

**Ένα μυστικό των μελισσών αποκαλύπτεται:
Έκκριση και χρήσης της 2-επτανόνης ως τοπικού αναισθητικού ενάντια σε
μικρόσωμους εχθρούς.
Επίδραση στα θηλαστικά και πιθανή εφαρμογή στην ιατρική***

Αλέξανδρος Παπαχριστοφόρου
Γεωπόνος – Διδάκτορας Μελισσοκομίας Α.Π.Θ.
Εργαστήριο Εξέλιξης, Γονιδιώματος και Διαφοροποίησης των Ειδών
(L.E.G.S. - C.N.R.S.)

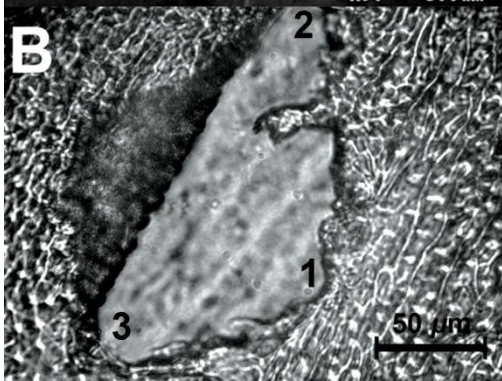
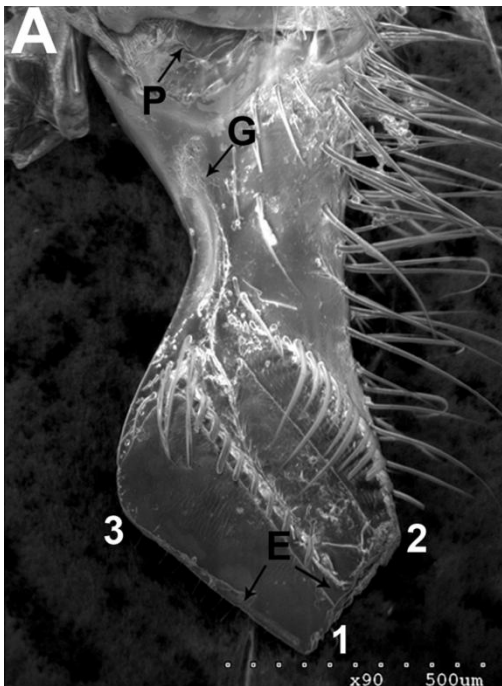


Είναι γνωστό και γενικά αποδεκτό ότι η χημική επικοινωνία, μέσω των φερομονών, παίζει πρωτεύοντα ρόλο στη δομή και τη λειτουργία του μελισσιού. Οι περισσότερες φερομόνες (αν όχι όλες) που εκκρίνονται από τις μέλισσες έχουν ταυτοποιηθεί και ο ρόλος τους έχει εξηγηθεί. Μία από αυτές τις ουσίες, είναι η 2-επτανόνη.

Η 2-επτανόνη εκκρίνεται από τους σιαγονικούς αδένες των μελισσών. Η συγκέντρωσή της αυξάνεται με την ηλικία των εργατριών και το μέγιστο παρατηρείται σε φρουρούς και συλλέκτριες. Πρόκειται για μία πτητική κετόνη η οποία (όπως πιστευόταν για πάνω από μισό αιώνα) προκαλεί συναγερμό και επιθετικότητα. Κυρίαρχη άποψη δηλαδή ήταν πως όταν μία μέλισσα απειληθεί (για παράδειγμα μία φρουρός στην είσοδο της κυψέλης) εκκρίνει τη 2-επτανόνη η οποία προκαλεί την “επιστράτευση” άλλων μελισσών για να αμυνθούν ενάντια στο δυνητικό εχθρό. Είναι όμως έτσι τα πράγματα;

Παρά το ότι η πιο πάνω υπόθεση παρέμενε ως κυρίαρχη, κάποιες σχετικά πρόσφατες έρευνες, έδειξαν πως η 2-επτανόνη δεν προκαλεί την επιστράτευση εργατριών κατά την άμυνα. Διάφοροι άλλοι ρόλοι προτάθηκαν γι’ αυτή την ουσία, όπως για παράδειγμα τη δράση της ως φερομόνης “αποτροπής”: μία συλλέκτρια μέλισσα τοποθετεί την 2-επτανόνη σε ένα άνθος που έχει ήδη επισκεφτεί και η οσμή της αποτρέπει άλλες συλλέκτριες από το να το επισκεφτούν ξανά. Και αυτή η εξήγηση όμως τέθηκε υπό αμφισβήτηση λόγω της μεγάλης πτητικότητας της 2-επτανόνης γεγονός που δεν θα την παραμονή της σε ένα άνθος παρά για ελάχιστο

επέτρεπε χρόνο.
Θέλοντας υπόθεση,
την κίνηση επτανόνη 0.1 – 1000 εργατριών)

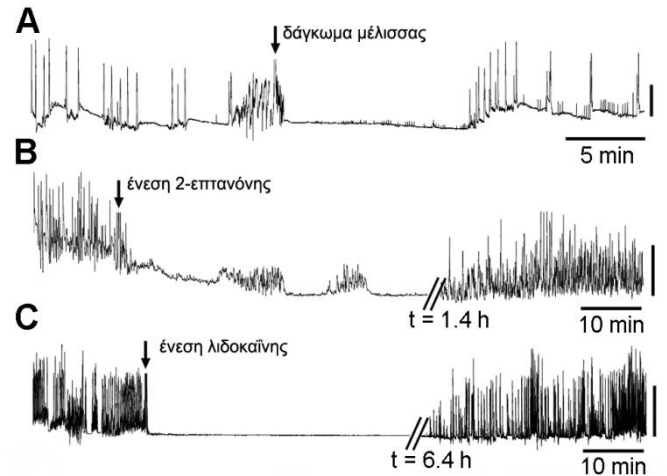


Εικόνα 1.
A: Η στο [] εκκρίνεται η τα άκρα της B: [] δάγκωμα 3) [] που μέλισσας.

αρχικά να μελετήσουμε το αν ευσταθεί η κυρίαρχη ότι δηλαδή η 2-επτανόνη δρα ως φερομόνη συναγερμού, χρησιμοποιήσαμε ηλεκτρονικές βάσεις παρατήρησης οι οποίες μπορούσαν να καταγράφουν των μελισσών στις εισόδους των κυψελών. Η 2- που εφαρμόστηκε στη σανίδα πτήσης, σε δόσεις από μL, δεν προκάλεσε κανένα συναγερμό (επιστράτευση και καμία αύξηση της επιθετικότητας (έλεγχος ρυθμού κεντρισμάτων με κινούμενους δερμάτινους στόχους).

εσωτερική πλευρά της σιαγόνας της μέλισσας όπως φαίνεται ηλεκτρονικό μικροσκόπιο P: Ο πόρος από τον οποίο 2-επτανόνη, G: το κανάλι (“λουκι”) μέσα από το οποίο ρέει, E: σιαγόνας που βυθίζονται στο σώμα ενός εχθρού. Φωτογραφία του εξωσκελετού του κηρόσκωρου μετά από μέλισσας. Διακρίνεται η τριγωνική οπή και οι τρεις κορυφές (1-αντιστοιχούν στα σημεία 1-3 στην εικόνα 1A της σιαγόνας της

Αν όμως η 2-επτανόνη δεν δρα ως φερομόνη επιθετικότητας τότε ποιος ο ρόλος της κατά την αμυντική συμπεριφορά του μελισσιού; Γιατί αποδεδειγμένα η 2-επτανόνη εκκρίνεται και ανιχνεύεται πριν ή κατά την άμυνα μιας εργάτριας ενάντια σε ένα δυνητικό ή πραγματικό εχθρό. Και σίγουρα η έκκριση της σχετίζεται με τις άνω σιαγόνες της μέλισσας, τις οποίες σιαγόνες, η μέλισσα τις χρησιμοποιεί κατά την άμυνα για να δαγκώσει μικρόσωμους εχθρούς που δεν μπορεί να κεντρίσει (όπως τις λάρβες του κηρόσκωρου ή τη βαρρόα) ή για να κυνηγάει και να δαγκώνει εχθρούς αφού χάσει το κεντρί της, μέχρι τη στιγμή που θα πεθάνει.



Μία προσεκτική παρατήρηση της μορφολογία των σαγονιών της μέλισσας σε σχέση με την έκκριση της 2-επτανόνης (εικόνα 1A), παρουσιάζει τα ακόλουθα ενδιαφέροντα: Η ουσία εκκρίνεται από ένα πόρο στο πάνω μέρος της σιαγόνας και ρέει μέσω ενός “καναλιού” στα σχετικά κοφτερά κάτω άκρα της σιαγόνας. Από πειράματα και καταγραφές, διαπιστώσαμε πως όταν μία εργάτρια δαγκώσει μία μικρή λάρβα κηρόσκωρου (μέγεθος 0.001-0.002 γρ.) τα σαγόνια της μπορούν να διαπεράσουν το εξωσκελετό της, προκαλώντας μικρές τριγωνικές οπές (εικόνα 1B). Το εντυπωσιακό στο όλο πείραμα ήταν το γεγονός πως αφού μία μέλισσα δάγκωνε έναν κηρόσκωρο, ο τελευταίος παρέμενε αναισθητοποιημένος για ένα χρονικό διάστημα που διαρκούσε από 1-9 λεπτά. Αφού μελετήσαμε και απορρίψαμε την υπόθεση πως η αναισθησία οφειλόταν σ’ αυτό καθ’ αυτό το δάγκωμα, θελήσαμε να δούμε αν οφείλεται στην 2-επτανόνη. Χρησιμοποιώντας GC-MS ανάλυση εντοπίσαμε την ουσία στην αιμόλεμφο όλων των δαγκωμένων και αναισθητοποιημένων λαρβών γεγονός που απέδειξε ότι αυτή εισερχόταν στο σώμα τους μέσω των οπών από το δάγκωμα. Η ουσία δεν ανιχνεύτηκε σε λάρβες-μάρτυρες (που δεν είχαν δαγκωθεί) και σε λάρβες που είχαν επανέλθει από την αναισθησία. Πειράματα με καταγραφή του κινητικού ρυθμού της λάρβας του κηρόσκωρου και της επίδραση δαγκώματος από μέλισσα ή απ’ ευθείας ένεσης 2-επτανόνης στο σώμα του, έδειξε πως πραγματικά η ουσία αυτή προκαλούσε τοπική αναισθησία η οποία μάλιστα είχε παρόμοια δράση με το τοπικό αναισθητικό που χρησιμοποιείται ευρύτατα στην ιατρική, τη λιδοκαΐνη (εικόνα 2).

Εικόνα 2.

A: Καταγραφή του κινητικού ρυθμού του κηρόσκωρου, της παύσης (αναισθητοποίησης) που προκαλείται μετά από δάγκωμα μέλισσας και της επαναφοράς.

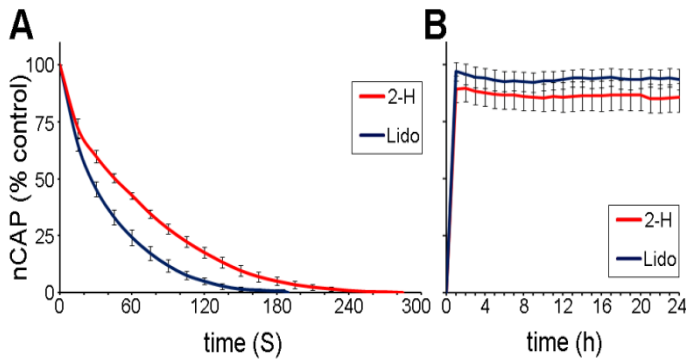
B: Καταγραφή του κινητικού ρυθμού του κηρόσκωρου, της παύσης (αναισθητοποίησης) που προκαλείται μετά από ένεση 2-επτανόνης και η επαναφορά.

C: Καταγραφή του κινητικού ρυθμού του κηρόσκωρου, της παύσης (αναισθητοποίησης) που προκαλείται μετά από ένεση λιδοκαΐνης και η επαναφορά.

Τα πιο πάνω αποτελέσματα δείχνουν πως η μέλισσα, μπορεί να δαγκώσει ένα μικρόσωμο εχθρό, να εκχύσει 2-επτανόνη μέσα στο σώμα του και να προκαλέσει τοπική αναισθησία που διαρκεί λίγα λεπτά, γεγονός που επιτρέπει την άνετη απομάκρυνση του στη συνέχεια από την κυψέλη. Με απλά λόγια, το δάγκωμα των μελισσών κατά μία έννοια προσομοιάζει στο δάγκωμα του φιδιού ή στο κέντρισμα της αράχνης. Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και με την καταγραφή του αντανεκλαστικού βαρύτητας της βαρρόα πριν και μετά την απόθεση 2-επτανόνης στο σώμα της. Ποσότητες πάνω από 0.025 μL της ουσίας μπορούσαν να προκαλέσουν αποδιοργάνωση του ρυθμού ενώ ποσότητες 0.061 μL ήταν επαρκείς για να προκαλέσουν τη θανάτωση του ακάρεος, γεγονός που ίσως να εξηγεί σε μεγάλο βαθμό την ικανότητα μελισσών να θανατώνουν τη βαρρόα δαγκώνοντάς την.

Οι ομοιότητες που παρουσίασαν οι καταγραφές της 2-επτανόνης και της λιδοκαΐνης κατά την εφαρμογή της και την καταγραφή του κινητικού ρυθμού του κηρόσκωρου, μας ώθησαν στο να μελετήσουμε την πιθανή επίδρασή της στα θηλαστικά.

Σε πρώτη φάση, πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε κυτταρικό επίπεδο στις ΗΠΑ, έδειξαν πως η 2-επτανόνη μπορούσε να μπλοκάρει τους διαύλους ιόντων νατρίου με τρόπο που προσομοιάζε στη δράση της λιδοκαΐνης, γεγονός που αποτέλεσε την πρώτη ένδειξη για πιθανές αναισθητικές ιδιότητες αυτής της ουσίας και στα θηλαστικά. Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας το ισχιακό νεύρο αρουραίων, αποδείχθηκε ότι η 2-επτανόνη μπορούσε να μηδενίσει το σύνθετο δυναμικό ενέργειας του νεύρου (εικόνα 3) όπως και η λιδοκαΐνη. Οι διαφορές ήταν ελάχιστες: η 2-επτανόνη μηδενίζει το σύνθετο δυναμικό ενέργειας σε περίπου 222 δευτερόλεπτα, παρουσιάζοντας μια καθυστέρηση 70 περίπου δευτερολέπτων σε σχέση με τη λιδοκαΐνη, χρόνος που μπορεί να θεωρηθεί ελάχιστος σε μία τοπική αναισθησία που διαρκεί 2-3 ώρες. Η επαναφορά του δυναμικού δεν παρουσίασε καμία διαφορά ανάμεσα στις 2 ουσίες.



Εικόνα 3.

Η πτώση του σύνθετου δυναμικού ενέργειας (A) μετά από εφαρμογή 2-επτανόνης (κόκκινη γραμμή) και λιδοκαΐνης (μπλε γραμμή) σε παρασκευάσμα ισχιακού νεύρου αρουραίου και η αντίστοιχη επαναφορά μετά την απομάκρυνση των ουσιών (B).

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, που διάρκεσε περίπου 4 χρόνια, οδήγησαν στην εξήγηση του ρόλου της 2-επτανόνης στην αμυντική συμπεριφορά των μελισσών και κατέστησαν τη συγκεκριμένη ουσία, μία καλή “υποψήφιο” για πιθανή μελλοντική παραγωγή ενός φυσικού αναισθητικού, με πιθανή εφαρμογή στην ιατρική και την κτηνιατρική. Τα πλεονεκτήματα που παρουσιάζει είναι αρκετά σε σχέση με τα γνωστά, χημικά αναισθητικά: φυσική ουσία (η οποία στην Αμερική έχει έγκριση για χρήση στα τρόφιμα ως ενισχυτικό γεύσης), δεν παρουσιάζει καμία νευροτοξική δράση σε αντίθεση με τα χημικά συνθετικά κ.α.

Φυσικά, η ουσία αυτή που παράγεται από τις μέλισσες μας ίσως να μην εφαρμοστεί ποτέ στην ιατρική (σε κάθε περίπτωση απαιτούνται χρόνια σχετικών ερευνών) αλλά και μόνο η προοπτική για κάτι τέτοιο, προσθέτει ακόμη ένα συναρπαστικό κρίκο στην αλυσίδα της ανεκτίμητης προσφοράς του θαυμαστού αυτού εντόμου στον άνθρωπο.

*Η επιστημονική εργασία δημοσιεύθηκε στις 17 Οκτωβρίου στο διεθνές περιοδικό PLoS ONE με τίτλο “**The bite of the honeybee: 2-heptanone secreted from honeybee mandibles during a bite acts as a local anaesthetic in insects and mammals**”. Η επιστημονική ομάδα της δημοσίευσης απαρτίζεται από τους Αλέξανδρο Παπαχριστοφόρου, Αλεξία Καγιαβά και Χρυσοβαλάντη Παπαευθυμιού (Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ), Αικατερίνη Τερμεντζή, Νικόλαο Φωκιαλάκη και Αλέξιο-Λεάνδρο Σκαλτσούνη (Τμήμα φαρμακογνωσίας και χημείας φυσικών προϊόντων, Φαρμακευτική Αθηνών), Max Watkins (εταιρεία Vita –Europe- Ltd) και Gérard Arnold (Εργαστήριο Εξέλιξης, Γονιδιώματος και Διαφοροποίησης των Ειδών, CNRS). Η όλη έρευνα πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του καθηγητή Γεώργιου Θεοφιλίδη (Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας Α.Π.Θ)

Μέρος των αρχικών πειραμάτων διεξήχθησαν στην Κύπρο, με την κυπριακή φυλή μελισσών, *Apis mellifera cyprica*. Πρώτος στις ευχαριστίες της δημοσίευσης, αναφέρεται ο Παγκύπριος Σύνδεσμος Μελισσοκόμων για την βοήθεια μελών του στη συλλογή δειγμάτων για τα πειράματα.

