

Streszczenie

W pracy zbadano w układzie heterologicznym z wykorzystaniem chrząszcza *T. molitor* aktywność immunotropową, gonadotropową oraz embriotoksyczną: alloferonu i jamamarinu oraz ich peptydomimetyków stanowiących koniugaty z nasyconymi kwasami tłuszczowymi: kwasem kaprylowym [C8], mirystynowym [C14] i palmitynowym [C16]. Badania prowadzone na dorosłych chrząszczach wykazały plejotropowe i zróżnicowane oddziaływanie tych związków na procesy związane z funkcjonowaniem układu immunologicznego i rozrodczego oraz rozwój embrionalny. Należy zaznaczyć, że badania z wykorzystaniem testowanych peptydomimetyków alloferonu zostały przeprowadzone po raz pierwszy. Z kolei poznanie aktywności jamamarinu, niedawno opisanego pentapeptydu wyizolowanego z ćmy *Antheraea yamamai*, jak i jego analogu, dostarczyło nowych danych odnośnie fizjologicznej roli tego peptydu u owadów.

Uzyskane wyniki wskazują, że testowane peptydy modulują aktywność układu immunologicznego zarówno na poziomie odpowiedzi komórkowej, zmieniając aktywność fagocytarną hemocytów oraz ich zdolność do nodulacji, jak i wpływają na odpowiedź typu humoralnego opartą o aktywność oksydazy polifenolowej. Aplikacja obu peptydów oraz ich analogów powodowała zwiększenie liczby hemocytów fagocytujących oraz w sposób stężeniowo-zależny wpływała na proces nodulacji, równocześnie indukując stężeniowo- oraz czasowo-zależne zmiany w odpowiedzi humoralnej. Ponadto, związki te, choć nie wpływały na zdolność hemocytów do adhezji, to w części populacji tych komórek wykazywały działanie pro-apoptotyczne.

W trakcie badań wykazano ponadto szerokie i zróżnicowane spektrum oddziaływania badanych peptydów i ich analogów na procesy związane z funkcjonowaniem żeńskiego układu rozrodczego *T. molitor*. Związki te posiadają właściwości oocytotropowe, folikulotropowe i wpływają na proces owulacji oraz owipozycji. W kontekście rozwojowym, obserwowano, po ich aplikacji topikalnej w trakcie embriogenezy, działanie embriotoksycznie, prowadzące do redukcji liczby wylęgających się larw. Dodatkowo, iniekcja tych związków powodowała wystąpienie stężeniowo-zależnych zmian w objętości oocytów terminalnych, które nie były jednak powiązane z równoczesnymi zmianami w strukturze nabłonka folikularnego owariolii. Były one raczej skorelowane ze zwiększeniem poziomu ekspresji genu kodującego witelogeninę, białka zapasowego dla rozwijającego się zarodka, w tkance ciała

tłuszczowego i jajnika. Ponadto po aplikacji alloferonu oraz jego analogów obserwowano bimodalny, stężeniowo-zależny wpływ tego związku na liczbę składanych jaj.

Chociaż wyniki przeprowadzonych badań pokazują wyraźnie immunotropową, gonadotropową i embriotoksyczną aktywność alloferonu i jamamarinu oraz ich peptydomimetyków, to trudno precyzyjnie określić, które z tych rodzajów aktywności są bardziej specyficzne dla jednego lub drugiego peptydu natywnego. Wykonana wstępna analiza współzależności struktura – aktywność fizjologiczna dla obu peptydów zdaje się pokazywać, że modyfikowanie *N*-końca ich cząsteczki w kierunku bardziej hydrofobowym pozwala otrzymać koniugaty o własnościach agonistów lub antagonistów. Fakt, że oba natywne peptydy wykazują szerokie działanie fizjologiczne dowodzi pośrednio występowania receptora(ów) w tkankach *T. molitor* dla tych peptydów. Poza tym zróżnicowana niekiedy odpowiedź w badanych procesach fizjologicznych podczas działania poszczególnych analogów sugeruje możliwość zmiany w oddziaływaniu analogów z receptorem(ami) dla tych peptydów, a także modyfikowania transdukcji sygnału.

Summary

In the study, immunotropic, gonadotropic and embryotoxic activity of alloferone and yamamarin and their peptidomimetics being conjugates with saturated fatty acids: caprylic acid [C8], myristic [C14] and palmitic [C16], in a heterologous biotest with *T. molitor* was tested. Studies have shown pleiotropic and differential effects of these compounds on processes related to the functioning of the immune and reproductive system and embryonal development in adult beetles. It should be noted that studies on selected alloferone peptidomimetics were carried out for the first time. In turn, revealed activity of yamamarin, a recently described pentapeptide isolated from *Antheraea yamamai* moths, as well as its analogue, is the foundation of knowledge about this peptide and its role in insect physiology. The obtained data showed that the tested peptides modulate the activity of the immune system at the cellular level of response, changing the ability of haemocytes to the phagocytosis and nodulation process, as well as at the humoral immunological response based on the action of polyphenol oxidase. Both peptides and their analogues increased the number of phagocytic haemocytes and showed a concentration-dependent effect on the nodulation process. Simultaneously, tested peptides induced concentration- and time-dependent changes in the humoral response in adult beetles. These compounds, although in the initial phase did not affect the ability of haemocytes to adhesion, part of the cell population showed a pro-apoptotic effect.

The study also showed a broad and diversified impact spectrum of the tested peptides and their analogues on processes related to the functioning of the female reproductive system of *T. molitor*. These compounds possess oocyrotropic and follicle stimulating properties. They influence ovulation and egg-laying processes, and in developmental aspect, after topical application they work embryotoxically, reducing the number of hatching larvae. Injections of these compounds caused the occurrence of concentration-dependent changes in the volume of terminal oocytes, which, however, were not related to simultaneous changes in the ovarian follicle epithelium, but rather, they were correlated with the increased expression of the gene encoding the storage protein for the developing embryo - witelogenin. After application of alloferone and its analogues, concentration-dependent bimodal changes in the number of laid eggs were observed.

Although the results of the firstly conducted studies show clearly the immunotropic, gonadotropic and embryotoxic activity of alloferone, yamamarin and their peptidomimetics, it is difficult to determine precisely which of these activities are more specific for one or other

of the native peptides. The preliminary analysis of the interrelationships structure - physiological activity for both peptides seems to show that modifying the *N*-terminus of their molecule in a more hydrophobic direction allows to obtain conjugates with agonist or antagonist properties. The fact that both native peptides show a wide physiological effect indirectly proves at the same time the presence of receptor(s) for them in *T. molitor* tissues. In addition, varied response of studied physiological processes during individual analogues action, suggests the possibility of changing interaction of the analogue with their receptor(s) and modifying signal transduction.