood, S. A., & Perry, S. V. (1981). The effect of adrenaline on the phosphorylation of the P light chain of myosin and troponin I in the perfused rabbit heart. *Biochemical Journal*, *197*(1), 185–193. <https://doi.org/10.1042/bj1970185>
- Whipple, G. H., Cooke, J. V., & Stearns, T. (1917). PROTEOSE INTOXICATIONS AND INJURY OF BODY PROTEIN. *The Journal of Experimental Medicine*, *25*(3), 479–494.
- Xu, Y., Tuteja, D., Zhang, Z., Xu, D., Zhang, Y., Rodriguez, J., Nie, L., Tuxson, H. R., Young, J. N., Glatter, K. A., Vázquez, A. E., Yamoah, E. N., & Chiamvimonvat, N. (2003). Molecular identification and functional roles of a Ca²⁺-activated K⁺ channel in human and mouse hearts. *The Journal of Biological Chemistry*, *278*(49), 49085–49094. <https://doi.org/10.1074/jbc.M307508200>
- Yalcin, M., Aydin, C., & Savci, V. (2009). Cardiovascular effect of peripheral injected melittin in normotensive conscious rats: Mediation of the central cholinergic system. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *81*(5), 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2009.10.001>

Yang, E. J., Jiang, J. H., Lee, S. M., Yang, S. C., Hwang, H. S., Lee, M. S., & Choi, S.-M. (2010). Bee venom attenuates neuroinflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models. *Journal of Neuroinflammation*, 7(1), 69. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-69>

Ye, M., Chung, H.-S., Lee, C., Yoon, M. S., Yu, A. R., Kim, J. S., Hwang, D.-S., Shim, I., & Bae, H. (2016). Neuroprotective effects of bee venom phospholipase A2 in the 3xTg AD mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroinflammation*, 13, 10. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0476-z>

Yu, L., & Dennis, E. A. (1991). Critical role of a hydrogen bond in the interaction of phospholipase A2 with transition-state and substrate analogues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(20), 9325–9329.

Zhao, Z.-L., Zhao, H.-P., Ma, G.-J., Wu, C.-W., Yang, K., & Feng, X.-Q. (2015). Structures, properties, and functions of the stings of honey bees and paper wasps: A comparative study. *Biology Open*, 4(7), 921–928. <https://doi.org/10.1242/bio.012195>

Zheng, J., Lee, H. L., Ham, Y. W., Song, H. S., Song, M. J., & Hong, J. T. (2015). Anti-cancer effect of bee venom on colon cancer cell growth by activation of death receptors and inhibition of nuclear factor kappa B. *Oncotarget*, 6(42), 44437–44451. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6295>

*Ziai, M. R., Russek, S., Wang, H.-C., Beer, B., & Blume, A. J. (1990). Mast Cell Degranulating Peptide: A Multi-functional Neurotoxin. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 42(7), 457–461. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1990.tb06595.x>

Internetové zdroje:

[online]. [cit. 2.5.2021] Dostupné z: <https://www.reviewofophthalmology.com/article/fight-fire-with-fire-with-immunotherapy>

[online]. [cit. 2.5.2021] Dostupné z: <https://www.rcsb.org/3d-view/1POC/1>

8. Příloha

1. Tabulka – Hlavní složky včelího jedu a jejich biologický efekt

Třída molekul	Složka	Zastoupení v sušině (%)	Koncentrace (nM) v bodnutí	Biologický efekt
Malé bílkoviny a peptidy	Melittin; biologicky aktivní peptid	40-50	10-12	26 AMK; hlavní biologicky aktivní složka; zvýšení aktivity PLA2; cytotoxické účinky proti rakovinovým buňkám; protizánětlivé a antiartritické účinky; membránově aktivní, snižuje povrchové napětí membrán; protizánětlivý ve velmi malých dávkách; stimuluje hladké svaly; zvyšuje kapilární propustnost, zvyšuje krevní oběh a snižuje krevní tlak, snižuje srážení krve, imunostimulační a imunosupresivní účinky; radiační ochrana ovlivňuje centrální nervový systém; protirakovinné, antibakteriální, protiplísňové, antivirové; vyšší dávky jsou zánětlivé a hemolytické
	Apamin; biologicky aktivní peptid	2-3	0,75	18 AMK; inhibice Ca ²⁺ -aktivovaného K ⁺ kanálu; cytotoxický účinek proti rakovině; nociceptivní účinek; protizánětlivé vlastnosti; protizánětlivě stimulující uvolňování kortizonu, antiserotoninová reakce; zvyšuje obranyschopnost; imunosupresor, stimuluje centrální nervový systém ve velmi malých dávkách; vyšší dávky neurotoxické

	MCD peptid (Mast cell degranulating peptide 401)	2-3	0,6	22 AMK; protizánětlivý a analgetický účinek; uvolňování histaminu (při nízkých dávkách); inhibice uvolňování histaminu (při vysokých dávkách); antialergický účinek; lýza žírných buněk, uvolňující histamin, serotonin a heparin; účinek podobný melittinu zvyšující kapilární propustnost; protizánětlivý; stimuluje centrální nervový systém
	Adolapin; biologicky aktivní peptid	0,5-1	0,06	Inhibice aktivity PLA2 a cyklooxygenázy; protizánětlivá aktivita; inhibuje specifické mozkové enzymy cyklooxygenázu a lipooxygenázu; snižuje záněty, antirevmatické, snižuje bolest; inhibují agregaci erytrocytů; relativně nízká toxicita
	Inhibitor proteáz; biologicky aktivní peptid	0,1-0,8	0,07	Inhibitor proteázy; biologicky aktivní peptidy inhibují aktivitu různých proteáz, jako je trypsin, chymotrypsin, plazmin, trombin, čímž snižují zánět, antirevmatikum; nízká toxicita
	Tertiapin	0,1	0,03	21 AMK; blokování pronikání draslíku do buňky
	Kardiopep	<0,7		Antiarytmické účinky
	Minimin	2-3		Působí na hmyz paralyticky

Bílkoviny (enzymy)	Fosfolipáza A2; enzym hydrolyzující fosfolipidy	10-12	0,23	Cytotoxické účinky proti rakovinovým buňkám; zánětlivé účinky; protinádorové účinky; ničí fosfolipidy a rozpouští buněčnou membránu krevních těles; snižuje srážlivost krve a krevní tlak; nejsilnější alergen a tedy nejškodlivější složka včelího jedu
	Hyaluronidáza; katalyzuje hydrolyzu kyseliny hyaluronové	1,5-2	0,03	Selektivně napadá polymery kyseliny hyaluronové v tkáních, zvyšuje propustnost kapilár; imunitní odpověď a vlastnosti šíření tkání; antigenní; katalyzuje hydrolyzu proteinů, čímž umožňuje pronikání včelího jedu do tkáně; rozšiřuje krevní cévy a zvyšuje jejich propustnost, což zvyšuje cirkulaci krve; alergenní
	Alkalická fosfatáza	1		
	α -Glucosidáza	0,6		
	Lysofosfolipáza	1	0,03	
Fyziologicky aktivní aminy	Histamin; Dopamin; Noradrenalin	0,5-2; 0,13- 1; 0,1-0,7	5-10; 2,7- 5,5; 0,9-4,5	Rozšiřuje krevní cévy, zvyšuje propustnost krevních kapilár a zvyšuje krevní oběh; stimuluje hladké svaly; alergenní
Aminokyseliny	Kyselina γ - aminomáselná	1		
	α - aminokyseliny	0,5		
Cukry	Glukóza, Fruktóza	2-4		
Minerály	P, Ca, Mg	3-4		
Těkavé látky	Isoamylacetát	4-8		Předpokládá se, že ovlivňují bolestivost místa po včelím bodnutí

Převzato a upraveno z Oršolíć, 2012.