



Ing. Juraj MAJTÁN, PhD.

RNDr. Milan KOZÁNEK, CSc.

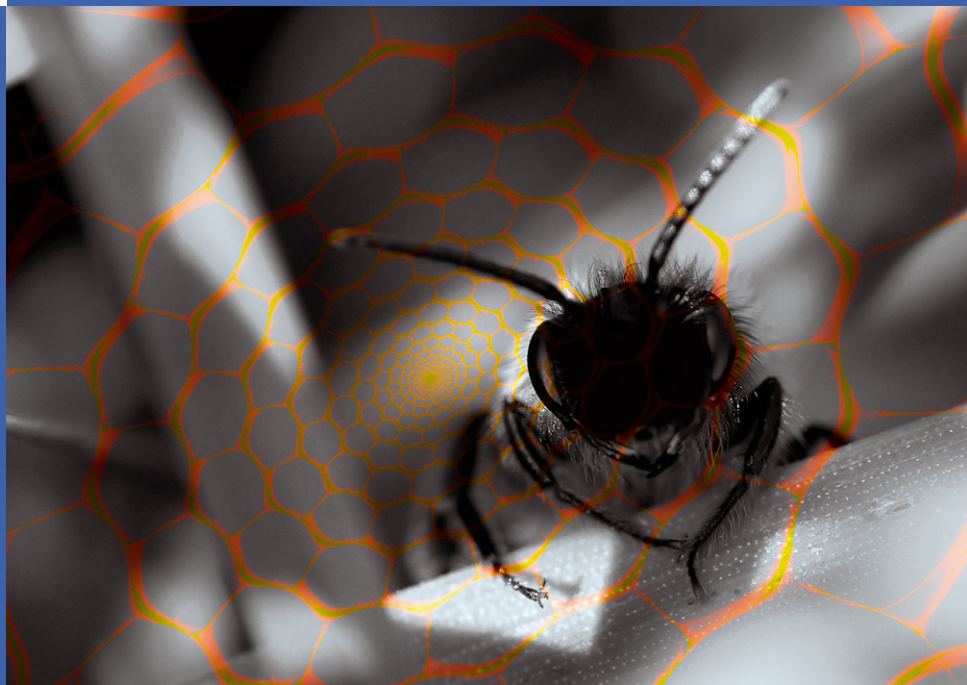
RNDr. Peter TAKÁČ, CSc.

MUDr. Marek ČAMBAL, PhD.

Apiterapia

a jej využitie v klinickej praxi

ÚSTAV ZOOLOGIE SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED
LEKÁRSKA FAKULTA UNIVERZITY KOMENSKÉHO V BRATISLAVE



vysokoškolské učebné texty

ÚSTAV ZOOLOGIE SLOVENSKEJ AKADEMIE VIED
LEKÁRSKA FAKULTA UNIVERZITY KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

Vysokoškolské učebné texty

Ing. Juraj MAJTÁN, PhD.

RNDr. Milan KOZÁNEK, CSc.

RNDr. Peter TAKÁČ, CSc.

MUDr. Marek ČAMBAL, PhD.

Bratislava, 2012



Európska únia

Európsky fond regionálneho rozvoja



Učebné texty vznikli vďaka podpore v rámci Operačného programu Výskum a vývoj pre projekt: „Vybudovanie bioterapeutického pracoviska a návrh technológie pre výrobu a vývoj biofarmák“ ITMS: 26240220020, spolufinancovaného zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

„Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku.
Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov EÚ“.

Obsah

1. Úvod	5
2. História apiterapie	7
3. Včela medonosná <i>Apis mellifera</i>	9
3.1 Žľazová sústava včely	9
4. Včelí med	11
4.1 Zloženie medu	11
4.2 Antibakteriálny účinok medu	12
4.3 Med v procese hojenia rán	13
4.4 Medicínske medy	14
4.5 Aplikácia medu na ranu	15
4.6 Med a diabetes	15
4.7 Med a respiračné ochorenia	16
5. Materská kašička	17
5.1 Zloženie materskej kašičky	17
5.2 Biologické účinky materskej kašičky	18
5.3 Protizápalové pôsobenie materskej kašičky	19
5.4 Použitie materskej kašičky v medicíne	20
6. Propolis	21
6.1 Klinické použitie propolisu pri liečení chronických rán	22
6.2 Mechanizmus účinku propolisu pri hojení rán	23
7. Včelí jed	24
7.1 Biologické účinky včelieho jedu	24
7.2 Aplikácia včelieho jedu	26
8. Včelí peľ	27
9. Budúcnosť apiterapie	28
10. Použitá literatúra	29

1

Úvod

Vďaka pokroku vo vedeckej oblasti a vývoju nových technológií v modernej medicíne už aj alternatívna medicína nadobúda kontúry uznávanej a nielen vedecky ale aj klinicky osvedčenej medicíny. Skeptické názory lekárskeho autorít na alternatívnu medicínu sa pomaly dostávajú do úzadia, o čom svedčí aj vznik niekoľkých nových recenzovaných a uznávaných časopisov zaoberajúcich sa vedecky a klinicky podloženou alternatívnou medicínou. Zdá sa to byť paradoxné, ale moderný človek sa vracia späť k prírodným produktom. Početné novo-syntetizované, zaručene klinicky testované liečivá v priebehu niekoľkých rokov strácajú svoju účinnosť alebo sa objavujú nežiadúce vedľajšie účinky. Domnievam sa, že 30-ročný klinický výskum nových zlúčenín je nedostatočný v porovnaní s prírodnými produktmi, ktoré sa formovali do výslednej podoby stovky rokov.

Hlavným dôvodom neochoty farmaceutických gigantov o prírodné produkty spočíva v skutočnosti, že za liečivým účinkom prírodných produktov sa zväčša ukrýva komplex účinných látok, resp. mechanizmov, ktoré pôsobia synergicky. Pekným príkladom sú včelie produkty z ktorých najznámejší a najpoužívanejší je med. Včelí med ako aj ostatné včelie produkty (propolis a materská kašička) sa od nepamäti využívajú nielen pri liečení rôznych ochorení a infekcií, ale predstavujú účinné imunostimulátory, t.j. aktivujú bunky a mechanizmy imunitného systému. Používanie včelieho medu a propolisu ako liečiv s výraznými antimikrobiálnymi vlastnosťami bolo potlačené do úzadia a nahradené komfortnou antibiotickou liečbou. Spotreba antibiotík celosvetovo stále stúpa, čím sa priamo úmerne zvyšuje aj výskyt bakteriálnych kmeňov, ktoré sa stavajú odolné voči antibiotikám.

Med sa už od nepamäti používa ako sladidlo, ale už staroveký Gréci a Egypťania ho používali aj na hojenie rán. Práve používanie včelieho medu v procese hojenia predovšetkým ťažko hojajúcich sa rán sa čoraz častejšie etabluje v renomovaných klinikách vo vyspelých štátoch (UK, USA a Austrália). Pri používaní prírodných produktov v zdravotníctve sa veľký doraz kladie najmä na bezpečnosť a z tohto dôvodu sa začal používať tzv. medicínsky med. Včelie medy môžu byť rezervoárom bakteriálnych spór, ktoré by mohli spôsobiť problém pri hojení rán najmä pri hlbokých ranách v anaeróbných podmienkach. Certifikovaný medicínsky med eliminuje potenciálne bakteriálne spóry ako aj ich vegetatívne formy pomocou gama žiarenia bez negatívneho vplyvu na samotný hojaci účinok medu.

Za posledné roky bolo vykonaných niekoľko kontrolovaných klinických štúdií za účelom overenia účinnosti včelieho medu v procese hojenia chronických rán v porovnaní so štandardnou terapiou. Hlavným výsledkom väčšiny klinických skúšok je skrátenie doby hospitalizácie u pacientov ošetrovaných medom, čo priamo súvisí s finančnými nákladmi na hospitalizáciu a ošetrovanie.

Často krát alternatívne metódy zachránia postihnuté končatiny od amputácie a tým umožnia zachovať kvalitu života pacientom s chronickými

6 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

infekčnými ranami. Nevyhnutnou podmienkou je však dostatočná informovanosť lekárov ako aj pacientov, ktorí by mali mať právo voľby a rozhodnutia v prospech alternatívnych bioterapeutických metód.

2

História apiterapie

Pod pojmom apiterapia sa rozumie oblasť medicíny, ktorá sa vedecky zaoberá liečením niektorých chorôb včelími produktmi a štúdiom vplyvu medu, včelej materskej kašičky, vosku, včelieho jedu, propolisu alebo peľu na živý organizmus. Včelie produkty sú využívané aj v kozmetike a v potravinárstve. Slovo „apiterapia“ bolo prvýkrát použité a definované zakladateľom tejto bioterapie Dr. Charlesom Mrazom v roku 1986.

História apiterapie sa datuje už od starovekého Grécka, Egyptu a Číny. Je pravdepodobne tak stará ako samotné včelárstvo. Ako dávno pozná človek včelu a jej vzácne produkty nevieme ani archeologickými, ani inými vedeckými výskumami presnejšie stanoviť. Archeologické nálezy skamenlín včely z tretohôr (miocénnej doby) dokazujú, že včela žila na našej planéte už pred 15 miliónmi rokov, teda ešte pred človekom, ktorý sa objavil až v štvrtohorách. S určitou istotou však vieme, že med a mlieko patrili medzi hlavné potraviny pravekého predhistorického človeka a že ľudia žijúci normádskeho (kočovného) životom poznali včelu a jej produkty.

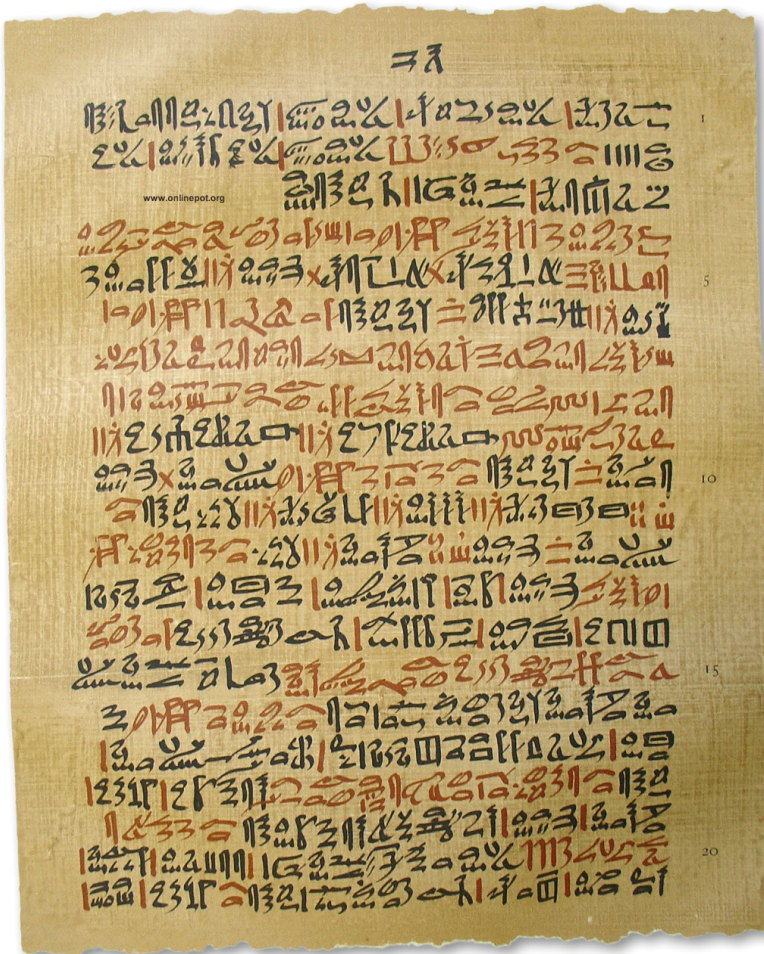
Azda najviac využívaným produktom včiel je med. Med bol vzácnou potravinou, liekom a sladidlom nielen pre pravekého človeka, ale vážili si ho aj staroveké národy, a to tým viac, že po mnohých praktických skúsenostiach mu pripisovali aj zvláštnu liečivú a posilňujúcu moc. Nazýval sa aj elixírom mladosti a života. V afrických krajinách (najmä v Abesínii) a v krajinách so starovekou kultúrou bol dôležitým liekom v ľudovej medicíne s vnútorným i vonkajším upotrebením. Podľa egyptských súborných medicínálnych spisov písaných na papyruse sa včelí med už v najstarších dobách používal ako liek. Egypťania ho používali ako liek proti telesným slabostiam a ako divotvornú masť na liečenie vredov. Jedným dodnes zachovaným papyrusom je aj Ebers papyrus, napísaný okolo roku 1550 p.n.l., pozostávajúcím zo 110 roliek. Ebers papyrus obsahuje kapitoly, ktoré opisujú postupy a zloženie prípravkov na liečenie rôznych zdravotných neduhov, na ktoré sa využíval aj med (Obr. 1). Predpokladá sa, že ide o prepis medicínskych postupov a zloženia produktov datovaných spreď roku 3400 p.n.l.

Hypokrates, slávny grécky lekár (považovaný za otca vedeckého lekárstva) píše, že med a víno sa u chorých i zdravých ľudí najlepšie uplatnia ak sa užijú vo vhodnom čase a množstve. Med dával chorým priamo alebo ako nápoj miešaný s mliekom. Na vonkajšie použitie ho predpisoval na rany. Med bol najvzácnejším liečebným prostriedkom. Hypokrates využíval aj včelí jed ako terapeuticky prostriedok na pomoc proti bolesti kĺbov a odkazy na tento spôsob liečenia sú uverejnené v spisoch z čias starovekého Egypta a Grécka.

U mnohých stredovekých kultúr bol med symbolom plodnosti, väčšinou sa dával do vena nevesty. Med a výrobky z neho patrili k darom, ktoré nemohli chýbať na oltároch bohov. Dokonca sa kladol aj do hrobov zosnulých. Med si veľmi vážili aj moslimovia. Mohamed hrozil ľuďom, ktorí pohrdali zákonmi, odňatím medu. Med sa stal súčasťou rôznych mystických rituálov.

Len veľmi ťažko by sme našli národ, ktorý by sa nezaoberal používaním alebo konzumáciou včelích produktov. Používali ich Vikingovia na posilnenie svojich výprav, Rimania pred bojom, Mayovia, Germáni, Slovania, Kelti, Mojžiš, Mohamed, starí Čiňania, jednoducho všetky národy histórie.

Zdá sa to byť paradoxné, ale moderný človek sa vracia späť k prírodným včelím produktom. Početné novo-syntetizované, zaručene klinicky testované liečivá v priebehu niekoľkých rokov strácajú svoju účinnosť. Domnievame sa, že 30-ročný klinický výskum nových zlúčenín je nedostatočný v porovnaní s prírodnými včelími produktmi, ktoré sa formovali do výslednej podoby stovky až tisíce rokov.



Obr. 1
Ebers papyrus
1500 p.n.l.

3

Včela medonosná *Apis mellifera*

Včela medonosná (*Apis mellifera*) je druh z nadčelade včely, čelade včelovitá (Obr. 2). Včelstvo je samostatná biologická jednotka, organizmus vo vyššom slova zmysle, reagujúci ako celok na rôzne vonkajšie podnety s určitými zákonitostami vo vývoji jedinca a celku. Je biologickou jednotkou vyznačujúcou sa delbou práce a zložitými inštinktmi. Včelstvo tvorí matka, veľký počet robotníc (v zdravom včelstve až 80 000 a viac), trúdov a plodov (Obr. 3). Z robotníc jednu tretinu tvoria lietavky, dve tretiny pripadajú na mladušky. Medzi matkou a robotnicou sú okrem rozdielov v rôznych fyziologických funkciách zjavné aj morfológické rozdiely, aj keď vývojový základ – vajíčko – je u oboch úplne rovnaké.

V normálnych pomeroch a za normálneho života vo včelstve, sa mladuška niekoľko hodín po vyliahnutí okamžite venuje čisteniu plástu na zkladanie nových plodov. Mladušky staré 3–5 dní krmia plod pripravenou zmesou z peľu, medu a vody. Sotva mladuška dokončí funkciu krmíčky plodu, začnú fungovať jej voskotvorné žľazy a mladuška sa venuje vylučovaniu vosku a stavbe plástu. Medzi 12. až 18. dňom svojho života sa značná časť mladušiek venuje zahusťovaniu a ukladaniu nektáru alebo peľu prinášaného lietavkami. Mladšie lietavky nosia peľ, staršie nektár a najstaršie vodu.

Z pohľady apiterapie je dôležité poznanie akým spôsobom včely obohacujú svoje produkty o biologicky aktívne sekrečné látky a aké látky sú do produktov sekretované. Preto je dôležité poznať anatómiu a morfológiu žľazovej sústavy, predovšetkým hltanových (faryngeálnych) a jedových žľaz.

3.1 Žľazová sústava včely

U včiel sú najpočetnejšie žľazy, ktorých činnosť súvisí s látkovou premenou, t. j. fyziológiou trávenia a vylučovania produktov látkovej premeny. Zatiaľ čo u larvy je sústava žľaz jednoduchá, žľazy dospelých včiel sú vzhľadom na ich životné úkony početné. Z nich niektoré sú čo do stavby a funkcie zložité. Rozmiestnené sú v hlave, hrudi aj brušku. Z hľadiska liečebných vlastností včelích produktov je dôležitá najmä produkcia sekrétu z hltanových žľaz a produkcia jedu z jedovej žľazy.

Hltanová – faryngeálna žľaza (*glandula pharyngealis*)

Umiestnená je v hlave včiel robotníc. Jej výlučkom (sekrétom) krmia včely robotnice plod, matku a trúdy. Matky a trúdy ju nemajú. Žľaza je párová – má dve okrúhle, 2 cm dlhé vetvičky hrozovitového tvaru. Činnosť hltanovej žľazy vzhľadom na vek včiel neprebíha vždy rovnomerne. Podmienená je ročným obdobím, zastúpením vekových, prípadne pracovných kategórií včiel. Žľaza dosahuje vrchol činnosti spravidla v siestom až desiatom dni života včely. Výlučok hltanovej žľazy, tzv. krmna kašička má kašovitú konzistenciu. Farbu má bieložltú (krémovú), chemickú reakciu kyslú. Jej hlavnými zložkami sú aminokyseliny, ktorých je 14, ďalej 9 hormónov, enzýmy, vitamíny a minerálne látky. Z enzýmov má pre spracovanie nektáru na med prednostný význam invertáza, ktorá štiepi disacharid sacharózu na

10 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

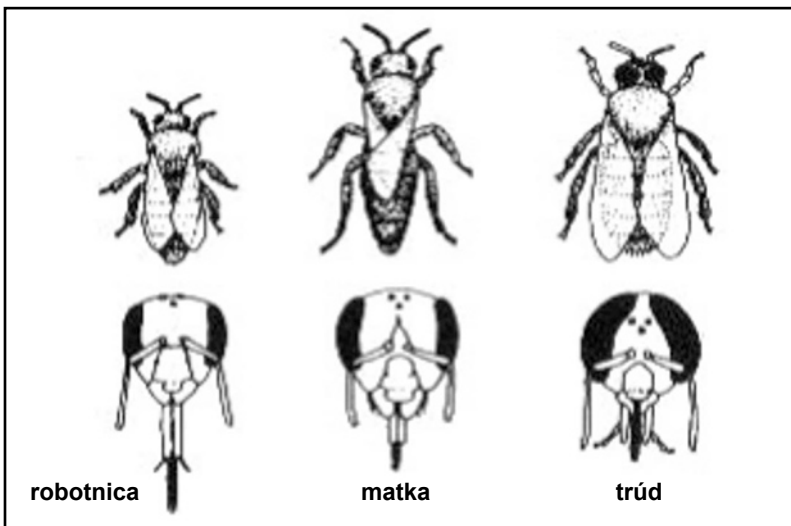
jednoduché cukry – glukózu a fruktózu, a diastáza, ktorá prevádza škrob na dextríny. Tieto zložky sa dostávajú aj do medu počas jeho spracovania včelami.

Jedová žľaza

Má tvar tenkého kanáliku, dlhého u matky 3,5–5 cm, u robotnice 1–2,5 cm. Steny žľazového kanáliku pozostávajú z dvoch vrstiev buniek, ktoré sú na svojom povrchu obrátené dovnútra kanáliku potiahnuté chitizovanou blanhou. V nej je mnoho dieročiek, ktorými preniká vylučok zo žľazových buniek do kanáliku. Pred vyústením do žihadlového žliabku sa rozširuje žľazový kanálik v mechúrik, v ktorom sa hromadí žľazou vytvorený jed. Jedový vačok sa včelám naplní vo veku okolo 18 dní. Kvapôčka jedu, ktorú včely pri bodnutí vylúčia, váži 0,3 mg. Ak sa jedové vrecúško vyprázdni, včelám sa vytvorí nový jed. Vylučovanie jedu je prudkejšie, ak je včela podráždená. Na tomto poznatku sa zakladá odberanie jedu od včiel podráždených pachom kyseliny mravčej.



Obr. 2
Včela medonosná
Apis mellifera



Obr. 3
Základné
jedince včelstva:
robotnica, matka
a trúd

4

Včelí med

S narastajúcim výskytom rezistentných mikroorganizmov na používané antibiotiká v klinickej praxi sa vynára problém úspešnosti a efektívnosti liečenia infekcií. Rutinné používanie antibiotík pri liečení a prevencii bakteriálnych infekcií a prežitie pôsobenia inhibičných koncentrácií príslušného antibiotika zvyšuje selekciu rezistentných kmeňov a rozsiahly horizontálny transfer mobilných genetických elementov, tzv. transpozómov. Za rezistenciou patogénnych baktérii sa neskrývajú iba nadmerné a často nepotrebné dávky antibiotík ale aj samotná schopnosť patogénov agregovať do komplexu, nazývajúcего sa biofilm. Správanie baktérii v takto vytvorených biofilmoch je odlišné od baktérii voľne vyskytujúcich sa. Za zmienku stojí skutočnosť, že niektoré antibiotiká v ich sub-inhibičných koncentráciách sú schopné zvyšovať tvorbu biofilmu u nozokomiálnych patogénov [1]. Infekcie charakterizované tvorbou biofilmom sú zväčša chronického charakteru, tým liečenie predstavuje náročný a zdĺhavý proces. Viac ako 50 % nozokomiálnych infekcií je asociovaných tvorbou biofilmom [2]. Zvýšenú pozornosť sa venuje najmä nozokomiálnym patogénom, ako sú meticilin-rezistentný *Staphylococcus aureus* (MRSA), multirezistentným kmeňom *Salmonella* spp., *Pseudomonas aureginosa*, gentamicin-rezistentný *Escherichia coli* a *Klebsiella* spp. Spomenuté nozokomiálne patogény komplikujú okrem iného aj hojenie chronických rán, kde často krát antibiotická liečba nie je dostatočne účinná.

Čoraz častejšie sa preto do pozornosti dostávajú alternatívne biomedicínske stratégie, ktorých cieľom nie je snaha vytlačiť antibiotickú liečbu, ale priniesť účinnú bioalternatívu v komplikovaných prípadoch. Medzi takéto terapie patrí aj používanie medicínskeho medu v procese hojenia chronických rán.

4.1 Zloženie medu

Špecifické zloženie medu závisí od zmesi kvetov produkujúcich nektár a líši sa podľa lokality, obdobia, sezóny a v neposlednom rade aj od druhu včelstva rodu *Apis* alebo *Meliponinae* [3]. Med je zložený zo zmesi glukózy a fruktózy s nízkym podielom vody (14–18 %) (Tab. 1). Pri spracovaní nektáru a jeho premene na med, včela obohacuje med o enzýmy (invertáza, kataláza a glukózooxidáza). Medzi minoritné zložky medu patria stopové prvky, vitamíny, organické kyseliny a antioxidanty.

Tab. 1
Zloženie včelieho medu

zložka	obsah (%)
fruktóza	38
glukóza	31
galaktóza	3,1
maltóza	5
sacharóza	1
iné sacharidy	1
voda	17
popol	0,17
bielkoviny	0,15

4.2 Antibakteriálny účinok medu

Med ako prírodný produkt včely medonosnej *Apis mellifera* je už od nepamäti používaný nielen ako sladidlo ale aj antimikrobiálny agens, ktorý opäť získava popularitu a má svoje uplatnenie pri procese hojenia chronických rán ako sú bercové vredy, preležaniny (dekubity) a rôzne komplikovane sa hojace operačné a iné rany. Podstata účinku medu je odlišná od účinku antibiotík, ktoré atakujú bakteriálnu stenu alebo inhibujú vnútrobunkový metabolizmus. Med je vysoko hygroskopický, t.j. pohlcuje vlhkosť z okolitého prostredia a tým dehydratuje baktérie, navyš vysoký obsah cukornej zložky medu zabraňuje rastu mikroorganizmom. Na druhej strane, samotný zvýšený obsah cukru v mede nie je nositeľom jeho antibakteriálnych vlastností. Keďže med je včelím produktom, obsahuje látky ktoré sú včele vlastné ako sú proteíny a peptidy. Zastúpenie molekúl bielkovinového charakteru v mede sa pohybuje v rozmedzí 0,1–0,5 %, pričom dominantným proteínom je hlavný proteín materskej kašičky – MRJP 1 [4]. Dôležité zastúpenie v mede ma enzým glukozooxidáza, ktorý katalyzuje produkciu kyseliny glukónovej a malého množstva peroxidu vodíka, ktorý predstavuje ďalší antibakteriálny potenciál medu. Koncentrácia hydroxidu vodíka v mede nie je cytotoxická, a pravdepodobne sa uplatňuje ako posol pri podpore procesu hojenia a môže stimulovať fibroblasty a epiteliálne bunky [5]. Niekoľko štúdií zaoberajúcich sa antibakteriálnym účinkom včelieho medu dokázalo, že aj po blokovaní aktivity peroxidu vodíka a osmotického účinku medu, vybrané medy, tzv. manuka medy vykazovali výrazné antibakteriálne účinky [6, 7]. Med z kriky manuka (*Leptospermum* spp.), ktorý rastie na Novom Zélande, sa preto dostal do pozornosti vedcov na celom svete a tvorí základ tzv. medicínskeho medu, ktorý sa priamo využíva na terapeutické a vedec-ké účinky. Stupeň antibakteriálneho účinku je u manuka medou vyjadrený tzv. „unikátnym manuka faktorom“ alebo „UMF“. Doposiaľ sa nepodarilo vedcom identifikovať látku, resp. látky, ktoré sú zodpovedné za výrazný antimikrobiálny účinok medu aj keď, metylglyoxál má spomedzi viac ako 100 potencionálnych kandidátov najbližšie byť právoplatným UMF [8]. Zastúpenie metylglyoxálu v manuka medoch bolo výrazne vyššie v porovnaní s medmi z iných rastlinných druhov a vykazuje antibakteriálnu aktivitu. Bolo dokázané, že metylglyoxál je schopný inhibovať rast baktérií *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* už pri koncentrácii 1.1 mM. Manuka med sa ukázal vysoko efektívny voči rôznym patogénom, zahrňujúc MRSA, vankomycín-rezistentné enterokoki a *Campylobacter* spp. [9, 10]. Na druhej strane, med sa ukázal neúčinný voči *Candida albicans* a *Serratia mercscens* [5].

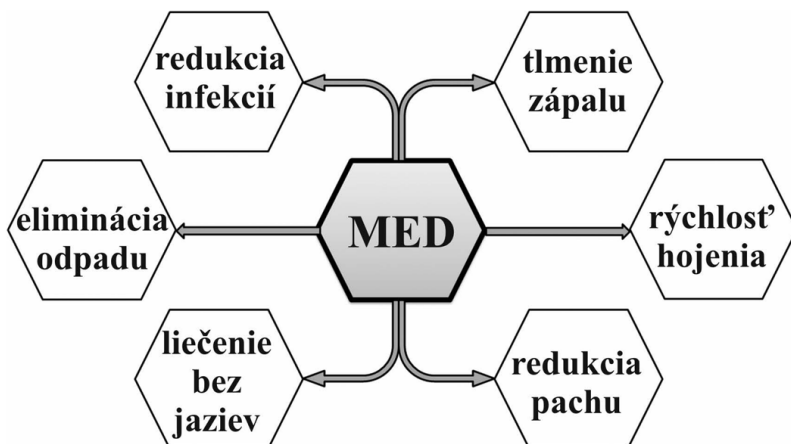
Med si uplatňuje svoju antibakteriálnu aktivitu oveľa pomalšie ako tradičné antiseptiká, ktoré sú schopné zredukovať množstvo baktérií v priebehu niekoľkých minút. Len nedávno sa podarilo identifikovať významný antibakteriálny faktor včelieho medu. Je ním včelí antibakteriálny peptid, defnzín 1 [11]. Defnzín1 je prirodzenou súčasťou všetkých prírodných medov a jeho koncentrácia v jednotlivých medoch je rozdielna [12].

Nespornou výhodou medu je skutočnosť, že patogénne baktérie sa nemôžu stať rezistentné na med, resp. jeho bioaktívne zložky, čo robí med atraktívnym pre vedecký výskum v spojitosti s rastúcou rezistenciou baktérií na antibiotiká.

4.3 Med v procese hojenia rán

Okrem vyššie uvedených antibakteriálnych účinkov, ktoré sú nevyhnutné pri liečení chronických infekčných rán, med sa vyznačuje aj protizápalovými účinkami, stimulujúc imunitné funkcie a protinádorové aktivity [13–15]. Účinky ako redukcia pachu, eliminácia bunkového odpadu pri hojení rán predstavujú špecifické účinky medu, ktoré len dokazujú uplatnenie medu v liečení rán (Obr. 4). Aj keď mechanizmus ktorým med urýchľuje proces hojenia nie je doposiaľ objasnený, existuje niekoľko štúdií, ktoré prinášajú možné vysvetlenia na samotný proces hojenia. Jednou z možností, ako med urýchľuje proces hojenia, je stimulácia zápalových procesov v leukocytoch [15]. Zápal predstavuje prvú fázu v procese normálneho hojenia rán, kde neutrofilny prenikajú do poškodeného tkaniva a kombináciou fagocytózy a proteolytického účinku odstraňujú odumreté bunky, baktérie a cudzorodý materiál. Neskôr ich funkciu nahradia makrofágy, ktoré produkujú množstvo špecifických mediátorov ako reaktívne oxidačné druhy, cytokíny a rastové faktory, podieľajúce sa pri kontrole angiogenézy a proliferácie fibroblastov a epitelových buniek. Bolo dokázané, že med indukuje produkciu hlavného zápalového cytokínu TNF- α z monocytov a peritoneálnych makrofágov [14, 15]. V našom laboratóriu sa identifikovala molekula ktorá je pravdepodobne zodpovedná za indukciu cytokínov po predchádzajúcej stimulácii makrofágov s medom. Ide o glykoproteín MRJP1, dominantný proteín včelej materskej kašičky, produkovaný mandibulofaryngeálnymi žľazami včely medonosnej. Nedávno, Tonks et al. [16] identifikovali molekulu s molekulovou hmotnosťou 5,8 kDa z manuka medu, ktorá stimuluje produkciu TNF- α z makrofágov cez tzv. „Toll-like“ receptor 4. Ďalšou z možností je spojená s pH hodnotou medu, ktorá sa pohybuje v rozmedzí od 3,4 do 5,5. Bakteriálna kolonizácia alebo infekcie rán sú často pozorované pri pH hodnotách vyšších ako 7,3 v exudáte, preto acidifikácia vedie k urýchleniu procesu hojenia rán. V neposlednom rade nižšia hodnota pH vedie k redukcii pôsobenia proteolytických enzýmov, ktorých optimálna hodnota pH pre aktivitu je v neutrálnej oblasti. Tým sa zabráni degradácii rastových faktorov a fibronektínu. Med v procese hojenia vystupuje ako imunomodulátor so zápalovými a protizápalovými účinkami. V prvom štádiu aktivuje zápalový proces a neskôr po odstránení baktérií a odumretých buniek zabraňuje opätovnému zápalu, resp. tlmí chronický zápal.

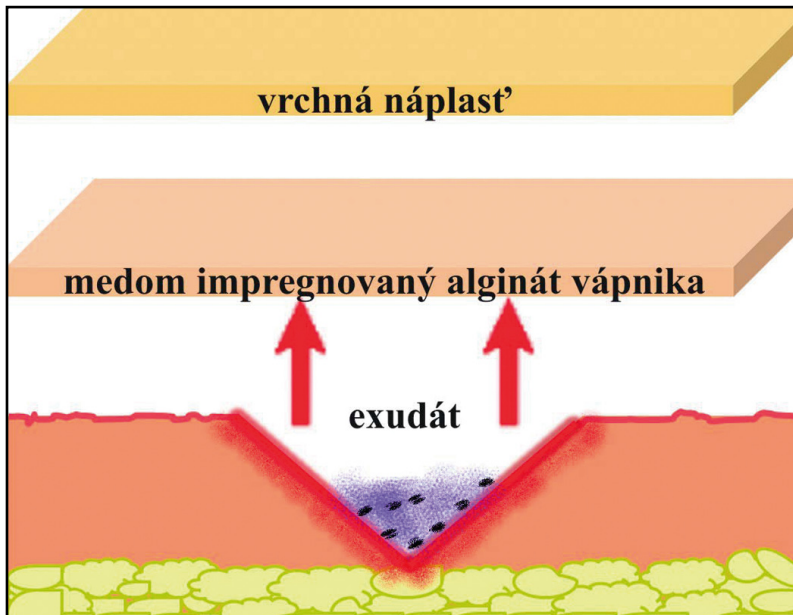
Obr. 4
Schematické
znázornenie
účinkov medu
pri liečení
chronických rán



4.4 Medicínske medy

Všetky spomenuté biologické účinky medu umožnili jeho využitie v klinickej praxi ako medicínsky med pri liečení chronických infekčných rán. Medzi najznámejšie medicínske medy patria manukový med a Revamil. Manukový med je zmes dvoch druhov medov z Austrálie a Nového Zélandu obsahujúce glukózooxidázu a bioaktívne zložky z kríku manuka. Med sa stal objektom niekoľkých klinických štúdií, ktoré sa snažili dokázať efektívnosť medu pri liečení chronických rán, pričom sa sledovali parametre ako dĺžka procesu hojenia a redukcia infekcií. Hlavným výsledkom všetkých klinických štúdií je skrátenie času hojenia, odstránenie infekcie, zníženie používania antibiotík a v neposlednom rade skrátenie času hospitalizácie. Navyše Simon et al. [17] analýzou 17 klinických kontrolovaných trialov zahrňujúc 1965 účastníkov, 5 klinických trialov zahrňujúc 95 účastníkov a 16 trialov na 533 experimentálnych zvierat zistili, že med jednoznačne podporuje proces hojenia tam kde ostatné alternatívne liečby zlyhali.

Účinky medicínskeho medu môžu naplno využívať pacienti v Austrálii a USA. V Európe je manukový med deklarovaný ako medicínsky produkt. Použitie a výmena drezingu je bezbolestná, bez akéhokoľvek poškodenia zregenerovaného tkaniva. Med je zvyčajne aplikovaný na kalcium-alginátový matrix, ktorý predstavuje vode odolný nosič (Obr. 5). Medový dressing by sa mal aplikovať aspoň na 12 h, ale prevažne na 24 h. Výmena dressingu v rane závisí od štádia samotného hojenia. V prvých štádiách sa vymieňa dvakrát denne, neskôr v stabilizovaných štádiách môže byť ponechaný v rane až do 7 dní.



Obr. 5
Medom
impregnovaný
alginátový nosič
predlžuje dobu
pôsobenia medu
pri liečení rán

4.5 Aplikácia medu na ranu

Aplikácia medicínskeho medu na postihnuté miesto (rana, popálenina, vred a iné) prebieha v niekoľkých krokoch:

1. Nanesenie vysterilizovaného medu na čistú sterilnú náplasť v množstve dostatočnom na pokrytie povrchu rany a okolitého zapáleného tkaniva. Obvykle ide o 1 polievkovú lyžicu medu na 5 cm² rany.
2. Aplikácia medovej náplasti na povrch čistej rany.
3. Náplasť by mala presahovať okraje rany a okolité zapálené tkanivo
4. V prípade kožných vredov a veľkých rán, je výhodné použiť vodeodolnú náplasť.
5. Výmena medovej náplasti raz denne. V prípade vysoko secernejúcej rany výmena medovej náplasti sa vykonáva častejšie, až 3-krát denne. Postupným liečením rany sa znižuje aj produkcia exudátu z rán. Z tohto dôvodu frekvencia výmeny náplastí sa predĺži až na niekoľko dní.
6. V prípade ak sa medová náplasť prilepí k rane, tento stav indikuje, že je potrebná častejšia frekvencia výmeny náplasti alebo bolo použité nedostatočné množstvo medu. Treba sa uistiť, že dostatočné množstvo medu bolo použité pri aplikácii na ranu.
7. Vodeodolné náplasti sú výhodnejšie oproti absorpčným z dôvodu udržiavania medu v kontakte s ranou. Absorpčné náplaste pohlcujú med z rany. Adhezívna páska alebo bandáž, môže byť použitá na udržanie medovej náplasti v mieste rany.
8. V prípade abscesov, vydutín, fistúl a hlbokých rán sa med aplikuje priamo do rán a až potom sa prekryje náplastou.
9. Po aplikácii medu, resp. medovej náplasti sa môže prechodne objaviť bodavá bolesť, ktorá je spôsobená aciditou medu. Acidita medu predstavuje jeden z viacerých faktorov, ktoré sa podieľajú na hojení rán. Ak táto bolesť pretrváva, prípadne sa stupňuje, terapia s medom musí byť prerušená. Niektorí pacienti po prerušení terapie s medom a jej nasledovnej obnove nepocítovali opätovné bolesti pri aplikácii medu.
10. Musia byť použité len čisté a sterilné špachtle pre roztieranie medu.
11. Hojenie rán môže byť negatívne ovplyvnené stavom pacienta, napr. obmedzená krvná cirkulácia, diabetes a iné.

4.6 Med a diabetes

Cukrovka je chronická porucha metabolizmu uhľohydrátov, ktorá je spôsobená nedostatočnou funkciou slinivky brušnej, žľazy súvisiacej s tráviacim traktom, ktorá nevytvára dostatok hormónu inzulínu. Je to spôsobené slabosťou alebo vyčerpaním žľazy. Med a rafinované cukry sa líšia nielen v chemických vlastnostiach, ale tiež vo fyziologických účinkoch. Med obsahuje invertné cukry a ušetrí zoslabeným zažívacím orgánom prácu s inverznými cukrami, je to dôležitý faktor a významná výhoda. Nedávna klinická štúdia odhalila, že počas 8 týždňovej konzumácie prírodného medu u diabetických pacientov sa neznížila iba hodnota BMI (body mass index), ale aj hodnoty niektorých biochemických parametrov, konkrétne cholesterolu a triglyceridov [18]. Zaujímavé výsledky dosiahli aj Munstedt *et al.* (2008) [19], ktorí zistili, že med má v porovnaní s roztokom monosacharidov

16 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

a disacharidov nižší účinok na zvyšovanie koncentrácií glukózy v krvi. Med by tak mohol nahradiť rafinovaný cukor a stať sa tak dostupným pacientom s diabetom.

Boli nahlásené prípady kedy bolo podané veľké množstvo medu k odvráteniu inzulínového šoku, ale to nebolo priaznivé. Naopak tiež zaznamenané prípady, kedy bol med dobre znášaný diabetikmi a dodával im požadovanú energiu.

4.7 Med a respiračné ochorenia

Niekoľko klinických štúdií sa zaoberalo využitím medu pri liečení respiračných ochorení a kašľu u detskej populácie. Tím okolo Dr. Paula [20] z Pensylvánskeho štátneho ústavu medicíny zistila, že med môže ponúknuť rodičom efektívnu a bezpečnú alternatívu v boji proti kašľu ich detí. Zistilo sa, že už malé množstvo medu podané pred spánkom, pôsobí lepšie proti kašľu a ním narušenému spánku ako liečba štandardne používaného dextrometorfanomu (DM), ktorý obsahujú tradičné lieky proti kašľu, bežne dostupné v lekárňach. Štúdia na zaistenie objektivity získaných výsledkov využila tzv. princíp dvojitého zaslepenia, čo znamená, že ani zdravotníci a ani rodičia detí nevedeli, či podávajú deťom sirup, ktorý vyzeral, voňal a chutil ako med, pričom obsahoval DM, alebo išlo o pravý včelí med. Jednotlivé ampulky boli označené tak, aby len výskumníci vedeli priradiť ku konkrétnemu dieťaťu účinnú látku, ktorú užilo.

Výskumu sa podrobilo 105 detí vo veku 2 až 18 rokov. Všetky deti mali kašeľ spôsobený prechladnutím. V prvú noc deti nedostali žiadnu liečbu. Ich rodičia zodpovedali na 5 otázok týkajúcich sa kašľa a kvality spánku ich detí. Polhodinu pred spánkom niektorým deťom ich rodičia podali dávku medu a ďalším zase sirup s DM. Na ďalší deň rodičia opäť hodnotili odpoveďami na 5 otázok kašľu svojich detí a ním ovplyvňovanú kvalitu spánku. Rodičia, ktorí svojim deťom podali med zaznamenali vo svojich výpovediach významnejší ústup kašľa ako tí rodičia, ktorí im dali sirup s DM. Aj vďaka tejto štúdii sa opäť potvrdilo, že med takto prináša vhodnú alternatívu oproti drahším liekom, ktoré so sebou prinášajú viacero nežiaducich účinkov.

5

Materská kašička

5.1 Zloženie materskej kašičky

Materská kašička (MK) patrí medzi ďalšie populárne včelie produkty, ktorých spotreba celosvetovo rastie. Najvyššia spotreba MK je v ázijských krajinách, najmä v Japonsku. MK sa tvorí v hltanových žľazách robotníčok vo veku 6–12 dní, na šiesty deň im začínajú fungovať hltanové žľazy, ktoré krmnu MK vylučujú. Touto kašičkou mladušky krmia 1–3 dňové larvy včiel. Na tvorbe materskej kašičky sa podieľajú nielen faryngálne (hltanové) žľazy, ale aj labiálne (pyskové) a torakálne (hrudné) žľazy [21].

MK je smotanovo-žltá, ale môže byť belavá a ak je staršia jej farba je jasnohnedá. Jej vôňa je typická, ale málo výrazná, chuť je kyslá. Na základe jej kyslosti patrí MK okrem žalúdočných štiav medzi najkyslejší materiál v živočíšnej ríši, túto kyslosť treba zachovať, aby sa nestratila jej účinnosť. MK dokážeme čiastočne rozpustiť vo vode, pričom sa vytvára homogénna emulzia. Fyzikálne a chemické vlastnosti materskej kašičky a jej zložiek ako sú voľné aminokyseliny, proteíny, cukry, mastné kyseliny (hlavne 10-hydroxy-2-decénová kyselina), minerály (hlavne železo a vápnik) a vitamíny (tiamín, niacín, riboflavín) boli už detailne opísané. Práve proteínový obsah MK zohráva dôležitú úlohu v biologických účinkoch MK. Medzi najviac preštudované a popísané patria hlavné proteíny MK, zaraďovanej do jednej proteínovej rodiny označované ako MRJP rodina [22]. Dominantné postavenie medzi bielkovinami MK majú albuminoidné proteíny: kyslý MRJP1 a zásaditý MRJP2 proteín. Natívny MRJP1 proteín je bohatý na 10 esenciálnych aminokyselín, v zastúpení až 48 % zo všetkých aminokyselín zastúpených v proteíne. Aminokyselinové zastúpenie MRJP proteínov je zhrnuté v Tab. 2.

Tab. 2
Aminokyselinové
zloženie hlavných
proteínov včeliej
materskej kašičky.
Esenciálne
aminokyseliny
pre včeliu larvu sú
výraznené tučne
[22]

	MRJP1	MRJP2	MRJP3	MRJP4	MRJP5
Ala	3,9	6,2	4,9	4,3	3,8
Arg	3,4	3,8	4,9	4,1	9,0
Asn	6,9	11,3	15,9	13,8	8,7
Asp	8,6	7,1	7,5	7,5	12,0
Cys	2,5	1,5	1,1	1,3	1,0
Gln	3,9	5,1	7,1	6,3	3,8
Glu	3,9	3,8	3,8	3,9	2,5
Gly	5,6	6,0	6,4	4,1	4,0
His	2,3	2,4	2,2	3,9	1,8
Ile	6,0	5,1	4,0	3,2	4,8
Leu	9,5	8,2	6,8	9,7	5,2
Lys	5,1	6,9	5,8	5,0	4,3
Met	3,5	2,4	2,2	2,4	11,4
Phe	4,2	4,4	1,7	2,2	2,6
Pro	3,7	3,1	2,5	2,2	2,6
Ser	8,1	5,8	5,9	8,4	6,2
Thr	6,3	4,6	4,0	4,7	5,6
Trp	1,2	1,3	0,9	1,3	1,1
Tyr	4,4	3,5	3,1	3,9	3,3
Val	6,5	7,5	8,0	8,0	5,6
Esenc. ak	48 %	47 %	39,3 %	44,5 %	51,4 %

18 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

Získavanie MK má určitú postupnosť. V tomto prípade vychádzame z prirodzeného pudu včiel, z tzv. rojovej nálady, ktorá môže byť aj umelo vyvolaná. Poznáme tri druhy produkcie materskej kašičky:

- za trvalej neprítomnosti matky
- za prítomnosti matky
- kombináciou týchto dvoch, to znamená, že produkcia začne počas neprítomnosti matky a skončí sa počas prítomnosti matky

Medzi najčastejší spôsob ako získať MK patrí spôsob, keď sa z plodiska vyberú zaviečkované plásty aj s mladuškami a prenesú sa do medníka, ktorý je oddelený mriežkou, medzi nimi sa ponechá medzera, do ktorej vložíme chovný rámik, ten sa za 65–72 hodín vyberie, z umelej hmoty sa odstráni larvy a MK je prichystaná na vybratie. Na vyberanie MK sa používajú osobitné vysokovýkonné vysávače na elektrický prúd upravené tak, aby nestrhli aj vedľajšie časti bunky [23].

Aby bola MK aj účinná, treba ju správne uskladňovať. V prírodnom stave je táto vzácna kašička veľmi labilná, vyžaduje si osobitnú starostlivosť, aby neprišlo k nezhodnoteniu jej obsahu. Pri prenose sa nesmie dostať do kontaktu s kovovými predmetmi, taktiež ju treba chrániť pred svetlom a teplom. MK sa uskladňuje v tmavej fľaške, ktorá sa vkladá do termosky s ľadom alebo do chladničky.

5.2 Biologické účinky materskej kašičky

V 50. rokoch boli publikované práce, ktoré mali overiť alebo vyvrátiť biologické účinky MK. Vedci začali svoje výskumy a pokusy na zvieratách. Až neskôr sa dostala do pozornosti klinických lekárov, ktorí ju aplikovali na liečenie ľudí. Ich skúmanie bolo vykonávané najmä za účelom preskúmania jej účinkov na mikroorganizmy, nádory, rany, pri pôsobení na biologické systavy a pri podávaní spolu s antibiotikami. Vo väčšine laboratórnych *in vitro* testov sa tieto účinky dokázali, pre klinickú prax sa využívajú v menšej miere. Antivírusový účinok MK sa v praxi využíva málo, a nevyrovná sa účinku propolisu [23].

Bolo opísaných iba niekoľko štúdií zaoberajúcich sa vplyvom MK na telovú a orgánovú sústavu experimentálnych zvierat [24]. U myší, vysoké dávky MK (1 ml/myš) zapríčinili vysoký stupeň úmrtnosti. Nižšie dávky (0,1 alebo 0,01 ml/myš) môžu byť stresujúce, ale nie letálne. Môžu spôsobovať zväčšenie nadobličiek, hypertrofiu lymfatického tkaniva a tvorbu gastrointestinálnych vredov. Napriek týmto zisteniam, ktoré nepotvrdili biologicky žiaduce (ochranné, nie toxické) účinky MK, má MK nepochybné imunofarmakologické ako aj terapeutické využitie. Ďalej boli dokázané protinádorové účinky *in vivo*, ktoré sa pripisujú kyseline 10-hydroxy-2-decénovej, resp. hlavným zložkám MK [25]. Prítomnosť organických kyselín a proteínov (hlavne royalizínu a apisimínu) zaručuje MK antimikrobiálny a bakteriostatický účinok [26]. Royalizín je defenzínu podobný antibakteriálny peptid, ktorý bol izolovaný a purifikovaný z MK kyslou extrakciou, gélovou filtráciou a HPLC s obrátenou fázou a je vysoko stabilný pri nízkom pH a vysokej teplote [26]. Sver *et al.* (1996) [27] dokázali imunoregulačnú úlohu mastných kyselín z MK pre myšacie monocyty, resp. makrofágy. Zdá sa, že 10-hydroxy-2-decénová kyselina sa pravdepodobne viaže na bunkovú membránu

B-lymfocytov a tým môže ovplyvniť sekréciu protilátok týmito bunkami. Autori štúdie predpokladajú, že MK má schopnosť meniť normálnu proliferáciu imunokompetentných buniek.

MK môže byť tiež využitá pri zmiernení alergických symptómov a to potlačením produkcie antigén-špecifických IgE protilátok [28]. Produkcia IgE protilátok je principiálne regulovaná stimulačnými alebo supresívnymi faktormi ako sú cytokíny IL-4 a IFN- γ . Proteín MRJP3 potláča produkciu cytokínov IL-2, IL-4 a INF- γ z T-lymfocytov stimulovaných anti-CD3 monoklonálnou protilátkou v podmienkach *in vitro* [29]. Tieto výsledky naznačujú, že apalbumín 3 má imunosupresívne funkcie v imunitnom systéme cicavcov. IL-4 a IL-10, ktoré sú sekretované z Th2-buniek, indukujú diferenciáciu z Th0 do Th2-buniek a inhibujú funkciu Th1-buniek. Naopak, IFN- γ a IL-2, sekretované z Th1-buniek, indukujú diferenciáciu z Th0 do Th1-buniek a inhibujú proliferáciu Th2-buniek. Na základe týchto poznatkov, pre imunoterapiu alergických ochorení je veľmi dôležité uvoľňovanie Th1-buniek z Th2 dominantného stavu. O tom, či bude prevládať Th1 model alebo Th2 model, rozhodujú rôzne faktory: závisí to od charakteru, dávky antigénu a spôsobu akým sa do organizmu dostal, od typu buniek prezentujúcich antigén, od MHC molekúl II triedy, ktoré ho prezentujú, a najmä od vzájomného pomeru cytokínov v danom mikroprostredí, kde sa imunitná odpoveď odohráva. Jedným z nich je aj výška hladiny IL-12, ktorý je produkovaný aktivovanými makrofágmi. IL-12 pôsobí nepriamo a to tým, že podporuje produkciu IFN- γ a indukuje Th1-bunkovú diferenciáciu a tým potláča alergické reakcie.

Nedávne štúdie ukázali, že na zmenu Th-bunkových odpovedí má vplyv aj výška hladiny glutatiónu v makrofágoch ako antigén prezentujúcich bunkách. Zníženie hladiny glutatiónu vedie aj k zníženiu produkcie IL-12 a tým prevláda Th2 model. Oka *et al.* (2001) študovali imunomodulačné efekty, resp. potlačenie alergických reakcií MK. MK obnovuje zníženú hladinu glutatiónu v makrofágoch a zvyšuje expresiu mRNA pre IL-12. Na druhej strane, MK zvyšuje produkciu NO a potláča produkciu prostaglandínu E2, čo tiež ovplyvňuje reguláciu Th-bunkových odpovedí.

MK ovplyvňuje tiež nervový systém, samozrejme závisí od jedinca, ktorý MK z liečebných dôvodov užíva, buď nastáva veľmi pozitívna reakcia na liečbu, alebo organizmus na túto liečbu nereaguje.

5.3 Protizápalové pôsobenie materskej kašičky

Preukázalo sa, že MK do veľkej miery pôsobí proti zápalovým reakciám, ktoré sú vyvolané prítomnosťou bakteriálnej infekcie. Materskou kašičkou sa môže liečiť aj zápal, ktorý nebol spôsobený baktériami, čo bolo preukázané na viacerých pokusoch s experimentálnymi potkanmi. Sto potkanov bolo rozdelených do štyroch sérií, v prvej sérií bol zápal vyvolaný parabromizotiokyanátom, pri druhej sérií bol zápal vyvolaný kantaridínom, pri tretej a štvrtej vyvolali zápal podobne a bol ošetrený placebom. Prvá a druhá séria bola následne rozdelená na ďalšie skupiny podľa skúšaných liekov. Prvej skupine bola podávaná vzorka masti s obsahom 1 % natívnej materskej kašičky a ďalšie skupiny boli konzervované 0,5% fenolom [21]. Výsledky pokusov preukázali, že MK vplyva na priebeh zápalového procesu veľmi priaznivo. Rozdiely medzi výsledkami spomínaných skupín boli

20 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

signifikantné. V prípade skupiny, ktorá bola konzervovaná 0,5% fenolom, zápal bol potlačený iba u 40 % jedincov do 10 dní, pričom jedincom, ktorým bola podaná masť s 1% materskou kašičkou bol zápal vyliečený do 8 dní u všetkých testovacích jedincov. Samozrejme, že MK nepôsobí protizápalovo len na zvieratá, ale aj na ľudí, a to na bakteriálne zápaly kože sliznic a zubnej drene [21].

Kohno *et al.* (2004) [30] charakterizovali imunosupresívny účinok MK a proteínu MRJP3 na produkciu zápalových cytokínov IL-1 a TNF α z aktivovaných myších peritoneálnych makrofágov. Zároveň zaznamenali stimuláciu produkcie protizápalového cytokínu IL-6. Získané výsledky naznačujú, že proteíny MK s imunomodulačnými účinkami by mohli zohrať v budúcnosti úlohu v terapeuticknej liečbe pri tlmení zápalových reakcií.

5.4 Použitie materskej kašičky v medicíne

Počas výskumu materskej kašičky sa preukázalo, že výrazne ovplyvňuje funkcie organizmu. Na základe výsledkov získaných z laboratórnych a klinických štúdií, MK ma nasledujúce vlastnosti:

- má vplyv na centrálny a periférny nervový systém
- vplyv na periférne krvné riečište
- vplyv na morfológické zložky krvi, najmä jej účinok na hemopoézu a vytváranie hemoglobínu
- liečebný účinok na bronchioly a bronchy, ktorý sa prejavuje dilatáciou i zvýšenou expektoráciou
- vplyv na metabolické pochody v organizme
- nešpecifický gonádotropný a estrogénny účinok, ako i stimulačný účinok na iné žľazy s vnútorným vylučovaním
- priaznivý účinok MK na zápalové procesy a degeneratívne zmeny na sliznici ústnej dutiny, ako i na ďalšie indikácie v stomatológii
- pozitívny vplyv na negatívne trofické pochody, prejavujúci sa ovplyvňovaním trofiky kože a jej derivátov, trofiky ochlpenia atď.

Významné je použitie MK najmä pri ochoreniach srdcovo-cievnej sústavy. Cievne ochorenia patria do skupiny chorôb, ktoré majú stúpajúcu tendenciu a sú najčastejšou príčinou invalidity a úmrtnosti. MK bola použitá ako alternatívna liečba pri niektorých ochoreniach srdcovo-cievneho aparátu, pričom veľká pozornosť sa venovala ochoreniam, ako sú infarkt srdcového svalu, Buergerova choroba, ale najviac arterioskleróza ciev [21].

Štúdie s pokusnými zvieratami odhalili, že podaná MK sa podieľa na znižovaní koncentrácie cholesterolu a celkových lipidov v krvnom sére zajacov a potkanov [31]. Podobne, bola vykonaná aj humánna klinická štúdia, kde MK sa ukázala účinná v redukcii cholesterolu a celkových lipidov a zároveň došlo k normalizovaniu hladín HDL a LDL cholesterolu a to znížením koncentrácie beta/alfa lipoproteínov [31].

Pozitívne výsledky sa dosiahli, aj keď pri malom počte jedincov, v terapii endarteritíd dolných končatín a pri Buergerovej chorobe [21].

Treba však zdôrazniť, že MK, používaná ako výživový a medicínsky doplnok, nedosiahla trvalé zlepšenie pri ochoreniach srdcovo-cievneho aparátu.

6

Propolis

Názov propolis vznikol spojením gréckych slov pro-pred a polis-mesto. Propolis slúži včelám na vyhladzovanie a vyrovnávanie časti úľa a na utesnenie a zatmelenie netesných miest.

Propolis nemá konštantné chemické zloženie, preto ho nemožno vyjadriť chemickým vzorcom. Propolis tvorí zmes živíc a vosku, ktoré včely zbierajú z rôznych druhov rastlín. Pri procese tvorby propolisu, sa živice zmiešajú so slinnými sekrétmi včiel a s voskom Propolis tvorí približne 55 % živicových a balzamových látok, asi 30 % vosku, 5–10 % éterických olejov, asi 2–5 % peľu. Medzi minoritné prvky propolisu patria vitamíny a mikroelementy. Poznáme niekoľko druhov propolisu, medzi najviac používané patrí hnedý a zelený propolis (Obr. 6).

Obr. 6
Včelí zelený
a hnedý
propolis



Napriek všeobecne známej skutočnosti, že propolis je účinný antibakteriálny produkt, málo sa vie o jeho antibakteriálnej aktivite voči ranovým klinickým patogénom. Existuje len niekoľko štúdií [32–34], ktoré sa zaoberajú antibakteriálnym účinkom propolisu voči ranovým patogénom. Bolo dokázané, že bulharský propolis inhibuje anaeróbné baktérie izolované z rán [33]. Podobne, alkoholový extrakt z troch propolisov z Turecka z dvoch rozdielnych geografických lokalít inhibovali rast metilín-rezistentných *Staphylococcus aureus* izolátov. Všetky testované etanolové extrakty boli účinné voči MRSA čím demonštrovali svoje potencionálne využitie v klinickej praxi. V nedávnej štúdií [34], propolis samostatne ale aj v kombinácii s lokálnymi antibiotikami ukázal antibakteriálnu aktivitu voči *Staphylococcus aureus* a *Pseudomonas aeruginosa* ranových patogénov. Navyše, sub-inhibičná koncentrácia etanolového extraktu propolisu ukázala synergizmus s niekoľkými antibiotikami, najmä tými, ktoré interferujú so syntézou bakteriálnych proteínov, čo je v súlade s výsledkami predošlých štúdií [35, 36].

Mechanizmus antibakteriálneho účinku propolisu nie je doposiaľ úplne objasnený. Niektoré látky nachádzajúce sa v extrakte propolisov ako sú flavonoidy, kyselina kávová, benzoová a škoricová pravdepodobne pôsobia na bunkovú stenu bakteriálnej bunky spôsobujúc funkčné a štruktúrne zmeny [37].

Je všeobecne známe, že väčšina chronických bakteriálnych infekcií sú spôsobené schopnosťou baktérií tvoriť biofilm. Klasický príklad tvorby biofilmu v chronických infekciách sú nehojace sa dermálne rany. Prítomnosť

22 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

biofilmu a jeho pretrvávajúce v rane sa považuje za jeden z hlavných faktorov podieľajúcich sa na zníženom hojení rany [38-40].

Schopnosť propolis, resp. jeho jednotlivých bioaktívnych komponentov inhibovať tvorbu biofilmu a narušiť už vytvorený biofilm bola študovaná takmer výhradne pri ústnych alebo zubných biofilmoch [41-43]. Žiadne štúdie neboli realizované v sledovaní inhibície tvorby biofilmu v chronických ranách za použitia propolis, resp. jeho alkoholového extraktu. Tvorba biofilmu je závislá na extracelulárnej výmene informácií medzi baktériami pomocou špecifických tzv. „quorum sensing“ (QS) molekúl [44]. Keď baktérie v rane dosiahnu kritickú populačnú hustotu, extracelulárne signály umožnia zmenu fenotypu a začne sa tvoriť biofilm [45]. V nedávnej štúdií, propolis bol schopný narušiť QS bakteriálny systém u piatich *Escherichia coli* izolátov v tekutom a v tuhom médiu [46]. Navyše, propolis inhibuje motilitu oportunistického patogéna, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1.

6.1 Klinické použitie propolis pri liečení chronických rán

Propolis je využívaný v ľudovom liečiteľstve už stáročia v rôznej forme. Laboratórne experimenty využívajúce propolis demonštrovali široké spektrum biologických a farmakologických vlastností ako sú imunomodulačné, protirakovinové, proti-zápalové, antioxidantné, antibakteriálne, antifungálne [47-55]. Tieto in vitro pozitívne biologické výsledky podporili aj klinický výskum. Väčšia časť vykonaných klinických skúšaní využívali zvierací model. Podľa štúdie McLennan a kolektívu [56], propolis urýchľuje proces hojenia u diabetických potkanov. Propolis normalizoval počet proliferatívnych buniek v ranovom tkanive u diabetických zvierat a tiež normalizoval počty neutrofilov pravdepodobne cez antioxidantný účinok. Je veľmi nepravdepodobné, že antibakteriálny účinok propolis je zodpovedný za tento účinok. Na druhej strane, 5% extrakt zo zeleného propolis z Brazílie zvyšoval počty leukocytov, makrofágov a fibroblastov po 72 h stanovené histologickým pozorovaním v ranách potkanov [57]. Podobne, propolis vplýval na proces hojenia cez stimuláciu proliferácie keratinocytov [58]. Aj keď propolis predstavuje významný antimikrobiálny produkt s proti-zápalovými vlastnosťami bolo vykonaných iba niekoľko humánnych klinických štúdií, resp. kazuistik, kde bol propolis využitý pri liečbe rán a popálenín [59-66]. Navyše, kvalita vykonaných štúdií je variabilná a existujú len limitované dôkazy o úspešnej liečbe chronických rán pomocou propolis. V štúdií vykonanej Bernardom a kol. [60], 10 pacientov s chronickými ranami ako sú ischemické ulkusy a venózne ulkusy boli liečení s 30% vodným roztokom propolis. Po 1 týždni liečby, autori pozorovali debridement a tvorbu granulačného tkaniva. Podobne, propolis eliminoval zápach rán a znižoval citlivosť na bolesť. Po 60 dňoch liečby s propolisom sa zaznamenala redukcia ranových patogénov *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* spp. a *Citrobacter* spp. Autori štúdie zdôrazňujú, že účinnosť hojenia rán závisí od koncentrácie extraktu propolis použitého na liečbu. V ďalšej štúdií [66], 22 pacientov s chronickými ranami (venózne ulkusy, dekubity a diabetické vredy) sa podrobilo liečbe s extraktom propolis. Propolis odstránil nekrotické tkanivo a 74,1% vredov bolo úspešne preliečených po 20 týždňoch liečby. Navyše, všetci pacienti s chronickými vredmi zaznamenali redukciu bolesti po liečbe s propolisom. Autori štúdie zistili, že propolis znížil čas

potrebný na hojenie, urýchlil regeneráciu tkaniva a poskytoval ochranu voči mikrobiálnej kolonizácii.

Iba jedna kontrolovaná klinická štúdia využívajúca propolis bola vykonaná [62]. Autori štúdie porovnali hojace účinky Brazílskeho zeleného propolisu s produktom na báze striebornej soli sulfadiazínu pri liečbe popálenín II. stupňa. Autori nezaznamenali signifikantný rozdiel v mikrobiálnej kolonizácii medzi popáleninami liečených s propolisom a striebornou soľou sulfadiazínu. Avšak popáleniny liečené propolisom vykazovali menej zápalových znakov. Tieto výsledky korelujú s výsledkami inej štúdie, kde zmes propolisu/medu sa ukázala byť účinná v liečbe diabetických vredov [65].

6.2 Mechanizmus účinku propolisu pri hojení rán

Mechanizmy účinku propolisu a jeho biologických vlastností vrátane schopností urýchľovať proces hojenia sú len parciálne objasnené in vitro a in vivo. Predpokladá sa, že propolis pôsobí cez rozdielne mechanizmy v závislosti od jeho zloženia. Niektoré z jeho biologických vlastností boli už podrobne charakterizované na molekulárnej úrovni a niekoľko látok (fenyl ester kyseliny kávovej a chrizín) zodpovedných za tieto vlastnosti bolo identifikovaných [67-70]. Propolis je komplexná zmes živicových látok pochádzajúcich z rastlín a stromov. Tieto substancie môžu vykazovať synergický účinok alebo pôsobiť individuálne. Z tohto dôvodu odlišnosti v zložení jednotlivých propolisov vplýva aj na biologickú aktivitu.

Protizápalový a antioxidantný účinok predstavujú dva hlavné biologické aktivity, ktoré sú charakteristické pre propolis. Látky s protizápalovými vlastnosťami izolované z propolisu boli študované v procese tlmenia zápalu pri hojení rán [56, 62, 71, 72]. Vo väčšine týchto štúdií propolis vykazoval rovnakú účinnosť ako komerčne používané protizápalové látky.

Značná časť výskumov využíva alkoholový extrakt propolisu pri liečení rán. Aj napriek tomu, že vodný extrakt propolisu je využívaný zriedkavo, vykazuje terapeutické účinky [73, 74].

Niektoré látky s protizápalovým účinkom ako sú kyselina kávová, quercetín, naringenín a fenyl ester kyseliny kávovej (CAPE) boli identifikované a kvantifikované v propolise [75]. Tieto látky sú schopné potlačiť produkciu zápalových mediátorov produkovaných makrofágmi. Medzi ďalšie protizápalové látky identifikované v propolise patria kyselina salicylová, apigenín, galangín a kyselina ferulová [76]. Štúdie, ktoré využívali zvierací model akútneho a chronického zápalu ukázali, že kyselina kávová predstavuje zložku ktorá je zodpovedná za protizápalový účinok propolisu pôsobením cez inhibíciu syntézy kyseliny arachidónovej a potlačení enzymatickej aktivity cyklooxygenázy 1 a 2 [77]. Navyše, kyselina kávová a jej derivát CAPE inhibujú produkciu cytokínov a chemokínov čo vedie k potlačeniu zápalových procesov [78, 79]. Tento mechanizmus je spojený s NF- κ B signálnou dráhou [80, 81].

Včelí jed

Azda najrozšírejší včelí produkt po včelom mede, využívaný v klinickej praxi je včelí jed. Je výlučkom jedovej žlazy včely robotnice i matky. Jeho tvorba je podmienená prítomnosťou bielkovín v potrave. Včelí jed je číra bezfarebná kvapalina, o niečo ťažšia ako voda. Dobre sa mieša s vodou a éterom. Alkohol ho vyzráža na zrazeninu, ktorá je rozpustná vo vode. Rozpustenie, vyzrážanie, vysušenie ani zmrznutie neporušujú účinnosť včelieho jedu. Hodnota pH včelieho jedu je 5,2. Včelí jed obsahuje až 60 % vody a zvyšok tvoria látky ktoré sú len čiastočne identifikované. Medzi dôležité látky prítomne vo včelom jede sú peptidy a proteíny s rôznou molekulovou hmotnosťou, vrátane melitínu, apamínu, adolapínu a fosfolipázy C [23]. Navyše obsahuje biologicky aktívne amíny ako sú histamín a epinefrin. Dnes bolo identifikovaných 18 aktívnych zložiek včelieho jedu, ktoré majú rôzne farmakologické využitie. Presný mechanizmus účinkov jednotlivých komponentov nie je dostatočne objasnený.

Včelí jed nestráca svoje farmakologické účinky aj po vystavení nízkym, či vysokým teplotám. Moderné princípy na získavanie včelieho jedu sú rôzne, napríklad metóda kedy sa na získavanie včelích žihadiel rozdráždi včela, tak aby pichala do podložky, ktorá je vopred pripravená [23]. Medzi ďalšiu metódu patrí dráždenie včiel pomocou elektrického prúdu.

7.1 Biologické účinky včelieho jedu

Ak sa dostane včelí jed do organizmu človeka pichnutím, alebo injekciou, prebehne v organizme množstvo reakcií. Závisí od spôsobu, akým sa dostal jed do organizmu, tiež od pohlavia a veku človeka. Zatiaľ čo vysoké dávky včelieho jedu môžu vyvolať celkovú nežiaducu reakciu, v liečebných tzv. terapeutických dávkach sa včelí jed stáva cenným liečebným prostriedkom pri rôznych, dokonca závažných ochoreniach [23]. Liečba pri ktorej sa podávajú preparáty včelieho jedu v injekciách sa nazýva – apikoterapia.

Včelí jed má charakteristické otravné účinky:

- neurotoxické – ochrnutie nervovej sústavy
- hemorrhagické – zvýšenie priestupnosti krvných vlásočníc
- hemolytické – rozpad červených krviniek

Na prvom mieste je pôsobenie včelieho jedu na nervový systém. Včelí jed blokuje prenos nervového vzruchu v tzv. sympatických gangliách vegetatívneho nervového systému.

Medzi jeho ďalšie pozitívne farmakologické účinky patrí neurotoxické pôsobenie, hypotenzívny účinok, povzbudzujúci účinok na srdce, stimulujujúci vplyv na systém hypofýza (kôra nadobličky), protizápalový a rádioprotektívny účinok [23].

Jeho praktické využitie je aj pri liečení zápalových ochorení typu, reumatoidná artritída. Iba niekoľko zložiek včelieho jedu bolo testovaných na prípadné protizápalové účinky, kde adolapín a peptid degranulujúci bunky mastocytov preukázali protizápalové účinky [82] spomedzi všetkých testo-

vacích zložiek. Oba peptidy sú vo včelom jede mede prítomne len v nízkych koncentráciách (1–2 %).

Významným objavom je aj skutočnosť, že včelí jed by sa mohol využiť ako potencionálny agent pri liečbe malárie. Malária je parazitické ochorenie vyskytujúce sa vo viac ako 100 krajinách spôsobené parazitom *Plasmodium falciparum*. Enzým fosfolipáza A₂ nachádzajúci sa vo včelom jede má anti-parazitické vlastnosti [83].

Včelí jed sa pri liečení podáva vo forme už vopred pripravenej masti alebo sa na postihnuté miesto prikladá živá včela, ktorej žihadlo sa nasmeruje na miesto vpichu.

Včelí jed sa aplikuje pri nasledujúcich ochoreniach:

- reumatické ochorenia kĺbov, svalov, vrátane srdcového svalu
- reumatoidná artritída
- deformujúca spondylartróza (choroba spôsobená degeneráciou medzistavcových zhybov)
- ochorenia periférnej nervovej sústavy
- nehojace sa rany
- cievne chirurgické ochorenia
- zápalové infiltráty
- priedušková astma
- migréna
- hypertonická choroba 1. a 2. stupňa
- očné zápalové ochorenia

Ako kontraindikácie liečenia včelími žihadlami sa uvádzajú:

- precitlivenosť na včelí jed
- infekčné ochorenia
- tuberkulóza
- duševné choroby
- choroby pečene a podžalúdkovej žľazy
- choroby obličiek, najmä spojené s hematúriou
- choroby kôry nadobličiek, predovšetkým Addisonova choroba
- sepsa a akútne hnisavé ochorenia
- dekompenzácia srdcovocievnej sústavy
- organické ochorenia centrálného nervového systému
- celkové opotrebovanie organizmu
- choroby krvi a tvorby krvi so sklonom ku krvácaniu

Na včelie pichnutie organizmus reaguje rôzne a reakcia je veľmi zložitá, jeho pôsobenie závisí od množstva včelích pichnutí, od miesta pichnutia, ale najmä od individuálnej reakcie organizmu. Ak včela pichne 5–10 krát zdravého človeka tak by mu to nemalo spôsobiť žiadne ťažkosti, nastane iba tzv. lokálna reakcia, ktorá sa prejaví malým začervenaním s bielym stredom a vytvorí sa rôzne veľká opuchlina, nastane bolesť a svrbenie, trvá to krátko, no začervenanie sa udrží aj niekoľko dní. Ak sa do tela dostane väčšie množstvo jedu, objaví sa okrem miestnej reakcie aj tzv. celková reakcia. V tých ľahších prípadoch sa to prejaví nevoľnosťou, celkovou ťažobou, zvýšenou teplotou, bolesťou hlavy, v tých závažnejších prípadoch sa k tomu

26 Apiterapia a jej využitie v klinickej praxi

pripoí aj vracanie, bolesti brucha s hnačkou, dýchavica, zmodranie, zrýchlenie pulzu, strata vedomia a kŕče. Ak postihnutému neposkytneme včasnú prvú pomoc, nastáva celková obrna, ktorá po dosiahnutí dýchacieho centra spôsobí obrnu dýchania, a tým smrť v priebehu 1–2 hodín po vpichnutiach. Niektorí ľudia trpia alergiou na včelí jed, v takomto prípade môže len jedna včela vyvolať ťažkú celkovú reakciu [23].

7.2 Aplikácia včelieho jedu

Aplikácia včelieho jedu je buď priama a to nanosením vo forme krému alebo masti na postihnuté miesto alebo injekčne. Existuje niekoľko produktov na báze včelieho jedu, či už je to krém alebo injekčné ampule, ktoré sú používané pri terapii. Avšak existuje domnienka, že najúčinnnejším včelím jedom je ten, ktorý včela uvoľní pri pichnutí (Obr. 7). Preto mnohí terapeuti aplikujúci terapiu včelím jedom, využívajú živé včely, ktoré po vydráždení pichnú žihadlo na zvolené miesto. Často krát ide o miesta, resp. body, ktoré sú zároveň akupunktúrovými bodmi. Sprievodnými znakmi pri aplikácii včelieho jedu sú bolesť, svrbenie, opuchnutie a začervenanie, ktoré svedčia o vhodnej odpovede pacienta na včelí jed. Včelí jed sa môže aplikovať aj deťom a to pomocou mikrovpichoch, kedy sa žihadlo s jedovým vakom nechá na postihnutom mieste len niekoľko sekúnd. Tým dochádza len k limitovanému uvoľneniu jedu do miesta vpichu.

Niektorí ľudia sú citlivejší na včelí jed a môžu reagovať alergickou reakciou na terapiu. Preto sa vždy na úvod aplikujú iba mikrovpichy, resp. malé množstvo jedu sa pichne do pokožky. Ak nedochádza k výraznej alergickej reakcii môže sa pokračovať v terapii. Počet vpichov sa zvyšuje postupne a závisí od stupňa samotného ochorenia.



Obr. 7
Terapia včelím
jedom

8

Včelí peľ

Prirodzeným zdrojom bielkovín vo výžive včely je peľ. Okrem bielkovín obsahuje aj minerálne látky, glyxcidy, tuky, vitamíny a enzýmy. Peľ je samčia pohlavná bunka rastliny. Včely ho ukladajú do krajných plástov, kde v bunkách natlačený peľ sa konzervuje mliečnym kvasením. V tomto stave is svoju výživovú hodnotu zachováva 2 až 3 roky. Peľové zrná z jednotlivých druhov rastlín majú odlišnú biologickú hodnotu. Peľové zrnká obsahujú 12–20 % vody, v sušine peľu sa nachádza asi 60% bielkovín, 15 % sacharidov a 15 % tukových látok [23]. Včelí peľ je bohatý na niekoľko vitamínov, ako sú vitamín A, vitamín B1, vitamín B2, vitamín B6, vitamín PP, kyselina pantotenová, kyselina listová, vitamín H, vitamín P, vitamín C.

Peľ sa môže získavať tromi spôsobmi:

- ručne
- priamo z plástu – ako plástový peľ
- špeciálnym zariadením na získavanie peľu od včiel, teda pomôckami na odber peľových obnôžok

Využitie peľu v medicíne:

Peľ má podobné vlastnosti ako materská kašička, teda vplýva na psychiku človeka a má aj omladzujúce účinky pri vyčerpanosti organizmu. Priaznivo pôsobí na zníženie vysokého krvného tlaku, u porúch obličiek v kombinácii s medom a materskou kašičkou. Peľ má priaznivé účinky pri chorobách prostaty, používa sa aj pri podvýžive a telesnom oslabení spolu s medom a materskou kašičkou. Preventívne sa dávkuje 10 g peľu denne na celkové povzbudenie organizmu, pri liečebných procedúrach až 20 g denne. Optimálne je užívanie niekoľko krát za rok, hlavne na začiatku ročného obdobia. Niekedy treba pokračovať aj dlhšiu dobu napr. aj celý rok pri zanedbanom ochorení prostaty. Aj v týchto prípadoch je nutné z času na čas urobiť si 5 dennú prestávku a pokračovať ďalej.

Budúcnosť apiterapie

Antibiotická liečba je veľmi významnou terapiou v medicínskej praxi, ktorá umožnila výrazne znížiť úmrtnosť aj na bežne ochorenia v minulom storočí a preniesla tak určitý bezpečný komfort v prevencii infekcií. Antibiotiká vytlačili osvedčené prírodné bioterapeutické metódy, ktoré si vyžadovali väčšie nároky na ich prevedenie a realizáciu (larválna terapia a apiterapia). Avšak nekontrolovateľné používanie antibiotík umožnilo šírenie rezistencie u baktérii. V priebehu niekoľkých rokov boli hlásené prípady rezistencie na bežne používané antibiotiká u nozokomiálnych kmeňov, ktoré predstavujú najväčšie riziko pre pacientov v nemocničných zariadeniach.

Nekontrolovateľné šírenie rezistencie medzi baktériami by mohlo spôsobiť vážne problémy a ohroziť tak ľudské zdravie. Východisko z tejto situácie by mohlo predstavovať aj opätovné používanie bioterapeutických metód. Jeden z najdynamickejších pokrokov zaznamenali včelie produkty. Dnes už na trhu môžeme nájsť početné medicínske produkty, ktorých základom tvoria práve včelie produkty ako sú med a včelí jed. Nespornou výhodou včelieho medu sú jeho rôznorodé účinky vrátane antibakteriálnych a imunomodulačných, čím sa med stáva komplexným produktom s rozsiahlym medicínskym využitím.

O to aby sa med dostal opäť do povedomia pacientov, ktorí by vždy mali mať právo voľby, je nevyhnutná dobrá informovanosť lekárskeho autorít. V súčasnosti už aj na Slovensku prebieha proces registrácie medových náplastí určených pre hojenie rán. Okrem toho, pomerne veľké spektrum výživových a imunostimulačných produktov je založené na včelích produktoch (propolis, med a peľ).

Záverom treba zdôrazniť, že včelie produkty obsahujú prírodné látky, ktoré nie sú kompletne charakterizované, ale sú mimoriadne účinné a ďalší základný výskum je potrebný pre identifikáciu a charakterizáciu týchto látok.

10

Použitá literatúra

- [1] J. Majtan, L. Majtanova, M. Xu, V. Majtan, *In vitro* effect of subinhibitory concentrations of antibiotics on biofilm formation by clinical strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated in Slovakia, *J. Appl. Microbiol.* 104 (2007) 1294–1301.
- [2] T.F. Mah, G.A. O'Toole, Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents, *Trends Microbiol.* 9 (2001) 34–39.
- [3] N. Namias, Honey in the management of infections, *Surgical Infection.* 4 (2003) 219–226.
- [4] J. Simuth, K. Bilikova, E. Kováčova, Z. Kuzmova, W. Schroder, Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating TNF-alpha is a regular component of honey, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) 2154–2158.
- [5] P.E. Lusby, A.L. Coombes, J.M. Wilkinson, Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria, *Arch. Med. Res.* 36 (2005) 464–467.
- [6] K.L. Allen, P.C. Molan, G.M. Reid, A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys, *J. Pharm. Pharmacol.* 43 (1991) 817–822.
- [7] K.M. Russell, P.C. Molan, A.L. Wilkins, P.T. Holland, Identification of some antibacterial constituents of New Zealand manuka honey, *J. Agric. Food Chem.* 38 (1990) 10–13.
- [8] E. Mavric, S. Wittmann, G. Barth, T. Henle, Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand, *Mol. Nutr. Food Res.* 52 (2008) 483–489.
- [9] R.A. Cooper, P.C. Molan, K.G. Harding, The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds, *J. Appl. Microbiol.* 93 (2002) 857–863.
- [10] S.M. Lin, P.C. Molan, R.T. Cursons, The *in vitro* susceptibility of *Campylobacter spp.* to the antibacterial effect of manuka honey, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 28 (2009) 339–344.
- [11] P.H. Kwakman, A.A. te Velde, L. De Boer, D. Speijer, C.M. Vandenbroucke-Grauls, S.A. Zaat, How honey kills bacteria, *FASEB J.* 24 (2010) 2576–2582.
- [12] J. Majtan, J. Klaudivy, J. Bohova, L. Kohutova, M. Dzurova, M. Sediva, et al., Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: Possible therapeutic implications, *Fitoterapia.* 83 (2012) 671–677.
- [13] M. Fukuda, K. Kobayashi, Y. Hirono, M. Miyagawa, T. Ishida, E.C. Ejiogu, et al., Jungle Honey Enhances Immune Function and Antitumor Activity, *eCAM.* 2011 (2011) Article ID 908743.
- [14] J. Majtan, E. Kovacova, K. Bilikova, J. Simuth, The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1-major honeybee royal jelly protein-on TNF α release, *Int. Immunopharmacol.* 6 (2006) 269–278.

- [15] A.J. Tonks, R.A. Cooper, K.P. Jones, S. Blair, J. Parton, A. Tonks, Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes, *Cytokine*. 21 (2003) 242-247.
- [16] A.J. Tonks, E. Dudley, N.G. Porter, J. Parton, J. Brazier, E.L. Smith, et al., A 5.8-kDa component of manuka honey stimulates immune cells via TLR4, *J Leukocyte Biol.* 82 (2007) 1147-1155.
- [17] A. Simon, K. Traynor, K. Santos, G. Blaser, U. Bode, P. Molan, Medical honey for wound care - still the 'latest resort'?, *eCAM*. 6 (2009) 165-173.
- [18] M. Bahrami, A. Ataie-Jafari, S. Hosseini, M.H. Foruzanfar, M. Rahmani, M. Pajouhi, Effects of natural honey consumption in diabetic patients: an 8-week randomized clinical trial, *Int. J. Food Sci. Nutr.* 60 (2009) 618-626.
- [19] K. Münstedt, B. Sheybani, A. Hauenschild, D. Brüggmann, R.G. Bretzel, D. Winter, Effects of basswood honey, honey-comparable glucose-fructose solution, and oral glucose tolerance test solution on serum insulin, glucose, and C-peptide concentrations in healthy subjects, *J. Med. Food*. 11 (2008) 424-428.
- [20] I.M. Paul, J. Beiler, A. McMonagle, M.L. Shaffer, L. Duda, C.M. Berlin Jr., Effect of honey, dextromethorphan, and no treatment on nocturnal cough and sleep quality for coughing children and their parents, *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 161 (2007) 1140-1146.
- [21] J. Vittek, J. Janci, *Včelia materská kašička*, Slovenské vydavateľstvo pôdohospodárskej literatúry, Bratislava, 1968.
- [22] J. Schmitzova, J. Klaudivny, S. Albert, W. Schroder, W. Schrockengost, J. Hanes, et al., A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L., *Cell. Mol. Life Sci.* 54 (1998).
- [23] I. Dobrovoda, *Včelie produkty a zdravie*, Príroda, Bratislava, 1986.
- [24] B. Grad, V.A. Kral, J. Berenson, Toxic and protective effects of royal jelly in normal and diseased mice, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 39 (1961) 461-476.
- [25] T. Taguchi, H. Furue, T. Kimura, T. Kondo, T. Hattori, N. Ogawa, *Biological response modifiers in human oncology and immunology*, Plenum Press, New York, 1983.
- [26] S. Fujiwara, J. Imai, M. Fujiwara, T. Yaeshima, T. Kawashima, K. Kobayashi, A potent antibacterial protein in royal jelly, *J. Biol. Chem.* 265 (1990) 11333-11337.
- [27] L. Sver, N. Orsolovic, Z. Tadic, B. Njari, I. Valpotic, I. Basic, A royal jelly as a new potential immunomodulator in rats and mice, *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 19 (1996) 31-38.
- [28] H. Oka, Y. Emori, N. Kobayashi, Y. Hayashi, K. Nomoto, Suppression of allergic reactions by royal jelly in association with the restoration of macrophage function and the improvement of Th1/Th2 cell responses *Int. Immunopharmacol.* 1 (2001) 521-532.
- [29] I. Okamoto, Y. Taniguchi, T. Kunikata, K. Kohno, K. Iwaki, M. Ikeda, Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo, *Life Science*. 73 (2003) 2029-2045.
- [30] K. Kohno, I. Okamoto, O. Sano, N. Arai, K. Iwaki, M. Ikeda, et al., Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by

- activated macrophages, *Bioscience Biotechnol Biochem.* 68 (2004) 138-145.
- [31] J. Vittek, Effect of royal jelly on serum lipids in experimental animals and humans with atherosclerosis, *Experientia (Basel)*. 51 (1995) 927-935.
- [32] A. Kilic, M. Baysallar, B. Beisirbellioglu, B. Salih, K. Sorkun, M. Tanyuksel, In vitro antimicrobial activity of propolis against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, *Annals of Microbiology*. 55 (2005) 113-117.
- [33] L. Boynova, R. Kollarov, G. Gergova, I. Mitov, In vitro activity of Bulgarian propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria, *Anaerobe*. 12 (2006) 173-177.
- [34] G.F. Helaly, A.E.-A.A. A, F.I. Sonbol, T.E. El-Banna, N.L. Louise, Dexpanthenol and propolis extract in combination with local antibiotics for treatment of Staphylococcal and Pseudomonal wound infections, *Archives of Clinical Microbiology*. 2 (2011) 1-15.
- [35] S. Stepanović, N. Antić, I. Dakić, M. Svabić-Vlahović, In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs, *Microbiol. Res.* 158 (2003) 353-357.
- [36] A. Speciale, R. Costanzo, S. Puglisi, R. Musumeci, M. Catania, F. Caccamo, et al., Antibacterial activity of propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections, *J. Chemother.* 18 (2006) 164-171.
- [37] N.B. Takaisi-Kikuni, H. Schilcher, Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance, *Planta Med.* 60 (1994) 222-227.
- [38] T. Bjarnsholt, K. Kirketerp-Moller, P.O. Jensen, K.G. Madsen, R. Phipps, K. Krogfelt, et al., Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis, *Wound Repair Regen.* 16 (2008) 2-10.
- [39] S.C. Davis, C. Ricotti, A. Cazzaniga, E. Welsh, W.H. Eagstein, P.M. Mertz, Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo, *Wound Repair Regen.* 16 (2008) 23-29.
- [40] D.D. Rhoads, R.W. Wolcott, K.F. Cutting, S.L. Percival, Evidence of biofilms in wounds and potential ramifications, in: Gilbert, P, Allison, D, Brading, M, Pratten, J, Spratt, D, Upton, M (Eds.), *Biofilms: coming of age*, BioLine, Manchester, 2007, pp. 131-143.
- [41] H. Koo, P.L. Rosalen, J.A. Cury, Y.K. Park, W.H. Bowen, Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity, *Antimicrob. Agents Chemother.* 46 (2002) 1302-1309.
- [42] S. Duarte, P.L. Rosalen, M.F. Hayacibara, J.A. Cury, W.H. Bowen, R.E. Marquis, et al., The influence of a novel propolis on *mutans streptococci* biofilms and caries development in rats, *Arch. Oral Biol.* 51 (2006) 15-22.
- [43] J.G. Jeon, S. Pandit, J. Xiao, S. Gregoire, M.L. Falsetta, M.I. Klein, et al., Influences of trans-trans farnesol, a membrane-targeting

- sesquiterpenoid, on *Streptococcus mutans* physiology and survival within mixed-species oral biofilms, *Int J Oral Sci.* 3 (2011) 98-106.
- [44] D.G. Davies, M.R. Parsek, J.P. Pearson, B.H. Iglewski, J.W. Costerton, E.P. Greenberg, The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm, *Science.* 280 (1998) 295-298.
- [45] D. Monroe, Looking for chinks in the armor of bacterial biofilms, *PLoS Biol.* 5 (2007) e307.
- [46] Z. Bulman, P. Le, A.O. Hudson, M.A. Savka, A novel property of propolis (bee glue): Anti-pathogenic activity by inhibition of N-acyl-homoserine lactone mediated signaling in bacteria, *J. Ethnopharmacol.* in press (2011).
- [47] J.M. Sforcin, A. Fernandes Jr, C.A.M. Lopes, V. Bankova, S.R.C. Funari, Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity, *J. Ethnopharmacol.* 73 (2000) 243-249.
- [48] J.M. Sforcin, A. Fernandes Jr, C.A.M. Lopes, S.R.C. Funari, V. Bankova, Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*, *J. Venom. Anim. Tox. incl. Trop. Dis.* 7 (2001) 139-144.
- [49] G. Gekker, S. Hu, M. Spivak, J.R. Lokensgard, P.K. Peterson, Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4(+) lymphocyte and microglial cell cultures, *J. Ethnopharmacol.* 102 (2005) 158-163.
- [50] R.O. Orsi, J.M. Sforcin, V.L.M. Rall, S.R.C. Funari, L. Barbosa, A. Fernandes Jr, Susceptibility profile of *Salmonella* against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil, *J. Venom. Anim. Tox. incl. Trop. Dis.* 11 (2005) 109-116.
- [51] R.O. Orsi, S.R.C. Funari, R. Barbattini, C. Giovani, F. Frilli, J.M. Sforcin, et al., Radionuclides in honeybee propolis (*Apis mellifera* L.), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76 (2006) 637-640.
- [52] R.O. Orsi, J.M. Sforcin, S.R.C. Funari, A. Fernandes Jr, V. Bankova, Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella Typhi*, *Braz. J. Microbiol.* 37 (2006) 108-112.
- [53] S.F. Freitas, L. Shinohara, J.M. Sforcin, S. Guimaraes, In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites, *Phytomedicine.* 13 (2006) 170-175.
- [54] M.C. Bufalo, J.M.G. Candeias, J.M. Sforcin, In vitro cytotoxic effect of Brazilian green propolis on human laryngeal epidermoide carcinoma (HEp-2) cells, *eCAM.* 6 (2009) 483-487.
- [55] M.C. Bufalo, A.S. Figueiredo, J.P.B. Sousa, J.M.G. Candeias, J.K. Bastos, J.M. Sforcin, Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR, *J. Appl. Microbiol.* 107 (2009) 1669-1168.
- [56] S.V. McLennan, J. Bonner, S. Milne, L. Lo, A. Charlton, S. Kurup, et al., The anti-inflammatory agent propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes, *Wound Repair Regen.* 16 (2008) 706-713.
- [57] M.C. Staak Jr, P.H. Colchon, A.G. Portes, T.J. Mezdari, D.R. Tames, S.F. Andrade, Histological evaluation on Brazilian green propolis effect in tissue repair of wistar rats cutaneous wounds, *Latin American Journal of Pharmacy.* 30 (2011) 383.

- [58] E. Sehn, L. Hernandez, S.L. Franco, C.C. Goncalves, M.L. Baesso, Dynamics of reepithelialisation and penetration rate of a bee propolis formulation during cutaneous wounds healing, *Anal. Chim. Acta.* 635 (2009) 115-120.
- [59] I.B. de Azevedo, R.F. Sampaio, J.C. Montes, R.L. Contreras, Treatment of decubitus ulcers with propolis, *Rev. Bras. Enferm.* 39 (1986) 33-37.
- [60] C.L.E. Bernardo, I.A.F. Souza, C. Colavitti, C. Garcia, Propolis: cicatrizante a antibiotico natural, *Rev. Bras. Enferm.* 43 (1990) 101-116.
- [61] J.C. Quintana Diaz, Efectos del propoleos en los tratamientos quirurgicos y las ulceras bucales, *Rev. Cubana Estomatol.* 33 (1996) 26-29.
- [62] S.R. Gregory, M.T. Piccolo, M.S.H. Piccolo, J P, Comparision of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns, *J. Altern. Complement. Med.* 8 (2002) 77-83.
- [63] A. Pachalski, B. Frańczuk, M. Wilk, An evaluation of the use of propolis in the treatment of skin disorders on the stumps of patients in rehabilitation following lower limb limb amputation, *Ortopedia, traumatologia, rehabilitacja.* 4 (2002) 60-68.
- [64] M.A. Lofuto, C.A. Lemos Junior, M.T. Shimizu, R. Cabral, G. Birman, Clinical evaluation of the topical use of propolis in recurrent minor aphthous ulceration, *Ciencia Odontologica Brasileira.* 24 (2005) 147-152.
- [65] M. Lofty, G. Badra, W. Burham, F.Q. Alenzi, Combined use of honey, bee propolis and myrrh in healing a deep, infected wound in a patient with diabetes mellitus, *Biomedical Science in Brief.* 63 (2006) 171-173.
- [66] M.J. Santos, L.A.C. Vianna, M.A. Gamba, Avaliacao da eficacia da pomada de propolis em portadores de feridas cronicas, *Acta Paulista de Enfermagem.* 20 (2007) 199-204.
- [67] P. Maffia, A. Ianaro, B. Pisano, F. Borrelli, F. Capasso, A. Pinto, et al., Beneficial effects of caffeic acid phenethyl ester in a rat model of vascular injury, *Br. J. Pharmacol.* 136 (2002) 353-360.
- [68] A. Ocakci, M. Kanter, M. Cabuk, S. Buyukbas, Role of caffeic acid phenethyl ester, an active component of propolis, against NAOH-induced esophageal burns in rats, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 70 (2006) 1731-1739.
- [69] S.K. Ha, E. Moon, S.Y. Kim, Chrysin suppresses LPS-stimulated pro-inflammatory responses by blocking NF- κ B and JNK activations in microglia cells, *Neurosci. Lett.* 485 (2010) 143-147.
- [70] Y. Bae, S. Lee, S.H. Kim, Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor- κ B, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 254 (2011) 56-64.
- [71] R.L.C. de Albuquerque-Júnior, A.L.S. Barreto, J.A. Pires, F.P. Reis, S.O. Lima, M. Amália, Effect of bovine type-I collagen-based films containing red propolis on dermal wound healing in rodent model, *Int J Morphol.* 27 (2009) 1105-1010.
- [72] S.A.L. de Moura, M.A.N.D. Ferreira, S.P. Andrade, M.L.C. Reis, M. de Lourdes Noviello, D.C. Cara, Brazilian green propolis inhibits

- inflammatory angiogenesis in a murine sponge model, eCAM. 2011 (2011) 182703.
- [73] J.W. Dobrowolski, S.B. Vohora, K. Sharma, S.A. Shah, S.A. Naqvi, P.C. Dandiya, Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products, J. Ethnopharmacol. 35 (1991) 77-82.
- [74] M.T. Khayyal, M.A. el-Ghazaly, A.S. el-Khatib, Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract, Drugs Exp. Clin. Res. 19 (1993) 197-203.
- [75] O.K. Mirzoeva, P.C. Calder, The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response, Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids. 55 (1996) 441-449.
- [76] W. Krol, S. Scheller, Z. Czuba, T. Matsuno, G. Zydowicz, J. Shani, et al., Inhibition of neutrophil's chemiluminescence by ethanol extract of propolis (EEP) and its phenolic components J. Ethnopharmacol. 55 (1996) 19-25.
- [77] F. Borrelli, P. Maffia, L. Pinto, A. Ianaro, A. Russo, F. Capasso, et al., Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract, Fitoterapia. 73 (2002) S53-S63.
- [78] L.R. Fitzpatrick, J. Wang, T. Le, Caffeic acid phenethyl ester, an inhibitor of nuclear factor-kappaB, attenuates bacterial peptidoglycan polysaccharide-induced colitis in rats, J. Pharmacol. Exp. Ther. 299 (2001) 915-920.
- [79] S. Ansorge, D. Reinhold, U. Lendeckel, Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF-B1 production of human immune cells, Z. Naturforsch., C: Biosci. 58 (2003) 580-589.
- [80] K. Natarajan, S. Singh, T. Burke Jr, D. Grunberger, B.B. Aggarwal, Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93 (1996) 9090-9095.
- [81] L. Wang, K. Chu, Y. Liang, Y. Lin, B. Chiang, Caffeic acid phenethyl ester inhibits nuclear factor- κ B and protein kinase B signaling pathways and induces caspase-3 expression in primary human CD⁴⁺ T cells, Clinical & Experimental Immunology. 160 (2010) 223-232.
- [82] W.R. Lariviere, R. Melzack, The bee venom test: a new tonic-pain test, Pain. 66 (1996) 271-277.
- [83] C. Deregnacourt, J. Schrevel, Bee venom phospholipase A2 induces stage-specific growth arrest of the intraerythrocytic *Plasmodium falciparum* via modifications of human serum components, J. Biol. Chem. 275 (2000) 39973-39980.