

## HORMONY PEPTYDOWE OWADÓW – PRZEGLĄD NAJWAŻNIEJSZYCH RODZIN

INSECT PEPTIDE HORMONES – A REVIEW OF MAJOR FAMILIES

Paweł MARCINIAK, Monika SZYMCZAK, Grzegorz ROSIŃSKI

Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt,  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

*Streszczenie:* Neuropeptydy owadów produkowane są w układzie neuro-endokrynowym i zaangażowane w wielu procesach życiowych owadów – najliczniejszej grupy zwierząt żyjących na Ziemi. W ostatnim dziesięcioleciu zidentyfikowano w tej grupie organizmów wiele nowych neuropeptydów, które często mają działanie pleiotropowe. Pełnią one rolę neurotransmiterów, neuromodulatorów lub funkcjonują jako klasyczne hormony. W niniejszej pracy scharakteryzowano najważniejsze rodziny hormonów peptydowych owadów, takie jak: peptydy z rodziny AKH/RPCH, pirokininy, tachykininy, miosupresyny i peptydy z rodziny FMRFa/FLRFa, sulfakininy, peptydy regulujące rozwój i linienie, allatotropiny i allatostatyny, peptydy diuretyczne i antydiuretyczne, peptydy z rodziny CAP<sub>2b</sub> i periwiscerokininy, proktolina oraz CCAP. Dodatkowym aspektem poruszonym w pracy jest możliwość wykorzystania neuropeptydów owadów przy opracowywaniu bezpiecznych insektycydów nowej generacji oraz farmaceutyków mających zastosowanie w medycynie.

*Słowa kluczowe:* owady, hormony peptydowe, neuropeptydy, pseudopeptydy, peptydomimetyki, insektycydy.

*Summary:* Neuropeptides produced in neuro-endocrine system are involved in many vital processes of insects – the most numerous group of animals. In last ten years many new neuropeptides have been identified in this group of animals. In many cases they have pleiotropic action and play a crucial role as neurotransmitters, neuromodulators and classical hormones. In the present review several families of insect peptidic hormones are characterized, including: AKH/RPCH family, pyrokinins, tachykinins, myosuppressins, peptides of FMRFa/FLRFa family, sulfakinins, peptides involved in development and moulting, allatotropins, allatostatins, diuretic and antidiuretic peptides, peptides of CAP<sub>2b</sub> family, periviscerokinins, proctolin and CCAP. Additional aspects discussed in the paper concern applications of insect neuropeptides as safety new generation of insecticides and pharmaceuticals used in medicine.

*Key words:* insects, peptide hormones, neuropeptides, pseudopeptides, peptidomimetics, insecticides.

### 1. WSTĘP

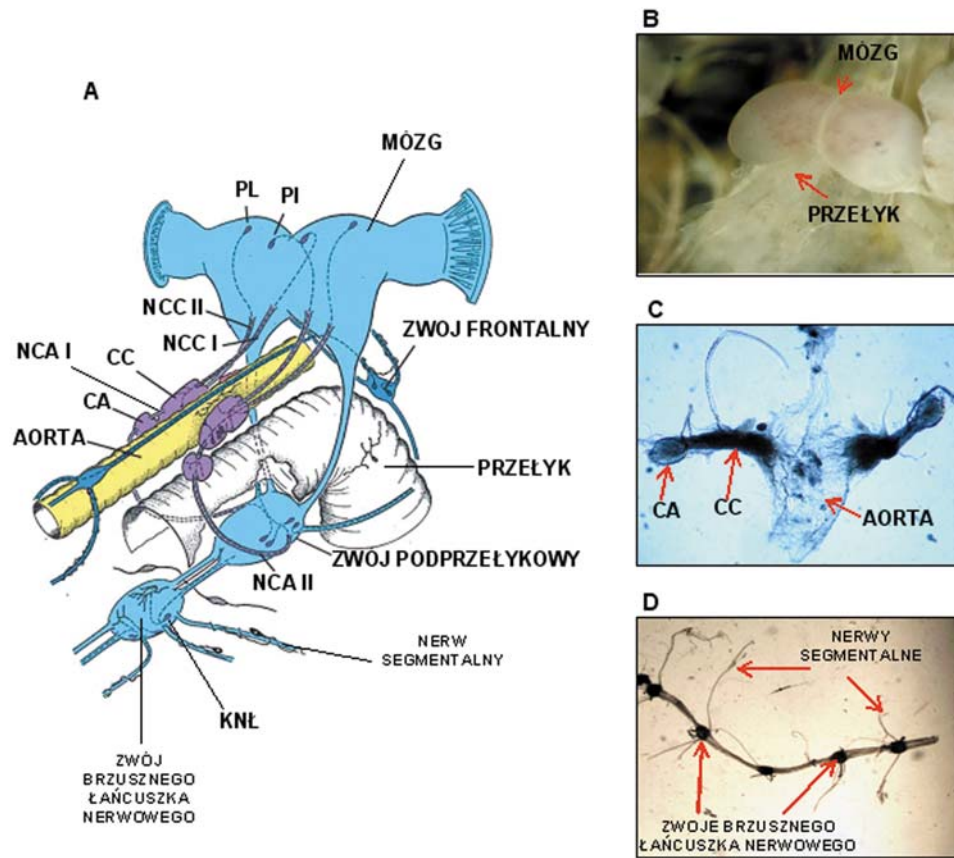
Większość procesów metabolicznych, rozwojowych i rozrodczych owadów jest kontrolowana przez układ neuro-endokrynowy [14, 55]. Regulacji hormonalnej

podlegają m.in. proces linienia i metamorfoza, zmiany ubarwienia ciała, diureza, homeostaza krążących w hemolimfie metabolitów (węglowodanów, lipidów), metabolizm mięśni lotu, akcja serca czy aktywność kurczliwa jelita i jajowodu [63, 75]. Prekursorem badań nad systemem neuro-endokrynowym owadów był polski entomolog Stefan Kopeć, który już w 1922 roku wykazał, że usunięcie mózgu lub zastosowanie przewiązki zagłowej pozbawia gąsienice brudnicy nieparki, *Lymantria dispar* zdolności do przepoczwarzania się. Sformułował on hipotezę, iż mózg owadów uwalnia czynniki działające endokrynowo [40, 41]. Występowanie komórek neurosekrecyjnych u owadów wykazano po raz pierwszy dopiero kilkanaście lat później [77] oraz opisano strukturalne i funkcjonalne podobieństwa między układem retrocerebralnym owada a podwzgórzowo-przysadkowym kręgowców [78].

Pierwszy neuropeptyd owadów, proktolinę (RYLPT), wyizolowano w 1975 roku z 125 000 głów karaczana *Periplaneta americana* [87]. W późniejszym okresie dzięki ciągłemu rozwojowi nowoczesnych technik analitycznych, takich jak wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC), elektroforeza kapilarna (CE), czy spektrometria mas (MS), możliwa była izolacja i identyfikacja coraz większej liczby nowych hormonów peptydowych. Początkowo izolowano i charakteryzowano pojedyncze neurohormony [33], następnie całe peptydomy tkanek neurosekrecyjnych [5, 11, 67], aż do analiz pojedynczych komórek [57]. Rozwój technik biologii molekularnej i poznanie genomów różnych gatunków owadów dodatkowo przyczyniły się do wzrostu liczby nowych poznanych peptydów i ich sekwencji aminokwasowych [46, 102]. W bazie NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) dostępnych jest już ponad trzydzieści znanych genomów różnych gatunków owadów [73], dla których w tej samej bazie znaleźć można sekwencje ponad 400 neuropeptydów. Obecnie neuroendokrynologia owadów wkracza w erę postgenomową i zajmuje się nie tylko izolacją i identyfikacją nowych hormonów, ale także poznaniem funkcji ogromnej liczby zidentyfikowanych peptydów. W ostatnich latach prowadzone są intensywne analizy składu peptydowego komórek neurosekrecyjnych (neuropeptydomiki) oraz określane są funkcje nowych neuropeptydów kręgowców, jak i bezkręgowców [25, 67, 89, 90]. U owadów analizę neuropeptydów układu nerwowego prowadzono na wielu gatunkach, m.in. na karaczanach [64], szarańczakach [11], muchówkach [8], ćmach [5], pluskwiakach [67], a także na chrząszczach [46].

## 2. BUDOWA I FUNKCJE UKŁADU NEUROENDOKRYNOWEGO OWADÓW

System neuroendokrynowy owadów tworzą komórki neurosekrecyjne mózgu, kompleks gruczołów neurohemalnych *corpora cardiaca* – *corpora allata* (CC/CA), komórki neurosekrecyjne zwoju frontalnego, podprzetykowego, zwojów tułowiowych i odwłokowych brzusznej łańcuszka nerwowego (ryc. 1). Poza strukturami nerwowymi funkcje endokrynowe pełnią również gruczoły: protorakalny i epi-trachealne, które w ścisły sposób związane są czynnościowo z komórkami



RYCINA 1. Ogólny schemat budowy układu neuroendokrynowego owadów (kolor fioletowy) – zmienione za [31] (A). Opis zamieszczony w tekście. Widok odsłoniętego mikrochirurgicznie mózgu (B) oraz izolowanego kompleksu CC/CA (C) i brzusznej łańcuszki nerwowej (D) gąsienicy *Parnassius apollo* FIGURE 1. General scheme of the insect neuroendocrine system (violet color) [31] changed. Description included in the text. View of the microsurgically dissected brain (B), CC/CA complex (C) and ventral nerve cord (D) of *Parnassius apollo* caterpillar

neurosekrecyjnymi mózgu i *corpora cardiaca* [74, 107]. Ponadto komórki endokrynowe występują również w jelicie, narządach rozrodczych (jajowód, gruczoły dodatkowe) oraz hemolimfie [63].

Większość neurohormonów produkowana jest przez mózg oraz połączony z nim kompleks retrocerebralny CC/CA [31, 70]. Nadrzędną rolę w układzie neuroendokrynowym owadów pełnią komórki neurosekrecyjne medialne – PI (*pars intercerebralis*) i lateralne – PL (*pars lateralis*), zlokalizowane w części mózgu zwanej protocerebrum. Ich liczba waha się w zależności od gatunku od 4–5 u mszyc do ponad 500 u szarańczy [10]. Dłgie aksony komórek medialnych tworzą *nervi corporis cardiaci I* (NCC I) i prowadzą do leżących za mózgiem gruczołów CC. Z kolei *nervi corporis cardiaci II* (NCC II) tworzą aksony komórek lateralnych i

medialnych. Większość aksonów komórek nerwowych medialnych kończy się w gruczołach CC, a niektóre z nich biegną aż do gruczołów CA, tworząc *nervi corporis allati I* (NCA I).

Gruczoły CC/CA są parzystymi strukturami, leżącymi za mózgiem w pobliżu ujścia aorty i częściowo są połączone z nią zespołami komórek tworzących neurohemalny kompleks wydzielniczy [70]. CC łączy się ze zwojem frontalnym poprzez nerw przelykowy, a CA łączy się ze zwojem podprzelykowym poprzez *nervi corporis allati II* (NCA II). Głównymi organami neurohemalnymi odpowiedzialnymi zarówno za magazynowanie, jak i uwalnianie neurosekrety są gruczoły CC. Zbudowane są one z dwóch wyraźnych płatów, wewnętrznego (magazynującego), w którym zlokalizowane są zakończenia komórek neurosekrecyjnych medialnych i lateralnych mózgu oraz płatu zewnętrznego, zbudowanego z komórek sekrecyjnych. U niektórych owadów, np. muchówek, CC składa się tylko z płata zewnętrznego, a aksony komórek neurosekrecyjnych mózgowych przechodzą przez CC, docierając swoimi zakończeniami do aorty. Płat neurosekrecyjny CC produkuje neuropeptydy wykazujące działanie adypokinetyczne/hipertrehalozemiczne, a także peptydy o właściwościach kardiotropowych lub zmieniających kolor kutikuli. Gruczoły CA produkują hormon juvenilny (JH), regulujący rozwój i rozród owadów [10].

Funkcje neuroendokrynowe u owadów pełnią również substancje uwalniane z komórek neurosekrecyjnych zwojów brzuszego łańcuszka nerwowego (KNŁ). Aksony tych komórek docierają do ułożonych metamerycznie wzdłuż brzuszego łańcuszka, po obu stronach jego zwojów, narządów perysympatycznych. Są to struktury neurohemalne będące miejscami gromadzenia i uwalniania neurosekrety pochodzącego z komórek neurosekrecyjnych zwojów łańcuszka nerwowego. Pierwszym zwojem w brzuszonym łańcuszku nerwowym jest zwój podprzelykowy, natomiast liczba zwojów tułowiowych i odwłokowych waha się w zależności od gatunku, przy czym maksymalnie mogą występować 3 zwoje tułowiowe i 8 odwłokowych. U niektórych gatunków owadów, np. u muchówek, wszystkie zwoje tułowiowe i odwłokowe zrosnięte są w jeden zwój tułowiowo-odwłokowy [10]. Substancje hormonalne produkowane w komórkach i gruczołach neuroendokrynowych owadów uwalniane są głównie bezpośrednio do hemolimfy [70], a miejscami ich uwalniania są gruczoły CC/CA oraz gruczoły perysympatyczne.

Hormony owadów, zaliczyć można do trzech głównych grup związków chemicznych:

- steroidów – wśród których głównym hormonem jest produkowany przez gruczoł protorakalny ekdyzon, regulujący proces linienia. Owady nie syntetyzują steroidów i stąd sterole (głównie cholesterol) są niezbędnymi składnikami ich diety [74].
- seskwiterpenów – do których należą hormony juvenilne produkowane w CA. Obecnie znane są cztery różne formy tych hormonów (JH0, -I, -II, -III) występujących u owadów, które różnią się liczbą atomów węgla w łańcuchu węglowodorowym, przy czym JH-III zawierający 16 atomów węgla występuje najczęściej. Hormon ten reguluje procesy rozwoju i rozrodu u owadów, tj. przepoczwarczenia się, oogenezy czy witellogenezy [103].

- peptydów – stanowiących najliczniejszą grupę hormonów – **neuropeptydów**. Zaangażowane są one w regulację wielu procesów fizjologicznych u owadów [55].

### 2.1. Neuropeptydy owadów

Hormony peptydowe regulują szereg procesów fizjologicznych związanych z rozwojem, rozrodem i behawiorem owadów. W ostatniej dekadzie zidentyfikowano w tej grupie zwierząt wiele nowych neuropeptydów o różnej funkcji fizjologicznej. Mogą one pełnić rolę neurotransmiterów, neuromodulatorów, a także funkcjonować jak klasyczne hormony, a szereg z nich wykazuje działanie plejotropowe [55].

### 2.2. Nomenklatura neuropeptydów owadów

W początkowym okresie badań układu neuroendokrynowego izolowano pojedyncze neuropeptydy, wykorzystując jeden rodzaj biotestu określającego ich aktywność biologiczną, np. działanie adypokinetyczne czy miotropowe. Wraz z odkryciem plejotropowego działania peptydów, zaczęto je grupować, uwzględniając podobieństwa strukturalne. Jednak takie podejście nie rozwiązało problemu nazewnictwa peptydów z uwagi na izolację coraz większej liczby bioanalogów o nieznacznie zmienionej sekwencji aminokwasowej lub izolowanie takich samych strukturalnie związków z coraz większej liczby gatunków owadów [55]. Próbę uporządkowania nazewnictwa stale rosnącej liczby hormonów peptydowych podjęto w 1989 roku [72], kiedy zaproponowano system klasyfikacji oparty na pierwszych literach nazwy rodzajowej i gatunkowej owada, z którego po raz pierwszy peptyd wyizolowano. Następnie do nazwy dołączano pierwszą określoną jego biologiczną aktywność i cyfrę wskazującą, który jest to w kolejności peptyd z danej rodziny bioanalogów. Na przykład pierwszy peptyd adypokinetyczny wyizolowany z chrząszcza *Tenebrio molitor* określono akronimem Tenmo-AKH-I. Obecnie oprócz nomenklatury zaproponowanej przez Raina i Gäde, stosuje się dodatkowo system potoczny nazewnictwa niektórych peptydów, uwzględniający podobieństwa funkcjonalne oraz nazwę gatunkową owada, z którego po raz pierwszy je wyizolowano, np. leukomiosupresyna (LMS), drosulfakinina (DSK), leukokinina (LK). Wśród hormonów owadów występują również peptydy, które nie są określone żadnym akronimem, a mają tylko nazwę potoczną pochodzącą od nazwy narządu, w którym wykryto pierwszy raz ich działanie fizjologiczne, np. proktolina, korazonina.

### 2.3. Rodziny hormonów peptydowych owadów

Obecnie neuropeptydy owadów grupowane są w rodziny w zależności od podobieństwa strukturalnego sekwencji aminokwasowych poszczególnych bioanalogów oraz ich głównych funkcji fizjologicznych. Po zsekwencjonowaniu pierwszego genomu owada *Drosophila melanogaster*, wprowadzono system klasyfikowania peptydów oparty na genach prekursorowych, które je kodują [32]. Peptydy należące do tej samej rodziny kodowane są przez jeden gen prekursorowy [55]. Obecnie wyróżnia się kilkanaście głównych grup neuropeptydów owadów.

### Peptydy z rodziny AKH/RPCH

Pierwszy peptyd (pELNFSPG<sub>Wa</sub>) należący do rodziny AKH/RPCH (hormonów adypokinetycznych/koncentrujących czerwony barwnik), zidentyfikowany pierwotnie jako czynnik koncentrujący czerwony barwnik – RPCH (*red pigment concentrating hormone*), wyizolowano w 1972 roku z krewetki *Pandalus borealis* [18]. Hormon ten okreśłany jest obecnie akronimem Panbo-RPCH. U owadów pierwszy hormon z tej rodziny deka-peptyd Locmi-AKH-I (pELNFTP<sub>NWGTa</sub>), wykazujący duże podobieństwo strukturalne do Panbo-RPCH i mający aktywność metabotropową odznaczającą się zdolnością do zwiększania w hemolimfie stężenia trehalozy (efekt hipertrehalozemiczny) i/lub lipidów (efekt adypokinetyczny; hiperlipemiczny), wyizolowano z szarańczy *Locusta migratoria* [88]. Obecnie znanych jest około 40 różnych peptydów z rodziny AKH/RPCH, które wyizolowano głównie z dwóch grup stawonogów – skorupiaków i owadów [26]. U skorupiaków wykryto dotychczas tylko wysoce konserwatywny Panbo-AKH, podczas gdy u owadów występuje większe zróżnicowanie strukturalne peptydów z tej rodziny [26].

Wszystkie neuropeptydy należące do rodziny AKH/RPCH mają charakterystyczną strukturę pierwszorzędową [27]. Zbudowane są one z 8–10 reszt aminokwasowych, na N-końcu ich łańcucha aminokwasowego zawsze znajduje się reszta kwasu piroglutaminowego, a C-koniec zablokowany jest resztą karboksamidową. W czwartej pozycji aminokwasowej w łańcuchu występuje zawsze aminokwas aromatyczny (głównie fenyloalanina), w pozycji ósmej tryptofan, a w dziewiątej glicyna (tab. 1). Dodatkowymi modyfikacjami potranslacyjnymi w strukturze cząsteczki niektórych peptydów są C-mannozyłacja grupy indolowej tryptofanu, jak np. w hormonie hipertrehalozemicznym patyczaka *Carausius morosus* [52] oraz fosforylacja treoniny w szóstej pozycji aminokwasowej, jak w cząsteczce peptydu adypokinetycznego Trifa-CC wykrytego u kilku przedstawicieli chrząszczy [27].

Badania immunocytochemiczne oraz hybrydyzacja *in situ* wykazały, iż peptydy z rodziny AKH są syntetyzowane i magazynowane w CC [26]. Funkcją tych neuropeptydów jest kontrola metabolizmu energetycznego podczas lotu owada. Regulują trzy główne szlaki metaboliczne związane z uwalnianiem z ciała tłuszczowego do hemolimfy trehalozy, diglicerydów oraz proliny, wykorzystywanych jako źródło energii dla mięśni skrzydeł [23]. Peptydy z rodziny AKH pełnią również inne funkcje fizjologiczne, wpływają m.in. na aktywność kurczliwą serca [75], syntezę RNA, białek i kwasów tłuszczowych w ciele tłuszczowym [26], biosyntezę mitochondrialnych przekaźników elektronów [26], rozmnażanie [28], aktywność lokomotoryczną [38] oraz odpowiedź immunologiczną owadów [29]. U niektórych gatunków występuje kilka izoform peptydów z rodziny AKH. Prawdopodobnie poszczególne izoformy zaangażowane są w różnym stopniu w powyżej wymienione procesy i wywołują odmienne efekty w ich regulacji [26].

### Pirokininy

Peptydy z rodziny pirokinin wykazują bardzo duże zróżnicowanie strukturalne i funkcjonalne u różnych grup owadów. Pierwszy zidentyfikowany peptyd z tej rodziny

TABELA 1. Charakterystyczne motywy strukturalne występujące w budowie pierwszorzędowej wybranych rodzin neuropeptydów owadów wraz z przykładami

TABLE 1. Characteristic structural motifs in primary structure of insect neuropeptide families with examples

Rodzina peptydów	Sekwencja charakterystyczna	Przykład peptydu
AKH/RPCH	pEXXFXXXWG <sub>x</sub> a	Locmi-AKH-I pELNFTP <sub>N</sub> WG <sub>T</sub> a Locmi-AKH-II pELNFSAG <sub>W</sub> a
Pirokininy	-FXPRL <sub>a</sub>	Lem-PK pQTSFTPRL <sub>a</sub> Pea-PK-2 SPPFAPRL <sub>a</sub>
Tachykininy	-FXGXR <sub>a</sub> -FXGLM <sub>a</sub>	LemTRP-1 AP <sub>S</sub> GFLGVR <sub>a</sub> Sialokinin I SGNTGDKFYGLM <sub>a</sub>
Miosupresyny	X <sub>1</sub> DVX <sub>2</sub> HX <sub>3</sub> FLRF <sub>a</sub>	LMS PEDVDHVFLRF <sub>a</sub>
Wydłużone FMRFa i FLRFa	-F(M/L)RF <sub>a</sub>	Dro-FMRFa-I SVKQDFMHF <sub>a</sub> Mas-FLRFa-II GNSFLRF <sub>a</sub>
NPF	-RXRF <sub>a</sub>	Ang-NPF LVAARPQSDAASVAAAIRYLQ ELETKHAQHARPRF <sub>a</sub> Led-NPF-I ARGPQLRLRF <sub>a</sub>
Sulfakininy	X(SO <sub>3</sub> H)GHMRFA	Drm-SK-I FDDY(SO <sub>3</sub> H)GHMRFA
ETH	-NIPRM <sub>a</sub>	Drom-ETH-I DDSSPGFFLKITKNVPRL <sub>a</sub> Ang-ETH-I SESPGFFIKLSKSVPR <sub>Ia</sub>
Allatostatyny typu A	-FGL <sub>a</sub>	Dippu-AST-I LYDFGL <sub>a</sub>
Allatostatyny typu B	-W(X) <sub>6</sub> W-	Grybi-AST-I GWQDLN <sub>GG</sub> W <sub>a</sub>
Allatostatyny typu C	-PISCF	Drome-PISCF-AST pQVRYRQC <sub>Y</sub> FN <sub>PISCF</sub>
CAP <sub>2b</sub> /PRV	-PRV <sub>a</sub>	Manse-CAP <sub>2b</sub> pELYAFPRV <sub>a</sub> Lom-PVK-1 AAGLFQFPRV <sub>a</sub>

AKH/RPCH – hormony adypokinetyczne/koncentrujące czerwony barwnik;

NPF – neuropeptydy z rodziny neuropeptydu F; ETH – neuropeptydy włączające linienie;

PRV -- periviscerokininy; X – dowolny aminokwas; X<sub>1</sub> = pE, P, T lub A, X<sub>2</sub> = D, G, V i X<sub>3</sub> = V lub S

Lem-PK (pETSFTPRL<sub>a</sub>) wyizolowano z ekstraktu mózgowego karaczana *Leucophaea maderae*, a jego aktywność badano w bioteście miotropowym z wykorzystaniem jelita tylnego (*proctodeum*) tego owada [34]. W głównych strukturach ośrodkowego układu nerwowego kilku gatunków owadów wykryto kilkanaście izoform tych peptydów [66, 67]. U motyli z rodzin *Noctuidae* i *Bombycidae* zidentyfikowano homologiczne peptydy o znacznie dłuższych łańcuchach aminokwasowych. Ze względu na powodowane przez nie specyficzne efekty fizjologiczne (stymulacja syntezy feromonów) określono je jako neuropeptydy aktywujące biosyntezę feromonów – PBAN (*pheromone biosynthesis activating neuropeptides*) [71].

Pirokininy uzyskały swoją nazwę z uwagi na obecną grupę pirolową na N-końcu cząsteczki oraz ich właściwości miotropowe [66]. Wszystkie te peptydy mają charakterystyczną C-terminalną sekwencję -FXPRL<sub>a</sub> (tab. 1), która jest odpowiedzialna za ich aktywność biologiczną [55]. Do tej rodziny należą peptydy o dużym zróżnicowaniu strukturalnym, gdzie oprócz krótkich, kilku aminokwasowych peptydów, są również kilkunasto- lub kilkudziesięcioaminokwasowe cząsteczki hormonów feromonotropowych (PBAN), hormony diapauzy – DH (*diapause hormone*) oraz melanizacji

i zabarwienia kutikuli – MRCH (*melanization and reddish coloration hormone*) [66]. Peptydy należące do rodziny pirokinin produkowane są głównie przez komórki neurosekrecyjne zwoju podprzelykowego oraz zwojów tułowiowych i odwłokowych brzuszego łańcuszka nerwowego i następnie uwalniane do hemolimfy [66]. Wykazują plejotropowe działanie fizjologiczne. Stymulują skurcze mięśni jelita, jajowodu i serca karaczana *P. americana* [66] oraz wpływają na przepoczwarczenie się much [98]. Peptydy PBAN regulują syntezę feromonów u motyli z rodziny *Noctuidae* [71], a hormony diapauzy występowanie i długość okresu diapauzy u ciem *Bombyx mori* i *Helicoverpa armigera* [66]. U tego samego gatunku owada pirokininy często występują w kilku izoformach, a poszczególne izoformy wykazują różną siłę działania przy takim samym stężeniu [66].

### Tachykininy

Tachykininy stanowią dużą i zróżnicowaną strukturalnie rodzinę neuropeptydów występujących zarówno u kręgowców, jak i bezkręgowców. Peptydy te wykazują różne działanie w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym oraz wielu innych tkankach [81]. Wyizolowana w 1931 roku z mózgu konia substancja P była pierwszą tachykininą kręgowców, która zapoczątkowała późniejsze odkrycia wielu nowych peptydów z tej rodziny, charakteryzujących się C-kończącą sekwencją -FXGLMa [62]. U owadów pierwsze tachykinino-podobne peptydy, Lom-TK-I (GPSGFYGVRa) i Lom-TK-II (APLSGFYGVAA), wykazujące homologię strukturalną do tachykinin kręgowców, odkryto dopiero w 1990 roku u *L. migratoria*. Wykryto je badając w heterologicznym bioteście zdolności obu peptydów do zwiększania częstotliwości skurczów jelita karaczana *P. americana* [56]. Obecnie znanych jest ponad 40 peptydów należących do tej rodziny [55].

Tachykinino-podobne peptydy bezkręgowców wykazują 40% podobieństwo strukturalne do tachykinin kręgowców i charakteryzują się występowaniem na C-końcu cząsteczki sekwencji -FXGXRa [55]. Ponadto pięć peptydów z tej rodziny o C-terminalnej sekwencji -FXGLMa (tab. 1), o większym niż 40% podobieństwie strukturalnym do tachykinin kręgowców, wyizolowano z gruczołów ślinowych komara *Aedes aegypti* oraz dwóch gatunków głowonogów *Octopus vulgaris* i *Eledone aldrovandi* [56].

Tachykininy są peptydami o działaniu plejotropowym, udokumentowanym w wielu biotestach *in vitro* przeprowadzonych na kilku gatunkach owadów [55]. Ważną fizjologiczną funkcją tych peptydów jest stymulowanie skurczów jelita przedniego, środkowego i tylnego, jajowodu oraz serca [54, 55, 91]. Dodatkowo tachykininy wpływają na proces diurezy oraz są czynnikami stymulującymi uwalnianie hormonów AKH z CC [12]. Przeprowadzone badania wykazały również, iż tachykininy mogą działać jako neuromodulatory, powodując depolaryzację neuronów, w którą zaangażowana jest cyklaza adenylationowa [56].

### Miosupresyny i peptydy z rodziny FMRFa/FLRFa

Peptyd FMRFamid (FMRFa) wyizolowany został po raz pierwszy z układu nerwowego małża *Macrocallista nimbosa* w 1977 roku [68]. U badanych do tej pory gatunków owadów nie stwierdzono występowania tego peptydu, choć wykryto



dużą liczbę jego bioanalogów o dłuższym łańcuchu aminokwasowym, wydłużonym na N-końcu cząsteczki. Początkowo wszystkie strukturalnie podobne peptydy klasyfikowano do wspólnej grupy FMRFamido-pokrewnych peptydów – FaRPs (*FMRFamide related peptides*). Obecnie wyróżnia się kilka podgrup w tej rodzinie peptydów w zależności od występujących niewielkich różnic w sekwencji aminokwasowej oraz funkcji określonych bioanalogów. Jest to obecnie największa i najbardziej funkcjonalnie zróżnicowana grupa neuropeptydów owadów.

#### **Miosupresyny**

Pierwszy peptyd z tej rodziny, leukomiosupresynę – LMS (pEDVDHVFLRFa, LMS) zidentyfikowano u karaczana *L. maderae* analizując, jak sama nazwa wskazuje, jego zdolność do hamowania skurczów *proctodeum* [33]. Kolejne bioanalogi miosupresyn wykryto u *Schistocerca gregaria*, *L. migratoria*, *Diploptera punctata*, *Neobellieria bullata*, *Manduca sexta* i *D. melanogaster* [61]. Wszystkie te peptydy charakteryzują się konserwatywną sekwencją  $X_1DVX_2HX_3$ -FLRFamidu, gdzie  $X_1 = pE, P, T$  lub  $A$ ,  $X_2 = D, G, V$ , a  $X_3 = V$  lub  $S$  (tab. 1).

Miosupresyny wykazują zdolności do hamowania skurczów mięśni trzewnych różnych narządów włącznie z jelitem przednim, środkowym i tylnym, jajowodem, sercem oraz cewkami Malpighiego [61, 83]. Niektóre bioanalogi, np. SchistoFLRFa, zwiększają siłę skurczu mięśni somatycznych u motyli i szarańczaków [60] lub są iostymulatorami skurczów jajowodu [60]. Stwierdzono ponadto, że peptydy te mogą być czynnikami hamującymi uwalnianie hormonu AKH z CC [100], a ich występowanie w neuronach układu stomatogastrycznego sugeruje, że zaangażowane są w regulację procesów zachodzących w układzie pokarmowym u owadów [6].

#### **Wydłużone bioanalogi FMRFa i FLRFa**

Bioanalogue FMRFamidu i FLRFamidu o dłuższych łańcuchach aminokwasowych zidentyfikowano początkowo głównie u muchówek: *D. melanogaster* i *Calliphora vomitoria*, a następnie również u karaczana *P. americana*, ćmy *M. sexta*, szarańczy *L. migratoria* i ostatnio u chrząszcza *Tribolium castaneum* [46, 60]. Są to z reguły 7–9-aminokwasowe peptydy o podobnej sekwencji C-terminalnej (tab. 1).

Aktywność fizjologiczną peptydów z tej rodziny badano z zastosowaniem kilku biotestów. Wykazano, iż wpływają one na częstotliwość skurczów serca u *D. melanogaster* i *C. vomitoria*, przy czym działanie to, w zależności od gatunku owada i stężenia peptydu, może być kardiostymulujące lub kardioinhibicyjne [51]. Bioanalogi FMRFamidu zaangażowane są w regulację rytmu okołodobowego w układzie wzrokowym *Musca domestica* [69], kontrolują funkcje ślinianek u *C. vomitoria* [60] i pełnią prawdopodobnie funkcje neuromodulatorów w układzie nerwowym u muchówek [55]. Natomiast bioanalogi FLRFamidu regulują aktywność kurczliwą jajowodu *L. migratoria*, wpływają na skurcze serca antenalnego *P. americana* i modulują aktywność grzbietowych neuronów medialnych tego gatunku karaczana [60, 61].

#### **Rodzina neuropeptydu F**

Pierwszy neuropeptyd F wyizolowano z tasiemca *Moniezia expansa* [47] i wykazano jego podobieństwo do neuropeptydu Y kręgowców. U owadów pierwszy

peptyd z tej grupy wyizolowano z ekstraktu z całego ciała *D. melanogaster* [9]. Kolejne bioanalogi izolowano z *A. aegypti*, *Leptinotarsa decemlineata*, *S. gregaria*, *D. melanogaster*, *Helicoverpa zea*, *P. americana* i *Anopheles gambiae* [22], a ostatnio zidentyfikowano je również u chrząszcza *T. castaneum* [46], kilku gatunków pluskwiaków [67] i szarańczy *L. migratoria* [11]. Wśród tych peptydów owadów wyróżnia się krótkie (sNPF) i długie neuropeptydy F (NPF). Wspólną cechą całej grupy peptydów jest C-terminalny motyw RXRFa (tab. 1). Grupę sNPF tworzą z reguły 8–10-aminokwasowe peptydy, podczas gdy peptydy długie zawierają najczęściej 36 reszt aminokwasowych.

Działanie fizjologiczne tej grupy neuropeptydów badano głównie w aspekcie regulacji przez nie rozmnażania i pobierania pokarmu u owadów [55, 60]. Zdecydowana większość prowadzonych dotąd prac dotyczyła aktywności krótkich peptydów F. Wykazano, iż są one zaangażowane w rozwój jajnika i wpływają na pobieranie pokarmu u różnych gatunków owadów. Stwierdzono ponadto, że peptydy te mają właściwości miotropowe w stosunku do mięśni różnych narządów trzewnych, włącznie z sercem [48, 50, 82].

### Sulfakininy

Sulfakininy bezkręgowców są neuropeptydami, które jak wskazuje nazwa, mają w swojej strukturze sulfonowane reszty tyrozyny. Charakteryzuje je również obecność C-terminalnej sekwencji Y(SO<sub>3</sub>H)GHMRFa (tab. 1) oraz podobieństwo strukturalne i funkcjonalne do gastryny i cholecystokininy (CKK) kręgowców [79]. Pierwszy peptyd z tej rodziny, Leuma-SK-1 wyizolowano z ekstraktu 3000 głów karaczana *L. maderae*, stosując wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC) i analizując jego zdolność do zwiększania częstotliwości skurczów jelita [79]. Schoofs i wsp. wykorzystując taką samą technikę izolacji i biotest z *proctodeum* zidentyfikowali kolejną sulfakininę, Lom-SK (pELASDDYGHMRFa) u szarańczy *L. migratoria* [79]. Obecnie znamy dużą grupę sulfakinin występujących u różnych gatunków owadów [46, 49, 79].

Sulfakininy wykazują szereg właściwości fizjologicznych. Są modulatorami skurczów mięśni jelita i serca u różnych gatunków owadów [79], hamują pobieranie pokarmu u szarańczy wędrownej i karaczanów oraz stymulują wydzielanie enzymów trawiennych przez układ pokarmowy małża *Pecten maximus* i chrząszcza *Rhynchophorus ferrugineus* [79]. Głównym zadaniem sulfakinin u owadów jest więc regulacja procesów związanych z odżywianiem i trawieniem, co dowodzi ich podobieństwa funkcjonalnego do gastryny i cholecystokininy kręgowców [6]. Ostatnie badania wskazują również na występowanie u owadów niesulfonowanych peptydów z rodziny sulfakinin, które wykazują podobne właściwości biologiczne w regulacji akcji serca [58].

### Peptydy regulujące rozwój i linienie

Procesy linienia i metamorfozy owadów znajdują się pod ścisłą kontrolą hormonalną. Peptydy włączające proces linienia – ETHs (*ecdysis triggering hormones*)

u owadów produkowane są przez tzw. komórki Inka, występujące w gruczołach epitrachealnych [107]. Pierwsze peptydy z tej rodziny zidentyfikowano w ekstraktach z gruczołów epitrachealnych *M. sexta* (Mas-ETH) i *Bombyx mori* (Bom-ETH) [2, 107]. Cechą charakterystyczną tych peptydów jest obecność na C-końcu łańcucha aminokwasowego konserwatywnej sekwencji -NIPRMa (tab. 1). Obecnie znanych jest kilka bioanalogów należących do tej rodziny peptydów [74].

Innym peptydem zaangażowanym w regulację rozwoju i linienia owadów jest korazonina. Jest to 11-aminokwasowy peptyd (pQTFQYSRGTNa) zablokowany resztą piroglutaminową na N-końcu i grupą karboksamidową na C-końcu łańcucha aminokwasowego. Korazonina wyizolowana została z karaczana *P. americana* [96], a jej nazwa pochodzi od hiszpańskiego słowa serce (*corazón*), które podkreśla funkcję fizjologiczną (kardiostymulujące działanie u *P. americana*) stwierdzoną po raz pierwszy dla tego neuropeptydu. Korazoninę wyizolowano także z kilku innych gatunków owadów [1] i wykryto jej bioanalog H7-korazoninę u szarańczaków i patyczaków [1]. Oprócz działania kardiotropowego korazonina zaangażowana jest w regulację procesu linienia owadów poprzez stymulację uwalniania z komórek Inka hormonów włączających proces linienia [37]. Ponadto korazonina reguluje diapauzę [1]. Ostatnie badania sugerują, iż peptyd ten jest uwalniany u owadów podczas głodu [97].

Peptydem zaangażowanym w regulację rozwoju i przepoczwarzania się owadów jest hormon protorakotropowy (PTTH). Pionierskie badania nad mechanizmem regulacji procesu metamorfozy zapoczątkował polski entomolog Stefan Kopeć w latach 1917–1922. Późniejsze prace innych autorów doprowadziły do izolacji i zsekwencjonowania hormonu protorakotropowego *M. sexta* w 1987, a kilka lat później również hormonu PTTH *B. mori* [35]. Hormon PTTH *B. mori* jest dimerem o masie cząsteczkowej ok. 25 kDa, zbudowanym z 109 reszt aminokwasowych [35]. Ważną funkcją tych hormonów jest pobudzanie gruczołu protorakalnego do wydzielania ekdysteroidów. Poziom PTTH rośnie w hemolimfie tuż przed linieniem i przepoczwarzaniem się owadów [1].

### Allatotropiny i allatostatyny

Produkcja i uwalnianie hormonu juwenilnego z CA regulowana jest przez neuropeptydy syntetyzowane w mózgu [93]. Wśród regulatorów tego procesu można wyróżnić peptydy działające jako inhibitory, określane jako allatostatyny oraz peptydy o działaniu stymulującym, czyli allatotropiny [3]. Oba typy tych neurohormonów wykazują duże różnicowanie strukturalne i cechują się plejotropowym działaniem.

#### *Allatotropiny*

Pierwszy peptyd z grupy allatotropin, Manse-AT (GFKNVEMMTARGa), wyizolowano z *M. sexta* w roku 1987 [36], a następnie potwierdzono jego sekwencję na podstawie cDNA [92]. Obecnie znanych jest kilkanaście peptydów z tej rodziny u różnych gatunków owadów. Sekwencje aminokwasowe niektórych z tych peptydów ustalono na podstawie analizy znanych genomów [93].

Allatotropiny oprócz stymulacji procesu syntezy i uwalniania JH z *corpora allata* wykazują szereg innych funkcji fizjologicznych, choć ich dokładna rola w dalszym ciągu

nie została do końca poznana. W przypadku niektórych gatunków, np. *T. molitor* i *P. americana* nie wpływają one na uwalnianie JH [36], co może świadczyć, że nie pełnią funkcji allatotropowej u tych owadów. U innych gatunków, np. *M. sexta* i *Periplaneta unipuncta*, Manse-AT jest peptydem kardiostymulującym [93]. Ponadto działanie miostymulujące tego hormonu na mięśniówkę jelita przedniego wykazano u ćmy *Helicoverpa armigera*, nawet w bardzo niskich stężeniach peptydu [16] oraz na całe jelito innego gatunku ćmy, *Heliothis virescens* [59]. Oddziaływanie tego peptydu na funkcje jelita środkowego *M. sexta* zaznacza się inhibicją transportu jonów przez błony komórek nabłonkowych jelita [45]. Iniekcje peptydu Manse-AT powodowały u gąsienic *Spodoptera frugiperda* spadek masy ciała oraz znaczący wzrost śmiertelności, natomiast u dorosłych samic *M. sexta* skrócenie długości okresu życia [59]. W przeciwieństwie do *M. sexta*, iniekcja tego peptydu nie powodowała znaczących zmian w długości okresu larwalnego *Lacanobia oleracea* [3].

#### **Allatostatyny**

Obecnie znane są trzy typy strukturalne allatostatyn, różniące się sekwencją pierwszorzędową łańcucha aminokwasowego:

- *allatostatyny typu A* – odkryte po raz pierwszy u karaczana *D. punctata* [105] i charakteryzujące się C-terminalną sekwencją aminokwasową -FGLa (tab. 1). Do tego typu zalicza się ponad 70 bioanalogów wyizolowanych z owadów, jak również innych bezkręgowców [93]. Aktywność tych peptydów, polegająca na hamowaniu uwalniania hormonu juwenilnego z CA, ogranicza się jednak tylko do karaczanów, świerszczy i termitów. Są to neurohormony o aktywności plejotropowej. Powodują między innymi hamowanie syntezy witellogeniny w ciele tłuszczowym oraz skurczów jelita, a ponadto regulują uwalnianie enzymów trawiennych [93].

- *allatostatyny typu B* – wyizolowane ze świerszcza *Gryllus bimaculatus* [101], charakteryzują się występowaniem w łańcuchu aminokwasowym motywu W(X)6W (tab. 1). Peptydy te odkryto także u patyczaków, jednak ich główna aktywność związana z hamowaniem syntezy i uwalniania JH ograniczona jest tylko do świerszczy [93]. W biotestach heterologicznych wykazują ponadto działanie mioinhibicyjne w stosunku do mięśni jelita przedniego karaczanów i jajowodu szarańczy oraz aktywność protorakostatyczną polegającą na hamowaniu syntezy ekdysteroidów w gruczołach protorakalnych [93].

- *allatostatyny typu C* – pierwszy peptyd z tej grupy, Manse-AS (pEVRFRQCYFNPISCF), wyizolowano z *M. sexta* [41]. Allatostatyny tego typu charakteryzują się C-terminalną sekwencją -PISCF (tab. 1). N-koniec ich cząsteczki zakończony jest grupą piroglutaminową, a pomiędzy cysteinami w 7 i 14 pozycji w łańcuchu aminokwasowym występuje mostek disiarczkowy [3]. Szereg tych peptydów wyizolowano z różnych gatunków motyli i ciem [93]. Allatostatyny typu C wykazują aktywność kardiotropową u *D. melanogaster* i miotropową w stosunku do jelita przedniego *L. oleracea* [3, 93]. Ostatnio Audsley i Weaver opisali udział tych peptydów w regulacji odżywiania owadów poprzez inhibicję skurczów różnych odcinków jelita owadów [6].

### Peptydy diuretyczne i antydiuretyczne

Powstawanie moczu podstawowego w cewkach Malpighiego, jak i procesy sekrecji i absorpcji niektórych jego składników regulowane są przez kilka grup hormonów diuretycznych (DUH) i antydiuretycznych (ADH) [13]. Najważniejsze z regulatorów tych procesów wydalniczych, to:

- peptydy podobne do czynnika uwalniającego kortykotropinę (*corticotropin releasing factor like peptides; CRF-like peptides*). Obecnie znanych jest około 20 peptydów o właściwościach diuretycznych, wyizolowanych z 14 gatunków owadów. Dzieli się je na dwie podgrupy strukturalnych analogów, określanych jako krótkie, np. Manse-DP-II (30aa) i długie analogii, np. Manse-DH (41aa). Peptydy z obu podgrup powodują zwiększenie funkcji sekrecyjnych przez cewki Malpighiego przy udziale cAMP jako wtórnego przekaźnika [13].

- kalcytonino-podobne peptydy (*calcitonin like peptides; CT-like peptides*). Pierwszy peptyd z tej grupy, Dippu-DH31 zidentyfikowano u karaczana *D. punctata* [21]. Obecnie znanych jest kilka bioanalogów występujących u różnych gatunków owadów, m.in. *D. melanogaster*, *A. gambiae*, *Apis mellifera* czy *B. mori*. Wykazują one małą homologię do kalcytoniny kręgowców, ale mają taką samą jak ona C-terminalną sekwencję -GPa [13].

- kininy – zidentyfikowane już u dziesięciu gatunków owadów i występujące często w kilku izoformach. Pierwszy peptyd z tej grupy, Leuma-K (DPAFNSWGa) wyizolowano z karaczana *L. maderae*, badając jego zdolności do zwiększania częstotliwości skurczów jelita. Z uwagi na ten rodzaj aktywności peptyd nazwano kininą i określenie to przyjęto następnie dla całej grupy bioanalogów. Właściwości diuretyczne kinin wykazano dopiero po około 20 latach od ich odkrycia [13].

- peptydy antydiuretyczne – do tej pory zidentyfikowano tylko dwa peptydy o właściwościach antydiuretycznych, Tenmo-ADFa i Tenmo-ADFb, wyizolowane z ekstraktu głów poczwarek chrząszcza *T. molitor*. Oba peptydy redukują aktywność wydzielniczą cewek Malpighiego [17].

- peptydy regulujące transport jonów – ITP (*ion transporting peptides*). Dotychczas wyizolowano tylko jeden peptyd, Schgr-ITP o właściwościach antydiuretycznych z *S. gregaria*, badając jego zdolności do modulowania transportu jonów Cl<sup>-</sup> [4]. Kilku autorów, wykorzystując analizę genomów, wyodrębniło u *B. mori*, *D. melanogaster* i *T. castaneum* cDNA dla peptydów homologicznych do Schgr-ITP [13, 46].

- homologi CAP<sub>2b</sub> – zidentyfikowane pierwotnie jako potencjalne czynniki kardiotropowe, także są regulatorami aktywności wydzielniczej cewek Malpighiego, powodując zwiększoną odpowiedź diuretyczną. Zostaną one scharakteryzowane w następnym rozdziale.

### Peptydy z rodziny CAP<sub>2b</sub> i periwiscerokininy

Pierwszy peptyd z tej rodziny bioanalogów, Manse-CAP2b (pELYAFPRVa) został wyizolowany z ćmy *M. sexta* jako czynnik kardioaktywny [55]. U *D. melanogaster* gen kodujący te peptydy, dodatkowo koduje peptydy dwóch innych rodzin – pirokinin oraz periwiscerokinin, które częściowo związane są strukturalnie (tab. 1) z rodziną

peptydów CAP<sub>2b</sub> [32]. Oprócz właściwości kardiostymulujących CAP<sub>2b</sub> wykazuje także silne właściwości diuretyczne u *D. melanogaster* [76].

Periwiscerokininy po raz pierwszy wykryte zostały w ekstraktach z tułowiowych organów perisympatycznych (PSO) karaczana *P. americana* [65]. Inne bioanalogue z tej grupy neuropeptydów wyizolowano z karaczana *L. maderae* i szarańczy *L. migratoria* [104]. Porównując wszystkie znane sekwencje aminokwasowe tych peptydów ustalono, iż wykazują one pewne podobne cechy strukturalne (tab. 1). Przykładowo Lem-PVK-2, Lem-PVK-3, Lom-PVK-1 i Mas-CAP<sub>2b</sub> mają identyczną sekwencję C-terminalną -PRVa [104]. Podstawową aktywnością fizjologiczną periwiscerokinin jest zdolność do modulacji skurczów mięśni jelita, jajowodu i mięśnia hiperneuralnego karaczanów oraz jak peptydy CAP2b serca karaczanów [55].

### Proktolina

Pentapeptyd proktolina (RYLPT) jest pierwszym zidentyfikowanym peptydem owadów, który został wyizolowany z ekstraktu całego ciała karaczana *P. americana* w 1975 roku [87]. Później peptyd ten wyizolowano także z kilku innych gatunków owadów [39]. Wykonane dotąd analizy natywnego peptydu różnych owadów dowiodły, że ma on nietypowy dla peptydów owadów C-koniec cząsteczki pozbawiony reszty amidowej [44]. Istnieje tylko jedno doniesienie wskazujące na występowanie peptydu podobnego do proktoliny (AYLPT), który wykryto w ekstrakcie metanolowym z głów stonki ziemniaczanej, *L. decemlineata* [85].

Proktolina jest jednym z najlepiej zbadanych neuropeptydów owadów. Jej główna funkcja związana jest ze stymulacją skurczów mięśni różnych narządów trzewnych wielu gatunków owadów [39]. Działania miostymulującego tego peptydu nie zaobserwowano jedynie na miokardium dwóch gatunków owadów, ćmy *M. sexta* i muchy *Stomoxys calcitrans* [39]. Proktolina oprócz silnego działania miotropowego *in vitro* wpływa również na pracę mięśni trzewnych *in vivo*. Przykładowo iniekcja tego peptydu wywołuje u poczwerek *M. sexta* długotrwałe zwiększenie rytmu kurczliwości serca [84].

Przy szeroko poznanym działaniu miotropowym tego peptydu praktycznie nie obserwowano jego aktywności metabotropowej. Jedynie Goudey-Perriere i wsp. sugerowali udział proktoliny w regulacji procesu witellogenezy u karaczana *Blaberus craniifer* [30]. Zagadnienie to jednak wymaga dalszych badań.

### CCAP

Kardioaktywny peptyd skorupiaków – CCAP (*crustacean cardioactive peptide*) po raz pierwszy wyizolowany został z układu nerwowego kraba *Carcinus maenas* [86]. Jest to cykliczny nonapeptyd z mostkiem disiarczkowym pomiędzy resztami cystein w 2 i 9 pozycji łańcucha aminokwasowego [43]. U owadów zidentyfikowany został już u kilku gatunków, m.in. u szarańczy *L. migratoria*, ćmy *M. sexta* i chrząszcza *T. molitor* [55].

Jak sama nazwa wskazuje, peptyd ten działa kardiostymulująco u skorupiaków [55]. U owadów aktywność kardiostymulującą CCAP wykazano m.in. u chrząszczy i szarańczy [43]. Szersze badania aktywności biologicznej tego peptydu wykazały jego

działanie plejotropowe. Jest on stymulatorem skurczów jajowodu i jelita *L. migratoria* oraz jajowodu *M. sexta* [15]. Ponadto u szarańczy *L. migratoria* powoduje on zwiększone uwalnianie AKH z *corpora cardiaca* [95]. CCAP jest także zaangażowany w regulację kaskady sygnałów związanych z linieniem owadów [106].

### 2.3. Inne neuropeptydy owadów

Oprócz opisanych najważniejszych grup neuropeptydów wykryto u owadów jeszcze inne peptydy, których funkcje fizjologiczne poznano tylko w małym zakresie. Należy tutaj wymienić peptydy insulino-podobne, wazopresyno-podobne, należące do grupy bioanalogów SIFamidu (SIFa), czy z C-terminalną sekwencją NVP. Niektóre z nich, tak jak w przypadku NVP-podobnych peptydów, o znanej już sekwencji aminokwasowej, nie mają w ogóle ustalonej funkcji fizjologicznej [46] lub dane na temat aktywności innych peptydów, tak jak w przypadku tych z rodziny SIFa są bardzo ograniczone [99]. Szybko rosnąca liczba nowo odkrywanych neuropeptydów od różnych gatunków dowodzi, iż neuroendokrynologia owadów jest niezwykle dynamicznie rozwijającą się nauką.

## 3. ZASTOSOWANIE PEPTYDÓW OWADÓW

Największą grupę zwierząt żyjących na Ziemi stanowią owady, znanych jest co najmniej milion ich gatunków. Wiele z nich jest pożytecznych, ale szereg gatunków może powodować duże szkody w uprawach rolniczych, sadownictwie, czy lasach. Niektóre gatunki są wektorami groźnych chorób ludzi i zwierząt. Jedną z cech łączących różne gatunki owadów są zmiany morfologiczne zachodzące podczas rozwoju od formy larwalnej do postaci dorosłej. Szereg procesów regulowana jest przez peptydy, chemiczne cząsteczki sygnalizacyjne uwalniane z zakończeń nerwowych, które *via* hemolimfa docierają do narządów docelowych [80]. Peptydy owadów i ich receptory są obecnie przedmiotem dużego zainteresowania badaczy przy opracowywaniu, na bazie tych molekuł, nowej generacji insektycydów wykazujących dużą selektywność i działanie bez efektów ubocznych, szkodliwych dla środowiska. Trudność stanowi dostarczenie peptydów owadom, gdyż są to cząsteczki niestabilne w środowisku ulegające szybkiej degradacji w układzie trawiennym. Dlatego w badaniach nad wykorzystaniem peptydów kładzie się duży nacisk na odkrywanie możliwości ich dostarczenia do ciała owadów [80].

Jednym ze sposobów dostarczenia peptydów owadom w warunkach laboratoryjnych jest iniekcja. Jako przykład opisano kininy, które powodują redukcję masy ciała i wzrost śmiertelności gąsienic poważnego szkodnika rolniczego *H. virescens*. Peptydy te są cząsteczkami o krótkich sekwencjach aminokwasowych i wpływają na większość procesów fizjologicznych. Z tych względów są dobrymi kandydatami do projektowania na ich bazie stabilnych metabolicznie czynników zwalczających owady [80].

Badania przeprowadzone przez Nachmana i wsp. [53] na ćmach *H. virescens* z zastosowaniem neuropeptydów z grupy pirokinin/PBAN wykazały, że kwasy

tłuszczowe i kwas cholowy mogą być z powodzeniem stosowane jako hydrofobowe komponenty używane do tworzenia amfifilnych syntetycznych analogów tych peptydów, które są zdolne do przenikania przez kutikulę. Związki hydrofobowe pozbawione pierścieni aromatycznych mogą być wykorzystywane do uzyskiwania przyjaznych dla środowiska analogów pseudopeptydowych peptydów owadzych, które zastąpią stosowane wcześniej związki benzenoidowe. Niepolarną macierz, stanowiącą składnik kutikuli owadów, wykorzystać można jako zbiornik, umożliwiający w sposób stopniowy uwalnianie do hemolimfy amfifilnych analogów pseudopeptydowych. Strategie zwalczania szkodników bazujące na peptydomimetykach mogą dostarczać analogów powodujących dwojakie efekty fizjologiczne, natychmiastową reakcję, albo powolną odpowiedź, która będzie utrzymywała się dłużej.

Fitches i wsp. [19] opracowali metodę umożliwiającą zastosowanie neuropeptydów owadów jako czynników owadobójczych. Badali oni allatostatynę, wyizolowaną z ćmy *Lacanobia oleracea*, która ma identyczną strukturę z peptydem Manse-AST występującym u *M. sexta*. Iniekcja tego peptydu powodowała redukcję żerowania, opóźniała wzrost i indukowała śmiertelność aż u 80% testowanych gąsienic [7]. Jednak efektów tych nie zaobserwowano, gdy peptyd podano w diecie, ponieważ proteazy występujące w układzie trawiennym gąsienic powodowały jego inaktywację. Zastosowano więc inny sposób dostarczenia allatostatyny z wykorzystaniem niektórych białek jako nośników. Zaobserwowano, że lektyna – GNA (*Galanthus nivalis agglutinin*), pochodząca z przebiśniegu *Galanthus nivalis*, po zjedzeniu przez gąsienice znajduje się w ich hemolimfie, co oznaczało, że nie jest trawiona przez proteazy jelitowe [20]. Zdolność do przejścia GNA przez nabłonek jelita daje możliwość potencjalnego zastosowania tej lektyny jako nośnika peptydów. Przeprowadzono więc fuzję białek GNA i Manse-AST, wprowadzono je do *Escherichia coli*. Gąsienice ćmy karmione sztuczną dietą zawierającą połączone białka wykazały zahamowanie żerowania oraz zmniejszony przyrost masy ciała [19]. Wysoki poziom Manse-AST-podobnego peptydu w hemolimfie gąsienic sugerował, że połączone białka przechodzą przez nabłonek jelita do hemolimfy. Fuzja GNA i Manse-AST chroni peptyd przed rozkładem proteolitycznym również w hemolimfie. Pozostaje on biologicznie czynny i powoduje takie same efekty, jak po iniekcji. Przewiduje się, że genetycznie modyfikowane rośliny zawierające odpowiednie peptydy staną się bronią przeciwko szkodnikom upraw [24].

Kolejnym zastosowaniem neuropeptydów owadzych jest ich udział w rozwiązywaniu problemów zdrowotnych dotyczących człowieka. Firmy farmaceutyczne poszukują nowych substancji farmakologicznych, które zwalczałyby choroby trapiące ludzi. W tym celu badane są różne peptydy występujące u bezkręgowców, które mają potencjalnie prozdrowotne działanie na komórki ssaków. Ważnym i ciągle nierozwiązanym problemem w medycynie jest regeneracja tkanki nerwowej. Procesy regeneracji neuronalnej i przebudowy tkanki nerwowej mają miejsce częściej u bezkręgowców niż ssaków. Szersze poznanie tych procesów u bezkręgowców może prowadzić do nowych rozwiązań w terapii chorób neurodegeneracyjnych i dać nowe perspektywy do naprawy tkanki nerwowej u ludzi [94].



Wiedza na temat nowych oraz już odkrytych neuropeptydów owadów zwiększa się z roku na rok. Poznawane są nowe funkcje odkrywanych białek oraz podejmowane są próby wykorzystania tych związków w różnych dziedzinach życia. Ważny jest aplikacyjny charakter tych biologicznie aktywnych białek i dlatego naukowcy na całym świecie intensywnie poszukują zastosowań neuropeptydów jako bezpiecznych insektycydów o selektywnym działaniu i przyjaznym środowisku, ale także badają możliwości wykorzystania tych związków w celach farmakologicznych i biomedycznych.

### PODZIĘKOWANIA

Praca powstała w trakcie realizacji projektu badawczego NN303401636 finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. PM jest stypendystą Fundacji im. Rodziny Państwa Kulczyków. MSz jest stypendystką w ramach projektu pt.: Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, współfinansowanego przez Unię Europejską w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

### LITERATURA

- [1] ADAMS ME, KIM YJ, PARK Y, ŽITŇAN D. Developmental peptides: ETH, corazonin, and PTTH. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 163–169.
- [2] ADAMS ME, ŽITŇAN D. Identification of ecdysis-triggering hormone in the silkworm *Bombyx mori*. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; **230**: 188–191.
- [3] AUDSLEY N, MATTHEWS HJ, PRICE NR, WEAVER RJ. Allatregulatory peptides in *Lepidoptera*, structures, distribution and functions. *J Insect Physiol* 2003; **54**: 969–980.
- [4] AUDSLEY N, MCINTOSH C, PHILLIPS JE. Isolation of a neuropeptide from locust corpus cardiacum which influences ileal transport. *J Exp Biol* 1992; **173**: 261–274.
- [5] AUDSLEY N, WEAVER RJ. Identification of neuropeptides from brains of larval *Manduca sexta* and *Lacanobia oleracea* using MALDI-TOF mass spectrometry and post-source decay. *Peptides* 2003; **24**: 1465–1474.
- [6] AUDSLEY N, WEAVER RJ. Neuropeptides associated with the regulation of feeding in insects. *Gen Comp Endocrinol* 2009; **162**: 93–104.
- [7] AUDSLEY N, WEAVER RJ, EDWARDS JP. *In vivo* effects of *Manduca sexta* allatostatin and allatotropin on larvae of the tomato moth, *Lacanobia oleracea*. *Physiol Entomol* 2001; **26**: 181–188.
- [8] BAGGERMAN G, BOONEN K, VERLEYEN P, DE LOOF A, SCHOOF L. Peptidomic analysis of the larval *Drosophila melanogaster* central nervous system by two-dimensional capillary liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 2005; **40**: 250–260.
- [9] BROWN MR, CRIM JW, ARATA RC, CAI HN, CHUN C, SHEN P. Identification of a *Drosophila* brain-gut peptide related to the neuropeptide Y family. *Peptides* 1999; **20**: 1035–1042.
- [10] CHAPMAN RF. Endocrine system. W: Chapman RF [red.] The insects. Structure and function 4th edition. Cambridge University Press 1998: 570–582.
- [11] CLYNEN E, SCHOOF L. Peptidomic survey of the locust neuroendocrine system. *Insect Biochem Mol Biol* 2009; **39**: 491–507.
- [12] COAST GM. The influence of neuropeptides on Malpighian tubule writhing and its significance for excretion. *Peptides* 1998; **19**: 469–480.
- [13] COAST GM. Insect diuretic and antidiuretic hormones. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 157–162.

- [14] DE LOOF A. Ecdysteroids, juvenile hormone and insect neuropeptides: recent successes and remaining major challenges. *Gen Comp Endocrinol* 2008; **155**: 3–13.
- [15] DONINI A, AGRICOLA HJ, LANGE AB. Crustacean cardioactive peptide is a modulator of oviduct contractions in *Locusta migratoria*. *J Insect Physiol* 2001; **47**: 277–285.
- [16] DUVE H, EAST PD, THORPE A. Regulation of lepidopteran foregut movement by allatostatins and allatotropin from the frontal ganglion. *J Comp Neurol* 1999; **413**: 405–416.
- [17] EIGENHEER RA, WIEHART UM, NICOLSON SW, SCHOOF L, SCHEGG KM, HULL JJ, SCHOOLEY DA. Isolation, identification and localization of a second beetle antidiuretic peptide. *Peptides* 2003; **24**: 24–27.
- [18] FERNLUND P, JOSEFSSON L. Crustacean color change hormone: amino acid sequence and chemical synthesis. *Science* 1972; **177**: 173–175.
- [19] FITCHES E, AUDSLEY N, GATEHOUSE JA, EDWARDS JP. Fusion proteins containing neuropeptides as novel insect control agents: snowdrop lectin delivers fused allatostatin to insect haemolymph following oral ingestion. *Insect Biochem Mol Biol* 2002; **32**: 1653–1661.
- [20] FITCHES E, ILETT C, GATEHOUSE AMR, GATEHOUSE LN, GREEN R, EDWARDS JP, GATEHOUSE JA. The effects of *Phaseolus vulgaris* erythro- and leucoagglutinating isolectins (PHA-E and PHA-L) delivered via artificial diet and transgenic plants on the growth and development of tomato moth (*Lacanobia oleracea*) larvae; lectin binding to gut glycoproteins *in vitro* and *in vivo*. *J Insect Physiol* 2001; **47**: 1389–1398.
- [21] FURUYA K, MILCHAK RJ, SCHEGG KM, ZHANG J, TOBE SS, COAST GM, SCHOOLEY DA. Cockroach diuretic hormones: characterization of a calcitonin-like peptide in insects. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 6469–6474.
- [22] GARCZYŃSKI SF, CRIM JW, BROWN MR. Characterization of neuropeptide F and its receptor from the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Peptides* 2005; **26**: 99–107.
- [23] GÄDE G, AUERSWALD L. Mode of action of neuropeptides from the adipokinetic hormone family. *Gen Comp Endocrinol* 2003; **132**: 10–20.
- [24] GÄDE G, GOLDSWORTHY GJ. Insect peptide hormones: a selective review of their physiology and potential application for pest control. *Pest Manag Sci* 2003; **59**: 1063–1075.
- [25] GÄDE G, HOFFMANN KH, SPRING JH. Hormonal regulation in insects: facts, gaps, and future directions. *Physiol Rev* 1997; **77**: 963–1032.
- [26] GÄDE G, MARCO HG. The Invertebrate AKH/RPCH Family. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 189–192.
- [27] GÄDE G, MARCO HG. Peptides of the adipokinetic hormone/red pigment concentrating hormone family with special emphasis on *Caelifera*: primary sequences and functional considerations contrasting grasshoppers and locusts. *Gen Comp Endocrinol* 2009; **162**: 59–68.
- [28] GLINKA AV, KLEINMAN AM, WYATT GR. Roles of juvenile-hormone, brain-derived factor and adipokinetic hormone-I in regulation of biosynthesis of vitellogenin in the migratory locust, *Locusta migratoria*. *Biochemistry (Moscow)* 1994; **59**: 695–700.
- [29] GOLDSWORTHY GJ, MULLEN L, OPOKU-WARE K, CHANDRAKANT S. Interactions between the endocrine and immune systems in locusts. *Physiol Entomol* 2003; **28**: 54–61.
- [30] GOUDEY-PERRIERE F, PERRIERE C, BROUSSE-GAURY P. Proctolin promotes vitellogenesis in the imaginal moult decapitated cockroach *Blaberus craniifer*. *Comp Biochem Physiol A* 1994; **108**: 533–542.
- [31] HARTENSTEIN V. The neuroendocrine system of invertebrates: a developmental and evolutionary perspective. *J Endocrinol* 2006; **190**: 555–570.
- [32] HEWES RS, TAGHERT PH. Neuropeptides and neuropeptide receptors in the *Drosophila melanogaster* genome. *Genome Res* 2001; **11**: 1126–1142.
- [33] HOLMAN GM, COOK BJ, NACHMAN RJ. Isolation, primary structure and synthesis of leucomyosuppressin, an insect neuropeptide that inhibits spontaneous contractions of the cockroach hindgut. *Comp Biochem Physiol C* 1986; **85**: 329–333.
- [34] HOLMAN GM, COOK BJ, NACHMAN RJ. Primary structure and synthesis of a blocked myotropic neuropeptide isolated from the cockroach, *Leucophaea maderae*. *Comp Biochem Physiol C* 1986; **85**: 219–224.
- [35] KATAOKA H, NAGASAWA H, ISOGAIA, ISHIZAKI H, SUZUKI A. Prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*: amino acid sequence and dimeric structure. *Agric Biol Chem* 1991; **55**: 73–86.

- [36] KATAOKA H, TOSCHI A, LI JP, CARNEY L, SCHOOLEY DA, KRAMER SJ. Identification of an allatotropin from adult *Manduca sexta*. *Science* 1989; **243**: 1481–1483.
- [37] KIM YJ, SPALOVSKA-VALACHOVA I, CHO K-H, ZITNANOVA I, PARK Y, ADAMS ME, ŽITŇAN D. Corazonin receptor signaling in ecdysis initiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 6704–6709.
- [38] KODRIK D, SOCHA R, ZEMEK R. Topical application of Pya-AKH stimulates lipid mobilization and locomotion in the flightless bug, *Pyrrhocoris apterus* (L.) (Heteroptera). *Physiol Entomol* 2002; **27**: 15–20.
- [39] KONOPÍŇSKA D, ROSÍŇSKI G. Proctolin, an insect neuropeptide. *J Pep Sci* 1999; **5**: 533–546.
- [40] KOPEĆ S. Experiments on metamorphosis of insects. *Bull Int Acad Cracovie B* 1917: 57–60.
- [41] KOPEĆ S. Studies on the necessity of the brain for the inception of insect metamorphosis. *Biol Bull* 1922; **42**: 323–342.
- [42] KRAMER SJ, TOSCHIA, MILLER CA, KATAOKA H, QUISTAD GB, LI GP, CARNEY RL, SCHOOLEY DA. Identification of an allatostatin from the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; **88**: 9458–9462.
- [43] KWOK R, CHAN SM, TOBE SS. Crustacean bioactive peptides. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 177–181.
- [44] LANGE AB, ORCHARD I. Proctolin in insects. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 177–181.
- [45] LEE KY, HORODYSKI FM, CHAMBERLIN ME. Inhibition of midgut ion transport by allatotropin (Mas-AT) and Manduca FLRFamides in the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *J Exp Biol* 1998; **201**: 3067–3074.
- [46] LIB, PREDEL R, NEUPERT S, HAUSER F, TANAKA Y, CAZZAMALI G, WILLIAMSON M, ARAKANE Y, VERLEYEN P, SCHOOF S L, SCHACHTNER J, GRIMMELIKHUIJZEN CJP, PARK Y. Genomics, transcriptomics, and peptidomics of neuropeptides and protein hormones in the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Genome Res* 2008; **18**: 113–122.
- [47] MAULE AG, SHAW C, HALTON DW, THIM L, JOHNSTON CF, FAIRWEATHER I, BUCHANAN KD. Neuropeptide F: a novel parasitic flatworm regulatory peptide from *Moniezia expansa* (Cestoda: Cyclophyllidae). *Parasitology* 1991; **102**: 309–316.
- [48] MARCINIAK P, GRODECKI S, KONOPÍŇSKA D, ROSÍŇSKI G. Structure-activity relationships for the cardiotropic action of the Led-NPF-I peptide in the beetles *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. *J Pep Sci* 2008; **14**: 329–334.
- [49] MARCINIAK P, ROSÍŇSKI G. Aktualny stan badań nad neuropeptydami miotropowymi owadów: tachykininy, sulfakininy i FMRFa-pokrewne peptydy. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 241–249.
- [50] MARCINIAK P, SŁOCINSKA M, BEDNARZ P, GRODECKI S, KONOPÍŇSKA D, ROSÍŇSKI G. Effects of arginine substitutions on the cardioinhibitory activity of the Led NPF I neuropeptide. *Pesticides* 2009; **1–4**: 57–62.
- [51] MERTE J, NICHOLS R. *Drosophila melanogaster* FMRFamide containing peptides: redundant or diverse functions? *Peptides* 2002; **23**: 209–220.
- [52] MUNTE CE, GÄDE G, DOMOGALLA B, KREMER W, KELLNER R, KALBITZER HR. C-mannosylation in the hypertrehalosaemic hormone from the stick insect *Carausius morosus*. *FEBS J* 2008; **275**: 1163–1173.
- [53] NACHMAN RJ, TEAL PEA, UJVARY I. Comparative topical pheromonotropic activity of insect pyrokinin /PBAN amphiphilic analogs incorporating different fatty and/or cholic acid components. *Peptides* 2001; **22**: 279–285.
- [54] NÄSSEL DR. Tachykinin-related peptides in invertebrates: a review. *Peptides* 1999; **20**: 141–158.
- [55] NÄSSEL DR. Neuropeptides in the nervous system of *Drosophila* and other insects: multiple roles as neuromodulators and neurohormones. *Prog Neurobiol* 2002; **68**: 1–84.
- [56] NÄSSEL DR. Tachykinins and tachykinin-related peptides in invertebrates. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 171–176.
- [57] NEUPERT S, PREDEL R. Mass spectrometric analysis of single identified neurons of an insect. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **327**: 640–645.
- [58] NICHOLS R, MANOOGIAN B, WALLING E, MISPELON M. Plasticity in the effects of sulfated and nonsulfated sulfakinin on heart contractions. *Front Biosci* 2009; **14**: 4035–4043.
- [59] OEH U, ANTONICEK H, NAUEN R. Myotropic effect of heliocokinins, tachykinin-related peptides and *Manduca sexta* allatotropin on the gut of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Insect Physiol* 2003; **49**: 323–337.

- [60] ORCHARD I, LANGE AB. Insect myosuppressins/FMRFamides and FL/IRFamides/NPFs. W: KASTIN AJ. [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 193–199.
- [61] ORCHARD I, LANGE AB, BENDENA WG. FMRFamide-related peptides: A multifunctional family of structurally related neuropeptides in insects. *Adv Insect Physiol* 2001; **28**: 267–329.
- [62] PENNEFATHER JN., LECCIA, CANDENAS ML, PATAK E, PINTO FM, MAGGI CA. Tachykinins and tachykinin receptors: a growing family. *Life Sci* 2004; **74**: 1445–1463.
- [63] PREDEL R, ECKERT M. Neurosecretion: peptidergic systems in insects. *Naturwissenschaften* 2000; **87**: 343–350.
- [64] PREDEL R, GÄDE G. Peptidomics of neurohemal organs from species of the cockroach family *Blattellidae*: how do neuropeptides of closely related species differ? *Peptides* 2005; **26**: 3–9.
- [65] PREDEL R, LINDE D, RAPUS J, VETTERMANN S, PENZLIN H. Periviscerokinin (Pea-PVK): a novel myotropic neuropeptide from the perisymphatic organs of the American cockroach. *Peptides* 1995; **16**: 61–66.
- [66] PREDEL R, NACHMAN RJ. The FXPRLamide (Pyrokinin/PBAN) peptide family. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 207–212.
- [67] PREDEL R, RUSSELL WK, RUSSELL DH, LOPEZ J, ESQUIVEL J, NACHMAN RJ. Comparative peptidomics of four related hemipteran species: pyrokinins, myosuppressin, corazonin, adipokinetic hormone, sNPF, and periviscerokinins. *Peptides* 2008; **29**: 162–167.
- [68] PRICE DA, GREENBERG MJ. Structure of the molluscan cardioexcitatory neuropeptide. *Science* 1977; **197**: 670–671.
- [69] PYZA E, MEINERTZHAGEN IA. The regulation of circadian rhythms in the fly's visual system: involvement of FMRFamide-like neuropeptides and their relationship to pigment dispersing factor in *Musca domestica* and *Drosophila melanogaster*. *Neuropeptides* 2003; **37**: 277–289.
- [70] RAABE M. Synthesis, storage and release of neurohormones. W: Insect neurohormones. (ed.) Raabe M, Plenum Publishing Corporation NY 1982: 1–55.
- [71] RAFAELI A. Pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN): regulatory role and mode of action. *Gen Comp Endocrinol* 2009; **162**: 69–78.
- [72] RAINA AK, GÄDE G. Insect peptide nomenclature. *Insect Biochem* 1989; **18**: 785–787.
- [73] REUMER A, VAN LOY T, CLYNEN E, SCHOOF L. How functional genomics and genetics complements insect endocrinology. *Gen Comp Endocrinol* 2008; **155**: 22–30.
- [74] ROLLER L, ZITŇANOVÁ I, DAI L, SIMO L, PARK Y, SATAKE H, TANAKA Y, ADAMS ME, ŽITŇAN D. Ecdysis triggering hormone signaling in arthropods. *Peptides* 2010; **31**: 429–441
- [75] ROSIŃSKI G. Metaboliczne i miotropowe neuropeptydy owadów. *Seria Zoologia* 1995; **22**, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- [76] ROSAY P, DAVIES SA, YU Y, SOZEN A, KAISER K, DOW JA. Cell-type specific calcium signalling in a *Drosophila epithelium*. *J Cell Sci* 1997; **110**: 1683–1692.
- [77] SCHARRER B. Neurosecretion. II. Neurosecretory cells in the central nervous system of cockroaches. *J Comp Neurol* 1941; **74**: 93–108.
- [78] SCHARRER B, SCHARRER E. Neurosecretion. IV. Comparison between the intercerebralis-cardiacum-allatum system of the insects and the hypothalamo-hypophyseal system of the vertebrates. *Biol Bull* 1944; **87**: 242–251.
- [79] SCHOOF L, NACHMAN RJ. Sulphakinins. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 193–199.
- [80] SHERKENBECK J, ZDOBINSKY T. Insect neuropeptides: Structures, chemical modifications and potential for insect control. *Bioorg Med Chem* 2009.
- [81] SEVERINI C, IMPROTA G, FALCONIERI-ERSPAMER G, SALVADORI S, ERSPAMER V. The tachykinin peptide family. *Pharmacol Rev* 2002; **54**: 285–322.
- [82] SKONIECZNA M, GRODECKI S, KONOPIŃSKA D, ROSIŃSKI G. New biological activity of NPF-related peptides in insects. *Pesticides* 2005; **4**: 91–98.
- [83] SKONIECZNA M, ROSIŃSKI G. Cardioactive effects of FMRFamide-related peptides in beetles, *Tenebrio molitor* and *Zophobas atratus*. *Pesticides* 2004; **3–4**: 33–39.
- [84] SLAMA K, ROSIŃSKI G. Delayed pharmacological effects of proctolin and CCAP on heartbeat in pupae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Physiol Entomol* 2005; **30**: 14–28.
- [85] SPITTAELS K, VANKEERBERGHEN A, TORREKENS S, DEVREESE B, GRAUWELS L, VAN LEUVEN F, HUNT D, SHABANOWITZ J, SCHOOF L, VAN BEEUMEN J, DE LOOF A. Isolation of Ala1-proctolin, the first natural analogue of proctolin, from the brain of the Colorado potato beetle. *Mol Cell Endocrinol* 1995; **110**: 119–124.

- [86] STANGIER J, HILBICH C, DIRCKSEN H, KELLER R. Distribution of a novel cardioactive neuropeptide (CCAP) in the nervous system of the shore crab *Carcinus maenas*. *Peptides* 1988; **9**: 795–800.
- [87] STARRAT AN, BROWN BE. Structure of the pentapeptide proctolin, proposed neurotransmitter in insects. *Life Science* 1975; **17**: 1253–1256.
- [88] STONE JV, MORDUE W, BADEY KE, MORRIS HR. Structure of locust adipokinetic hormone, a neurohormone that regulates lipid utilization during flight. *Nature* 1976; **263**: 207–211.
- [89] STURM RM, DOWELL JA, LI L. Rat brain neuropeptidomics: tissue collection, protease inhibition, neuropeptide extraction, and mass spectrometric analysis. *Methods Mol Biol* 2010; **615**: 217–226.
- [90] SVENSSON M, SKÖLD K, NILSSON A, FÄLTH M, SVENNINGSSON P, ANDRÉN PE. Neuropeptidomics: expanding proteomics downwards. *Biochem. Soc Trans* 2007; **35**: 588–593.
- [91] ŚLIWOWSKA J, ROSIŃSKI G, NÄSSEL DR. Cardioacceleratory action of tachykinin-related neuropeptides and proctolin in two coleopteran insect species. *Peptides* 2001; **22**: 209–217.
- [92] TAYLOR PA, BHATT TR, HORODYSKI FM. Molecular characterization and expression analysis of *Manduca sexta* allatotropin. *Eur J Biochem* 1996; **239**: 588–596.
- [93] TOBE SS, BENDENA WG. Allatostatins in the insects. W: KASTIN AJ [red.] Handbook of biologically active peptides. Elsevier 2006: 201–206.
- [94] VANDEN BROECK J, SCHOofs L, DE LOOF A. Insect neuropeptides and their receptors. New leads for medical and agricultural applications. *TEM* 1997; **8**: 321–326.
- [95] VEELAERT D, PASSIER P, DEVREESE B, VANDEN BROECK J, VAN BEEUMEN J, VULLINGS H, DIEDEREN J, SCHOofs L, DE LOOF A. Isolation and characterization of an adipokinetic hormone release-inducing factor in locusts: the crustacean cardioactive peptide. *Endocrinology* 1997; **138**: 138–142.
- [96] VEENSTRA JA. Isolation and structure of corazonin, a cardioactive peptide from the American cockroach. *FEBS Lett* 1989; **250**: 231–234.
- [97] VEENSTRA JA. Does corazonin signal nutritional stress in insects? *Insect Biochem Mol Biol* 2009; **39**: 755–762.
- [98] VERLEYEN P, CLYNEN E, HUYBRECHTS J, VAN LOMMEL A, VANDEN BOSCH L, DE LOOF A, ZDAREK J, SCHOofs L. Fraenkel's pupariation factor identified at last. *Dev Biol* 2004; **273**: 38–47.
- [99] VERLEYEN P, HUYBRECHTS J, SCHOofs L. SIFamide illustrates the rapid evolution in Arthropod neuropeptide research. *Gen Comp Endocrinol* 2009; **162**: 27–35.
- [100] VULLINGS HGB, TEN VOORDE SEEG, PASSIER PCCM, DIEDEREN JHB, VAN DER HORST DJ, NÄSSEL DR. A possible role of SchistoFLRFamide in inhibition of adipokinetic hormone release from locust *corporea cardiaca*. *J Neurocytol* 1998; **27**: 901–913.
- [101] WANG J, MEYERING-VOS M, HOFFMANN KH. Cloning and tissue specific localization of cricket-type allatostatins from *Gryllus bimaculatus*. *Mol Cell Endocrinol* 2004; **227**: 41–51.
- [102] WEAVER RJ, AUDSLEY N. Neuropeptides of the beetle, *Tenebrio molitor* identified using MALDI-TOF mass spectrometry and deduced sequences from the *Tribolium castaneum* genome. *Peptides* 2008; **29**: 168–178.
- [103] WEAVER RJ, AUDSLEY N. Neuropeptide regulators of juvenile hormone synthesis: structures, functions, distribution, and unanswered questions. *Ann NY Acad Sci* 2009; **1163**: 316–329.
- [104] WEGENER C, HERBERT Z, ECKERT M, PREDEL R. The periviscerokin (PVK) peptide family in insects: evidence for the inclusion of CAP<sub>2b</sub> as a PVK family member. *Peptides* 2002; **23**: 605–611.
- [105] WOODHEAD AP, STAY B, SEIDEL SL, KHAN MA, TOBE SS. Primary structure of four allatostatins: Neuropeptide inhibitors of juvenile hormone synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; **86**: 5997–6001.
- [106] ŽITŇAN D, ADAMS ME. Excitatory and inhibitory roles of central ganglia in initiation of the insect ecdysis behavioural sequence. *J Exp Biol* 2000; **203**: 1329–1340.
- [107] ŽITŇAN D, KINGAN TG, HERMESMAN JL, ADAMS ME. Identification of ecdysis-triggering hormone from an epitracheal endocrine system. *Science* 1996; **271**: 88–91.

Redaktor prowadzący – Barbara Płytycz

Otrzymano: 08.11. 2010 r.

Przyjęto: 18.11. 2010 r.

Paweł Marciniak, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Zwierząt UAM

ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

e-mail: pmarcin@amu.edu.pl