

Kompleksna sestava in učinki strupa medonosne čebele - od anafilaksije do toksičnosti

Complex composition and effects of the honeybee venom - from anaphylaxis to toxicity

Katarina Černe

Povzetek: Medonosno čebelo (*Apis mellifera*) uporabljajo čebelarji po vsem svetu; zato je najpogostejša čebelja vrsta, ki lahko piči človeka. Razen takojšnje bolečine in rahle otekline, čebelji pik običajno mine brez resnih posledic. Smrt in klinično pomembne posledice so zelo redke in so skoraj vedno posledica anafilaktičnega šoka ali posledične zadušitve zaradi otekline grla in neprehodnih dihalnih poti. Manj običajno je smrt posledica toksičnega učinka zaradi velikega števila sočasnih čebeljih pikov, in sicer od več sto do več tisoč pikov. Ledvična odpoved in srčnožilni zapleti so najbolj resne posledice neposredne toksičnosti strupa. Ker je strup medonosne čebele mešanica številnih biološko aktivnih sestavin, je pomembno poznati ne samo učinke celega strupa, ampak tudi posamičnih sestavin. Glavna sestavina strupa je citotoksični polipeptid melitin (~50 %). V strupu je tudi nevrotoksični polipeptid apamin. Najpomembnejši encim in obenem glavni alergen je fosfolipaza A₂. Za otroke predstavlja veliko število sočasnih čebeljih pikov večjo nevarnost kot za odrasle. Specifičnega zdravljenja ni.

Ključne besede: strup medonosne čebele; sestava; anafilaksija; toksičnost; melitin

Abstract: The honeybee (*Apis mellifera*), is used throughout the world by beekeepers; therefore is the bee species most commonly involved in stinging accidents. Beside immediate pain and slight swelling, usually the bee sting has no serious consequence. Death or clinically important incidents are rare and most often are caused by anaphylactic shock or pharyngeal edema and respiratory obstruction. Less commonly, death occurs from the toxic effects of massive envenomation involving hundreds to thousands of stings. Renal failure and cardiovascular complications are most serious events due to direct toxicity. As the venom of honeybees is a mixture of many biologically active components, it is of interest to know the effects of individual components. The main venom component is cytotoxic polypeptide melittin (~50 %). Another polypeptide of the venom is neurotoxic apamin. The most important enzyme and allergen is phospholipase A₂. Children are risk-patients in multiple stinging events. Currently no specific therapy is available.

Keywords: honeybee venom; composition; anaphylaxis; toxicity; melittin

1 Uvod

Strup medonosne čebele je zmes raznolikih bioaktivnih snovi, kot so polipeptidi, hidrolitični encimi in nizkomolekularne organske snovi. Različne sestavine strupa mnogokrat izzovejo nasprotujoče si učinke (1, 2, 3, 4). Zato je pomembno poznati učinke posameznih sestavin strupa, ker lahko iz tega sklepamo na kompleksnost delovanja vseh sestavin strupa. Strup pri čebeljem piku lahko povzroči dve vrsti nezaželenega odziva (a) alergično reakcijo od nekaj minut do 1 ure po piku in (b) toksično reakcijo, ki se pojavi po več sočasnih pikih in nastopi v nekaj urah, medtem ko lahko smrt nastopi tudi šele po več dneh (5, 6, 7, 8). Redko pa nastane še tretji tip nepredvidljive, kasne reakcije, ki se odraža kot miokardni infarkt (9, 10). Histamin, ki se sprošča iz endogenih zalog, tako pri alergični kot pri toksični reakciji vpliva na funkcije različnih organov. Pri ožilju vpliva na tonus žil in repustnost žilne stene (4). Toksičnost strupa za kardiovaskularni in

živčni sistem je opisana pri ljudeh in ugotovljena na poskusnih živalih (7, 11, 12, 13). Čeprav je v literaturi opisanih veliko primerov napadov čebel na človeka ali hišne živali, pa je znanstvena literatura o specifičnih vplivih na ljudi in mehanizmih toksičnosti relativno redka.

2 Medonosna čebela

Medonosno čebelo (*Apis mellifera*) uvrščamo v družino čebel (Apidae), kamor spadajo tudi čmrlji. Skupaj z osami, sršeni in mravljami spadajo v red kožokrilcev (Hymenoptera). Med prave medonosne čebele prištevamo več evropskih podvrst kot so slovenska avtohtona kranjska čebela (*A. m. carniolica*) (Slika 1), italijanska čebela (*A. m. ligustica*), kavkaška čebela (*A. m. caucasica*), temna čebela (*A. m. mellifera*) in makedonska čebela (*A. m. macedonica*). Izven Evrope med medonosne čebele štejemo afriško čebelo (*A. m. adansonii*) in afrikanizirano čebelo (*A. m. scutellata*) (14). Slednja je dobila vzdevek

čebela ubijalka "killer bee", ker je poznana po številnih množičnih napadih na ljudi s hudim ali celo smrtnim izidom, predvsem pri otrocih (7, 15). Afrikanizirana čebela je nastala s križanjem afriške in evropske čebele in je razširjena v Južni Ameriki, čeprav se meja vedno bolj pomika proti severu in sega v ZDA. Je zelo agresivna in že majhna motnja lahko sproži masovni napad. Njen napad traja dalj kakor pri drugih podvrstah, tudi do 30 minut. Poleg tega je v napad vključenih več čebel hkrati. V nasprotju z afrikanizirano je kranjska čebela miroljubna in piči le, ko se brani. Čebela pusti želo s strupenim mešičkom v koži, sama pa umre. Čebele žive v kolonijah s približno 40 000 delavkami (14).



Slika 1: *Appis mellifera carniolica*.

Figure 1: *Appis mellifera carniolica*.

Preglednica 1: Sestava nehlapnega dela strupa čebele.

Table 1: Composition of the non-volatile part of bee venom.

sestavina čebeljega strupa	% suhe teže celotnega strupa	delovanje
POLIPEPTIDI		
melitin	50	citotoksičnost, relaksacija oz. krčenje žil, depolarizacija in skrčenje mišic, kardioksičnost (veže se na membrano, sproži metabolizem membranskih fosfolipidov, povzroči nastanek membranskih por, micelinizacijo, detergentsko delovanje)
apamin	2	nevrotoksičnost (inhibitor od Ca ²⁺ odvisnih K ⁺ kanalčkov majhne prevodnosti)
mastocyte-degranilirajoči peptid (MCD)	2	sproščanje histamina iz mastocitov, hipotenzija (nizek odmerek), kratkodobna ekscitacija osrednjega živčevja s krči (visok odmerek) (inhibitor napetostno odvisnih K ⁺ kanalčkov)
minimin	3	zavre razvoj vrst <i>Drosophila</i>
HIDROLITIČNI ENCIMI		
hialuronidaza	3	alergeno delovanje z anafilaktičnim šokom; razgradnja beljakovin (odpre poti za delovanje drugih sestavin strupa)
fosfolipaza A ₂	12	alergeno delovanje z anafilaktičnim šokom; hidroliza strukturnih fosfolipidov (membrane, mitohondrijev, sestavin celice)
NIZKOMOLEKULARNE ORGANSKE SNOVI		
histamin	1,5	širjenje ožilje, krčenje gladkih mišic (bronhijev, tankega črevesa, maternice), izločanje eksokrinih žlez, nevrotansmitor v centralnem živčnem sistemu
dopamin	1	nevrotansmitor v centralnem živčnem sistemu
noradrenalin	0,7	nevrotansmitor simpatičnega živčevja, nevrotansmitor v centralnem živčnem sistemu
druge sestavine	5,5

3 Sestava in delovanje čebeljega strupa

Čebelji strup je kompleksna mešanica različnih bioaktivnih snovi (>20 že določenih), s katerimi se čebela brani pred različnimi sovražniki. Sestava nehlapnega dela čebeljega strupa je prikazana v tabeli 1. Poleg nehlapnega dela strupa, vsebuje strup v strupnem mešičku 88 % vode in od 4 do 8 % hlapnih sestavin (feromonov) (3). Glavna sestavina strupa je polipeptid melitin, glavni alergen pa je fosfolipaza A₂. Sestava strupa je pri različnih podvrstah medonosne čebele enaka. Glede vsebnosti fosfolipaze A₂ in histamina so ugotovili sezonske in s starostjo čebele povezane razlike. Vsebnost fosfolipaze A₂ je pri afrikanizirani čebeli višja kot pri evropski čebeli (6, 16).

4 Toksikološke lastnosti strupa medonosne čebele

4.1 Eksperimentalni podatki

Letalni odmerek strupa in njegovih sestavin

Vrednost letalnega odmerka (LD₅₀) za celoten strup je pri miškah 3,1 mg/kg, sc. oz. 1,75 mg /kg, iv. Miške takoj dobijo konvulzije, ki v nekaj minutah vodijo v smrt. Letalni odmerek celega strupa je pri evropskih podvrstah in pri afrikanizirani čebeli enak, medtem ko je letalni odmerek za indijsko čebelo (*A. indica*) dvakrat nižji. Letalni odmerek pri

miškah, *iv*, je za melitin je 3,5 mg/kg, za apamin 4 mg/kg in za fosfolipazo A₂ pa 7,5 mg/kg. Višji je letalni odmerek za mastocite-degranulirajoči peptid (MCD), več kot 40 mg/kg pri miškah, *iv*, čeprav močna cianoza nastopi pri podgani že pri odmerku 0,5 mg/kg, *iv*. Raziskave na poskusnih živalih so pokazale, da toksična reakcija celega strupa vključuje številne kompleksne fiziološke procese, ki so navedeni v predglednici 1. Kot kaže imajo živali vsaj dva obrambna mehanizma, ki jih varujeta pred toksičnostjo strupa, padec temperature in reakcijo kožnih mastocitov (3, 4, 6, 16).

Učinki melitina na celične membrane in transport ionov

Melitin je amfifilni polipeptid zgrajen iz 28 aminokislin. Deluje na celično membrano in povzroči spremembe membranske organiziranosti in prepustnosti ter poruši ionsko homeostazo celice. Značilen učinek melitina je razkroj celične membrane (litičnost), za katerega primarni mehanizem še ni pojasnjen. Zaradi pozitivno nabitega C-konca molekule se melitin veže na negativno nabite fosfolipide v membrani in vpliva na električne lastnosti ekscitabilnih tkiv. V nizkih koncentracijah melitin najprej ali sproži metabolizem membranskih lipidov ali tvori začasne difuzijske motnje, zaradi katerih se poveča prevodnost membrane za Na⁺ in Cl⁻. V srednjih koncentracijah tvori anionsko selektivne pore. Višje koncentracije povzročajo reverzibilno micelizacijo, kar privede do razpada membrane (detergentsko delovanje). Hemolizo v poskusih *in vitro* povzroča pri koncentraciji > 1 µg/ml. Prek vezave na membrano vpliva tudi na delovanje membranskih encimov in proteinov, npr. fosfolipaze A₂, Na⁺/K⁺-ATPaze, Na⁺/Ca²⁺ izmenjevalnega sistema, Ca²⁺/kaldmodulina, encima kinaze lahkih verig (17). Ker melitin deluje preko različnih mehanizmov, lahko s tem razložimo različne učinke na različne vrste celic. Vsaka prizadeta celica se odzove na specifičen način odvisno od koncentracije melitina in trajanje izpostavljenosti ter od fiziološkega oz. patološkega stanja celice.

Toksični učinki celega strupa in melitina na srčnožilni sistem

Celoten strup učinkuje na srčnožilni sistem, kjer povzroča hipotenzijo pri mačkah in podganah, spremembe EKG zapisa pri podgani (zvišanje vala T in znižanje veznice ST) in prenehanje spontanega bitja primarne kulture srčnomišičnih celic miške. Pri poskusu na srčnomišičnih celicah sprva strup sicer prehodno poviša utrip, nato pa ga zmanjša do popolnega prenehanja. Obenem strup povzroči morfološko degeneracijo srčnomišičnih celic. Enak učinek kot cel strup je imel tudi melitin. Poskusi s fosfolipazo A₂ so pokazali, da ta ne vpliva na kontraktilnost in na morfološke spremembe srčnomišičnih celic. Zato predpostavljajo, da je melitin tista sestavina v strupu, ki je odgovorna za toksičnost za srčnomišične celice. Predlagan mehanizem je povišanje znotrajceličnega kalcija. Melitin vpliva na Na⁺/Ca²⁺ izmenjevalni sistem in povzroči, da začne delovati v obratni smeri, tako da Ca²⁺ ioni ne izstopajo iz celice ampak se v celici kopičijo. Bepriidil, inhibitor Na⁺/Ca²⁺ izmenjevalnega sistema, je popolnoma zaščitil mišje srčnožilne celice pred vplivi melitina (1).

Melitin izzove krčenje oz. relaksacijo žile, kar je odvisno od koncentracije melitina oz. od organa (3). Melitin izzove začasno relaksacijo izolirane aorte pri podgani ter zajcu in mezenterične arterije pri zajcu (18, 19, 20). Relaksacija žile vključuje predvsem mehanizme,

ki so odvisni od endoteljskih celic. Mehanizmi so odvisni od posameznega tipa žile in od živalske vrste. Vedno je prisotna od endoteljskih celic odvisna relaksacija, ki poteka prek dušikovega oksida. Pri mezenterični arteriji zajca je relaksacija delno odvisna od aktivacije fosfolipaze A₂ v endoteljski celici. Pri nekaterih tipih žil relaksacija poteka preko gladkih mišic, vendar mehanizmi še niso raziskani (19). Višja koncentracija melitina, pri kateri pride do morfološke degeneracije endoteljskih celic, povzroči krčenje izolirane aorte pri podgani (18).

Toksični učinki apamina

Apamin je bazični polipeptid zgrajen iz 18 aminokislin. V nasprotju z melitinom, deluje zelo specifično saj je inhibitor od Ca²⁺ odvisnih K⁺ kanalčkov majhne prevodnosti (SK). Inhibicija SK kanalov zavre izstopanje K⁺ ionov iz celice in s tem onemogoči hiperpolarizacijo membrane. Učinkuje kot nevrotoksin. Pri miškah so opazili, da odmerek 1mg/kg apamina močno moti koordinacijo kateri so sledili krči. Apamin tudi okrepi polisinaptične reflekse in poveča število ekscitatornih prilivov ter s tem aktivacijo večjega števila motoričnih enot. Čeprav je mehanizem delovanja različen, je klinična slika po intraduralni aplikaciji apamina in tetanus toksina na miškah podobna (nekoordinirani gibi repa, zadnje strani telesa in smrt), le da je delovanje apamina hitrejše. Miške, ki so preživele letalni odmerek apamina, so ostale hiperekscitabilne do 60 ur. Histopatološki pregled je izključil možnost poškodbe mišic ali perifernih živcev in potrdil centralno delovanje apamina (3, 12). S pomočjo apamina kot inhibitorja SK kanalov, ugotavljajo vlogo teh kanalov v centralnem živčnem sistemu. Tako so ugotovili, da SK kanali igrajo pomembno vlogo pri natančni notranji nastavitvi vzdražnih lastnosti nevronov in pri odgovoru na živčni impulz, ki pripotuje do sinapse (21). SK kanali igrajo pomembno vlogo tudi pri relaksaciji, ki poteka preko od endotelija odvisnega hiperpolarizacijskega faktorja (EDHF). Zato apamin kot inhibitor SK kanalov zavre relaksacijo žile. Mehanizem EDHF še ni razjasnjen (22).

Toksični učinki mastocite-degranulirajočega peptida (MCD)

Peptid MCD je bazični polipeptid zgrajen iz 22 aminokislin. Po strukturi je bolj podoben apaminu kot melitinu. Ime je dobil po svoji osnovnem učinku, to je degranulaciji mastocitov. Zato ga tudi uvrščamo med "48/80-podobne" snovi, kamor sodijo neimunološki sproščevalci mediatorjev vnetja iz mastocitov (npr. peptidi, citokini, lektini) (23). 10 µg peptida MCD zniža krvni pritisk pri podgani, verjetno zaradi sprostitve histamina. Višji odmerki povzročijo kratkodnelujočo vzdražnost s krči. Peptid MCD je tudi inhibitor napetostno odvisnih kalijevih kanalov (ugotovljena je selektivnost za Kv1 in Kv6) (24). Kv kanali imajo glavno vlogo pri določanju mirovnega membranskega potenciala. Njihova inhibicija lahko vodi v žilna obolenja kot so hipertenzija ter krč (25). Vpliv peptida MCD na žilna obolenja pa še ni preučen.

Toksični učinki fosfolipaze A₂

Strupi različnih živali vsebujejo fosfolipazo A₂. Fosfolipaze A₂ v čebeljem strupu se po aktivnosti razlikuje od tiste v strupu kač (26). Čebelja fosfolipaza A₂ deluje sinergistično z melitinom, tako da katalizira hidrolizo fosfolipidov v celični membrani. Če je membrana intaktna, sama fosfolipaza A₂ ne more začeti razkroja membrane. Zato

potrebuje melitin, ki encimu omogoči dostop do substrata. Melitin pa lahko deluje tudi sam, čeprav prisotni razgradni produkti fosfolipidov, njegove učinke na membrano še povečajo. Ker so fosfolipidi gradbeni deli celične membrane in celičnih organelov, njihova razgradnja privede do odpovedi celičnih funkcij. Produkti razgradnje fosfolipidov so lizofosfolipidi, ki kot melitin razkroje celično membrano (npr. lizofosfatidilholin) in arahidonska kislina. Metaboliti arahidonske kisline kot so leukotrieni in prostaglandini, so mediatorji vnetnih reakcij. (3, 5, 14).

Posredni učinki strupa

Posamezne sestavine strupa lahko posredno delujejo tako, da povzročijo sproščanje endogenih snovi, med drugimi tudi histamina iz mastocitov in tako pride do enakih posledic kot pri alergiji (13, 14). Degranulacijo mastocitov povzroči peptid MCD (15, 27). Tudi melitin lahko sam ali skupaj s fosfolipazo A₂ poškoduje membrano mastocitov in ravno tako privede do sproščanja histamina. Pri preprečevanju toksičnih učinkov je zato pomembna sposobnost celic, da privzamejo histamin ter s tem končajo njegov učinek. Predvsem celice v osrednjem živčevju, ravno tako pa tudi endotelijske celice so sposobne privzeti histamin (28, 29, 30). Melitin poškoduje membrano tudi pri drugih vrstah celic, kot so (a) levkociti ter njihovih lizosomi iz katerih se sprostijo encimi; (b) trombociti iz katerih se sprostijo serotonin ter (c) prečnoprogaste mišične celice iz katerih se sprostijo kalijeve ioni ter organski in anorganski fosfati (3).

4.2 Lastne raziskave

Ker so srčnožilni zapleti poleg ledvične odpovedi najbolj resni in življenjsko nevarni, predvsem v primeru večkratnih pikov, smo naše raziskave usmerili v učinke čebeljega strupa na srčnožilni sistem. Zanimal nas je odziv venčne arterije in mehanizmi, ki privedejo do odziva. Ugotovili smo, da čebelji strup povzroči krčenje venčne arterije v koncentracijskem območju od 0,35 do 70 µg/ml. Preskuse smo naredili na izolirani žili. Kot model smo izbrali levo sprednjo descendentno koronarno arterijo (LAD) pri prašiču, ki z oksigenirano krvjo oskrbuje velik del srca (31). Koncentracijsko območju pri katerem je strup v *in vitro* poskusih krčil LAD je v sorazmerju z najvišjo koncentracijo strupa (3,7 µg/ml) v krvi pacienta, ki ga je napadel roj afrikaniziranih čebel. Istočasno so pri pacientu med drugim ugotovili hipertenzijo, po nekaj dneh pa je umrl (5). Ugotovili smo tudi, da kalcijev antagonist lacidipin delno zavre krčenje LAD, ki ga izzove strup (31).

5 Škodljivi učinki čebeljega strupa za človeka

Učinki čebeljega strupa se glede na število pikov razlikujejo in so prikazani v preglednici 2 (4, 5). Količina strupa, ki ga vbrizga evropska medonosna čebela je 147 µg/pik (tudi primeri do 300 µg/pik), medtem ko afrikanizirana čebela, ki je nekoliko manjša, vbrizga tudi manj strupa, to je 94 µg/pik (6). Količina strupa je pri čebelah delavkah najvišja v poletnih mesecih, ko je panj na višku aktivnosti in ga stražijo relativno mlade čebele. Najvišja izmerjena koncentracija strupa, ki so jo določili pri 13-letnem bolniku 2 uri po napadu afrikaniziranih čebel, je 3,8 µg/ml v serumu in 1,2 µg/ml v urinu. Nivo fosfolipaze A₂ je bil pri istem bolniku 0,81 µg/ml v serumu in 0,2 µg/ml v urinu. Pet-krat nižji

nivo fosfolipaze A₂ glede na cel strup je v skladu z njeno vsebnostjo v strupu. Če izmerjen nivo strupa preračunamo na celokupno količino strupa v krvi ugotovimo, da se je po več kot 1000 pikih (iz kože so potegnili 800 žel) absorbiralo v sistemski krvni obtok 27.36 mg strupa. To pomeni, da je bila absorpcija 29 % (7).

Najpogostejši škodljiv učinek čebeljega strupa pri človeku je alergična reakcija. Stopnja alergične reakcije je zelo različna od rahlega neugodja do anafilaktičnega šoka, pri katerem je pogost smrten izid (5). Zelo redki so primeri bolnikov, ko manj kot 10 čebeljih pikov povzroči nekrozo srčne mišice, ki jo spremljajo prehodne motnje EKG (znižanje/zvišanje ST veznice) s sinusno tahikardijo. Mehanizem tega škodljivega učinka ni pojasnjen. Lahko bi bila nekroza srčne mišice posledica močnega krča koronarne arterije ali /in sekundarne in situ tromboze, katere nastanek pospeši nagel padec krvnega tlaka (9, 10). Čebelji strup lahko podaljšuje protrombinski čas, aktiviran parcialni protrombinski čas in zmanjšuje število trombocitov (7, 32). Prehodne motnje EKG so lahko posledica lokalnih učinkov strupa na žile, kardiotoksičnosti strupa ali anafilaktične reakcije (6, 9, 11, 33). Pri velikem številu sočasnih pikov strup povzroči sistemsko toksičnost, lahko tudi s smrtnim izidom. Pri otrocih je manj jasno določeno najmanjše število pikov, ki že lahko povzroči sistemsko toksičnost (5, 8, 14). Pri pikih čebel, in sicer tako po nekaj sočasnih pikih kot po masovnih pikih, sta ledvična odpoved in srčnožilni učinki najbolj resna in življenjsko nevarna zapleta (5, 11). Za bolečino pri piku je odgovoren melitin (6).

Preglednica 2: Učinki čebeljega strupa glede na število pikov.

Table 2: Effects of bee venom in relation to the number of stings.

Število pikov	Učinek
1-10	alergična reakcija z možnostjo anafilaktičnega šoka, ko je pogost smrten izid (smrt: nekaj minut < 1 ura)
30-50	direktna toksična reakcija s smrtnim izidom pri otrocih
ca. 50	sistemska toksičnost
100-200	direktna toksična reakcija s smrtnim izidom pri starejših
ca. 500	direktna toksična reakcija s smrtnim izidom pri odraslih (smrt: nekaj ur – nekaj dni)

5.1 Anafilaksija

Najpogosteje je smrtni izid pri čebeljem piku posledica s protitelesi IgE povzročene takojšnje preobčutljivosti. Pogostost preobčutljivostnih reakcij po pikih žuželk se razlikuje od države do države. Pri približno 0,15 do 4 % populacije strup kožekrilcev povzroči sistemsko anafilaksijo; nižji odstotek je v krajih, ki leže v zmerno toplem pasu. Zaradi anafilaksije v ZDA vsako leto umre 20 do 50 ljudi. Za Evropo tovrstnih verodostojnih podatkov ni. Za Dansko poročajo o enem, za Nemčijo pa o desetih smrtnih primerih na leto (14). Skoraj 75% ljudi doživi ponovitev sistemske alergijske reakcije ob piku enake vrste žuželke. V primeru, da je bila predhodna reakcija le lokalna, se sproži sistemski alergijski odziv ob ponovnem piku pri 5-10% ljudi. Čebelji pik spada med dejavnike tveganja za sistemsko alergijsko reakcijo. Drugi

dejavniki tveganja so kratek interval med dvema pikoma z enakim insektom, manj kot 25 pikov na leto, huda sistemska reakcija ob predhodnem pikju, pridružene srčnožilne bolezni ali mastocitoza in zdravljenje z beta blokatorji. Tveganje za anafilaktično reakcijo po pikju insekta je manjše pri otrocih (34). Smrt običajno nastopi zaradi hipotenzije, laringealnega edema ali zaradi bronhokonstrikcije, in sicer v času od nekaj minut do 1 ure. Glavna dokazana alergena v čebeljem strupu sta fosfolipaza A₂ in hialuronidaza (14). Vloga melitina, apamina in peptida MCD v alergični reakciji ni razjasnjena (4).

5.2 Direktna toksičnost

Odkar je afrikanizirana čebela ušla leta 1957 iz laboratorija v Braziliji, se število primerov direktne toksičnosti strupa zaradi množičnih napadov teh čebel povečuje. Vsako leto zabeležijo več kot 100 napadov, med katerimi se nekateri končajo tudi s smrtnim izidom. Napadajo pa lahko tudi evropska čebela, vendar le če jo dovolj izzivamo. Kadar čebela napada najraje piči v glavo ali vrat. Za sistemske toksičnosti pri odraslem človeku je potrebnih 50 ali več pikov (5, 7, 15, 16, 17). Čeprav se večinoma toksični učinki pokažejo v nekaj urah po pikih (nekateri tudi v nekaj minutah), so včasih zakasneli in se pojavijo tudi po več kot 24 urah (7, 8, 17). Smrt običajno nastopi do 22 ur po pikih, včasih pa tudi po več kot 10 dneh (16, 17). Ocenjujejo, da je LD₅₀ za človeka količina strupa, ki se v telo vnese s do več kot 1000 pikov (5, 16). Pri starejših ljudeh so opisani primeri smrti že po 100 do 200 pikih (8, 16).

V primerih z masovnim pikju čebel (od > 200 do > 1000 pikov) so opisani naslednji toksični učinki: akutna ledvična odpoved, hemoliza in homeostatske motnje (ikterus, sistemske krvavitve), rabdomioliza, hipertenzija in poškodbe miokarda, sindrom dihalne stiske pri odraslem (ARDS), motnje v delovanju jeter, nevrološki učinki (konvulzije, motnje zavesti, koma) in lokalni učinki (edem, hemoragične nekroze). Vzrok za toksične učinke pripisujejo predvsem citotoksičnemu učinku melitina in fosfolipaze A₂. Posledica njunega delovanja so poškodbe različnih tkiv (skeletna mišica = rabdomioliza, srčna mišica, ledvični tubuli, jetra), hemoliza in lokalni učinki (hemoragična nekroza kože). Učinke

na osrednje živčevje pripisujejo delovanju melitina in apamina, ki lahko preideja krvno-možgansko pregrado. Lahko pa nastanejo tudi kot posledica hipoksije, hipovolemije in anafilaktičnega šoka (5, 6, 7, 8).

Odpoved ledvične funkcije z akutno tubularno nekrozo je dobro poznana posledica pri primerih z več sočasnimi pikji. Težko ločimo ali je odpoved posledica direktne toksičnosti strupa za ledvične tubule ali je posledica rabdomiolize in hemolize. Ne moremo tudi izključiti, da je ledvična odpoved lahko posledica močne hipotenzije preden bolnika sprejmejo v bolnico (5, 6, 7, 8).

Intravaskularna hemoliza je glavni učinek v večini primerov z več sočasnimi pikji. V večini primerov je bilo težko razlikovati med hemoglobinurijo in mioglobinurijo. Našli so dokaze o direktni intravaskularni hemolizi (neodvisni od komplementa) in methemoglobinemiji. Pri mnogih bolnikih je hemoliza vodila v anurijo, nezavest in smrt po 1 do 3 dnevih (5, 7).

Generalizirana rabdomioliza je tudi ena od glavnih toksičnih učinkov strupa. Pri bolnikih so našli mioglobin v krvi in urinu, povišani vrednosti kreatin-fosfokinaze in aspartat-aminotransferaze v serumu ter histopatološke dokaze o rabdomiolizi (5, 6, 7, 8).

Kardiovaskularne nenormalnosti kot sta hipertenzija in/ali histološki dokazi o subendokardialnem infarktu, so opisani v več primerih. Vzrok zanje so lahko sproščeni endogeni kateholamini, kar je posledica razgradnje celične membrane s pomočjo melitina in fosfolipaze A₂. Poleg tega melitin povzroča krčenje mišic (5, 7, 9, 10, 11, 33).

ARDS /pljučni edem s histološkim videzom hialine membrane je omenjen v nekaterih primerih. Sindrom se lahko razvije zaradi samega šoka ali zaradi toksičnih učinkov strupa na membrane pljučnih kapilar, in sicer direktno ali preko levkocitoze (5, 7).

Poškodbe jeter so sicer bolj znan toksičen učinek strupa os in sršenov, čeprav lahko nastane tudi kot posledica toksičnega učinka strupa čebel. Pri bolnikih so našli dokaze o nekrozi hepatocitov in povišan indirektni bilirubin. K tovrstnim spremembam lahko prispeva tudi šok. Sistemske krvavitve, katere so opazili pri nekaterih bolnikih zaradi

Preglednica 3: Shema nujne medicinske pomoči pri pikju čebele (5).

Table 3: Scheme of emergency treatment after bee sting.

Status	Nujno simptomatično zdravljenje	Protistrup
Slabost, bolečine v trebuhu, diareja, urtikaria, angionevrotski edem, bronhospazm, arterielna hipotenzija (sistemska alergična reakcija).	<ul style="list-style-type: none"> • Ukrepi ob generalizirani alergični reakciji. 	N
Močan lokalni edem (močna lokalna alergična reakcija).	<ul style="list-style-type: none"> • Ukrepi ob lokalni alergični reakciji. 	I
Močan lokalni edem – hipovolemija – hipovolemični šok (povečana prepustnost kapilar na določenem območju).	<ul style="list-style-type: none"> • Ukrepi ob hipovolemiji / hipovolemični šok. 	N
Večkratni pik Ikterus, obarvan urin, akutna ledvična odpoved (hemoliza).	<ul style="list-style-type: none"> • Ukrepi ob hemolizi, eventualno transfuzija. • Preprečitev / ukrepi ob akutni ledvični odpovedi. 	A
Večkratni pik Mišična bolečina (spontano ali ob aktivnem / pasivnem gibanju), obarvan urin, spremembe EKG, mišična nemoč (rabdomioliza)	<ul style="list-style-type: none"> • Ukrepi ob hiperkalemiji. • Preprečitev / ukrepi ob akutni ledvični odpovedi. • Ukrepi ob respiratorni insuficienci / respiratorni odpovedi. • Endotrahealna intubacija in umetna ventilacija. 	V O L J O

motenj v strjevanju krvi, so lahko posledica pomanjkanja koagulacijskih faktorjev zaradi poškodbe jeter (5,6,7).

6 Ukrepi

Osnovni ukrepi so v preglednici 3 in se razlikujejo glede na težo stanja in ali gre za imunsko ali toksično reakcijo. V obeh primerih pa moramo najhitreje odstraniti čebelje želo, da preprečimo nadaljnjo izpostavljenost strupu. Strup se skoraj popolnoma sprazni iz strupnega mešička v 20 do 30 sekundah po pikju. Če žela ne odstranimo v manj kot 1 minuti po pikju, s tem ne zmanjšamo vnos strupa v telo, preprečimo pa lokalni učinek strupa kot je poškodba na koži in tako zboljšamo bolnikovo počutje (6).

Pri anafilaktični reakciji na čebelji strup so ukrepi enaki kot pri drugih alergenih. Glede na stopnjo anafilaksije uporabimo antihistaminike, glukokortikoide, adrenalin, nadziramo in vzdržujemo življenske funkcije. Pri bolnikih, ki so alergični na čebelji strup, lahko izvajamo specifično imunoterapijo. Bolnike, ki jo potrebujejo, izberemo na osnovi podatkov o stopnji alergijske reakcije ter verjetnosti, da bo prišlo do ponovnega pika (6, 34).

Pri toksični reakciji bolnik potrebuje zelo intenzivne ukrepe. Protistrupa ni na voljo. Zaradi sprostite velikih količin histamina, uporabimo enaka zdravila kot pri anafilaksiji. Predvsem moramo okrepiti izločanje urina (furosemid, iv) ob intenzivni hidraciji, da zmanjšamo verjetnost z rbdomiolozo povzročene odpovedi delovanja ledvic. Hemofiltracija in hemodializa prideta v poštev v primeru akutne odpovedi ledvične funkcije. Zdravljene s kortikosteroidi je koristno v primeru nefrotskega sindroma. Za zdravljenje hiperkateholaminskega sindroma dajemo prazosin in nifedipin. Za bolnika, pri katerem se zelo kmalu po številnih pikih pojavijo resni učinki, prideta v poštev izmenjevalna transfuzija in plazmafereza. Antibiotike dajemo za preprečevanje infekcije kože na mestih z večim številom pikov. Z medicinsko oskrbo lahko prežive tudi bolniki, katere je napadlo več kot 1000 čebel (5, 6, 7, 8).

7 Sklep

Pri čebeljih pikih moramo ločiti alergično reakcijo od toksične. Pri anafilaktični reakciji na čebelji strup so ukrepi enaki kot pri drugih alergenih. Največje tveganje pri anafilaktični reakciji predstavljajo srčnožilne bolezni, mastocitoza in zdravljenje z beta blokatorji. Toksična reakcija nastane po več sočasnih pikih. Kadar pride do toksične reakcije zaradi velikega števila pikov je simptomatično zdravljenje večkrat neuspešno. Problem učinkovitega zdravljenja je kompleksna sestava čebeljega strupa. Glavno vlogo pri toksični reakciji igrajo direktni učinki melitina, peptida MCD in fosfolipaze A₂ na celično membrano. Tako vplivajo na celične funkcije, povzročijo celično smrt ali sproščanje endogenih snovi iz celic. Toksičnost čebeljega strupa predstavlja največje tveganje za otroke in starejše osebe. Pri čebeljih pikih je glaven problem, da za inaktivacijo njegovih toksičnih učinkov nimamo protistrupa.

8 Literatura

1. Okamoto T, Isoda H, Kubota K, et al. Melittin cardiotoxicity in cultured mouse cardiac myocytes and its correlation with calcium overload. *Toxicol Applied Pharmacol* 1994; 133: 150-163.
2. Waldron GJ, Cole WC. Activation of vascular smooth muscle K⁺ channels by endothelium-derived relaxing factors. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999; 26: 180-184.
3. Habermann E. Bee and wasp venoms. *Science* 1972; 177: 314-322.
4. O'Connor R, Peck ML. Venoms of apidae. In: *Arthropod venoms*. Berlin: Springer Verlag; 1978: 613-659.
5. Junghans T, Bodio M. *Notfall-Handbuch Gifttiere*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 1996: 165-177.
6. Vetter RS, Vischer PK, Camazine S. Mass envenomation by honey bees and wasps. *WJM* 1999; 170: 223-227.
7. Franca FOS, Benvenuti HW, Fan DR, et al. Severe and fatal mass attacks by 'killer' bees (Africanized honey bees - *Apis mellifera scutellata*) in Brazil: clinicopathological studies with measurement of serum venom concentrations. *Quarterly Journal of Medicine* 1994; 87: 269-282.
8. Betten DP et al. Massive honey bee envenomation-induced rhabdomyolysis in an adolescent. *Pediatrics* 2006; 117: 231-5.
9. Massing JL et al. [Myocardial infarction following a bee sting. Apropos of a case and review of the literature]. *Annale de Cardiologie et d'Angeiologie (Paris)* 1997; 46: 311-5.
10. Ceyhan C, Ertugrul E, Tarkan T, et al. Myocardial infarction following a bee sting. *International Journal of Cardiology* 2001; 80: 251-253.
11. Gueron M, Ilija R, Margulis G. Arthropod poisons and the cardiovascular system. *The American Journal of Emergency Medicine* 2000; 18: 95.
12. Habermann E. Neurotoxicity of apamin and MCD peptide upon central application. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1977; 300: 189-91.
13. Liu NK, Zhang YP, Tittsworth WL, et al. A novel role of phospholipase A(2) in mediating spinal cord secondary injury. *Ann Neurol* 2006; 23: 67-78.
14. Mebs D. *Venomous and Poisonous Animals*. Boca Raton: CRC Press; 2002. p. 209-218.
15. Tayler OR. Health problems associated with African bee. *Annals Int Med* 1986; 104: 267.
16. Jones RGA, Corteling RL, Bhogal G, Landon J. A novel Fab-based antivenom for the treatment of mass bee attacks. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 1999; 61: 361-366.
17. Kourie JI, Shorthouse AA. Properties of cytotoxic peptide-formed ion channels. *AJP Cell Physiology* 2000; 278: C1063-1087.
18. Rapoport RM, Ashraf M, Murad F. Effects of melittin on endothelium-dependent relaxation and cyclic GMP levels in rat aorta. *Circulation research* 1986; 64: 463-472.
19. Hutcheson IR, Griffith TM. Role of phospholipase A2 and myoendothelial gap junctions in melittin-induced arterial relaxation. *Europ J Pharmac* 2000; 406: 239-245.
20. Forstermann U, Burgwitz K, Frolich JC. Effects of nonsteroidal phospholipase inhibitors and glucocorticoids on endothelium-dependent relaxations of rabbit aorta induced by different agents. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 1987; 10: 356-64.
21. Bond CT, Maylie J, Adelman JP. SK channels in excitability, pacemaking and synaptic integration. *Current Opinion in Neurobiology* 2005; 15: 305-11.
22. Rang HP et al. *Pharmacology*, sixth edition. Churchill Livingstone: London, 2007: 299-300.
23. Ferjan I. Regulatorna vloga Ca²⁺ ionov pri sproščanju mediatorjev vnetja iz mastocitov. *Farmaceutski vestnik* 2009; 60: 165-68.
24. Schmidt K, Eulitz D, Veh RW et al. Heterogeneous expression of voltage-gated potassium channels of the *shaker* family Kv1 in oligodendrocyte progenitors. *Brain Research* 1999; 843: 14-60.
25. Shimizu S, Yoshikiki H, Sperelakis N, et al. Role of voltage-dependent and Ca(2+)-activated K(+) channels on the regulation of isometric force in porcine coronary artery. *Journal of Vascular Research* 2000; 37: 16-25.
26. Jerman B, Pungercar J. Sekretorne fosfolipaze A₂ in njihova (pato)fiziološka vloga. *Farmaceutski vestnik* 2008; 59: 9-15.
27. Buku A, Price JA, Mendlowitz M, Masur S. Mast cell degranulating peptides binds to RBL-2H3 mast cell receptors and inhibits IgE binding. *Peptides* 2001; 22: 1993-1998.
28. Krzan M, Schwartz JP. Histamine transport in neonatal and adult astrocytes. *Inflamm Res* 2006; 55: Suppl: S36-37.
29. Černe K, Irman-Florjanc T, Kržan M. Histamine uptake into human vascular endothelial cells and influence of three different antidepressant drugs. *Inflammation Research Suppl* 2008; 57: 37-8.

30. Lewis Baenziger N, Mack P, Jong I, Dalemar LR, et al. An Environmentally Regulated Receptor for Diamine Oxidase Modulates Human Endothelial Cell/Fibroblast Histamine Degradative Uptake. *The Journal of Biological Chemistry* 1994; 269: 14892-14898.
31. Černe K, Drevenšek G, Budihna MV. 2000. Lacidipine decreases the honey bee venom-induced vasoconstriction of the isolated porcine coronary artery. *Pflugers archiv* 2000; 440; Suppl: R139-140.
32. Ashley JR, Otero H, Aboulafia DM. Bee envenomation: a rare cause of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Southern Medical Journal* 2003; 96:588-91.
33. Magadle R *et al.* [Acute myocardial infarction after honeybee sting]. *Harefuah* 2000; 138: 543-5, 614.
34. Žitnik ES. Zgodnja imunoterapija alergijskih bolezni. In: Mitja Košnik ed. *Zgodnja terapija alergijskih bolezni: Zagotavljanje kakovosti v alergologiji*. Ljubljana, Slovensko zdravniško društvo. Alergološka in imunološka sekcija; 2006: 8-9.