

Propolis w leczeniu próchnicy zębów

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Spychalski

PROPOLIS IN THE TREATMENT OF DENTAL CARIES

SUMMARY

Dental caries is a infection caused by physiological bacterial flora of oral cavity. This process is initiated by dental plaque. Dental plaque is a bacteria biofilm on the surface of teeth. The developing of caries is caused by Streptococci, mainly *Streptococcus mutans* and *S. sobrinus*.

The bacteriostatic and bactericidal activity of propolis on microorganisms dental caries, antiadherent activity, influence of propolis on experimental caries also therapy of dental caries by propolis are discussed.

KEY WORDS: PROPOLIS – DENTAL PLAQUE
– CARIES MICROORGANISMS – EXPERIMENTAL
CARIES – THERAPY

Płytką nazębna

Próchnica zębów jest zakażeniem wywołanym przez fizjologiczną florę jamy ustnej. Jest to miejscowe zniszczenie tkanki zębowej przez bakteryjne produkty fermentacji węglowodanów zawartych w pożywieniu. Proces ten jest następstwem demineralizacji szkliwa zębowego na skutek wytwarzania przez drobnoustroje jamy ustnej produktów kwaśnych. Produkty te powstają w wyniku metabolizmu przez drobnoustroje węglowodanów, głównie sacharozy. Sacharoza jest cukrem dobrze rozpuszczającym się w ślinie i stanowi substrat do produkcji zewnątrzkomórkowych polisacharydów i kwasów. Drobnoustroje próchnicogenne wytwarzają z sacharozy nierozpuszczalne w wodzie glikany, które są dla nich źródłem substancji odżywczych oraz siedliskiem służącym do dalszego ich rozwoju. Ponadto ułatwiają one przyleganie (adhezję) drobnoustrojów do powierzchni zęba.

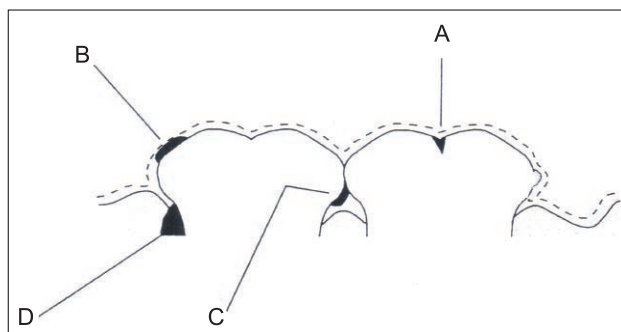
Płytką nazębna jest nalotem bakteryjnym, tworzącym się na powierzchni zębów, złożonym z żywych i martwych bakterii, ich produktów oraz wspomnianych wyżej glikanów i produktów pochodzących ze śliny i składników pożywienia. Na rycinie 1 przedstawiono lokalizację płytki nazębnej na powierzchni zębów. Rozróżniamy płytkę nazębna tworzącą się w bruzdach zębów, na ich gładkich powierzchniach (płytką nazębna naddziąsłowa), na powierzchni stycznych zębów

(płytką nazębna naddziąsłowa) i pomiędzy dziąsłami i zębami (płytką nazębna poddziąsłowa).

Zapoczątkowanie i dalszy rozwój próchnicy zębów przypisuje się paciorkowcom, głównie *Streptococcus mutans* i *S. sobrinus*. Inne paciorkowce jamy ustnej (*S. cricetus*, *S. ferus*, *S. raptus*, *S. macacae* i *S. downei*) spotykane są w płytce nazębnej bardzo rzadko. W dalszym procesie powstawania próchnicy zębów dużą rolę odgrywają pałeczki kwasu mlekowego – *Lactobacillus* sp. oraz promieniowce – *Actinomyces* sp.

Próchnica początkowa, polegająca na przerwaniu ciągłości szkliwa zębowego, jest odwracalna i szkliwo może ulec remineralizacji. Jednakże w miarę postępowania procesu dochodzi do ubytku twardych tkanek zęba. Jeśli procesu nie udaje się przerwać (na drodze leczenia ubytku), przenosi się on na zębinę, a następnie niszczy miążgę zębową.

Próchnica zębów jest jedną z najczęściej spotykanych chorób u ludzi i jest wynikiem częstego spożywania węglowodanów oraz niedostatecznej higieny jamy ustnej.



Ryc. 1. Lokalizacja płytki nazębnej na powierzchni zębów (wg 1).

A – Płytką nazębna typu bruzdowego, B – płytką powierzchniową (naddziąsłowa), C – płytką na powierzchniach stycznych zębów (naddziąsłowa), D – płytką poddziąsłowa.

Działanie propolisu na drobnoustroje wywołujące próchnicę zębów

W badaniach *in vitro* ekstrakty z propolisu wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe, hamujące glikolizę i przeciwadherencyjne. Badania prowa-

dzono głównie na paciorkowcach próchnicotwórczych *Streptococcus mutans* i *S. sobrinus*.

W przypadku działania przeciwdrobnoustrojowego oceniano aktywność bakteriostatyczną (MIC) i bakteriobójczą (MBC) paciorkowców próchnicotwórczych. Określano również hamowanie u tych drobnoustrojów enzymu glukozylotransferazy (GTS) syntetyzującego glukany z sacharozy oraz hamowanie zdolności przylegania paciorkowców próchnicotwórczych do tkanki zębowej, tzw. adherencji (ADH).

Działanie przeciwdrobnoustrojowe

Koo i wsp. (2) oceniali działanie bakteriostatyczne (MIC – *Minimal inhibitory concentration*) i bakteriobójcze (MBC – *Minimal bactericidal concentration*) 3 ekstraktów etanolowych z propolisu (EEP) pochodzącego z różnych rejonów Brazylii na paciorkowce próchnicotwórcze.

Badania wykazały, że MIC wobec *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* i *S. cricetus* (tab. 1) mieści się w granicach 25-400 µg/ml, a MBC w granicach 100 -> 800 µg/ml.

Tabela 1. Działanie bakteriostatyczne (MIC) i bakteriobójcze (MBC) ekstraktów etanolowych z propolisu (EEP) na paciorkowce próchnicotwórcze (wg 2).

| Paciorkowce próchnicotwórcze | Działanie EEP* | |
|-------------------------------|----------------|-----------------|
| | MIC (µg/ml) | MBC (µg/ml) |
| <i>Streptococcus mutans</i> | 50, 100, 400 | 400, 400, > 800 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | 25, 50, 400 | 100, 200, > 800 |
| <i>Streptococcus cricetus</i> | 25, 50, 400 | 100, 200, > 800 |

*W badaniach uwzględniono 3 próbki EEP pochodzące z różnych rejonów Brazylii.

Badania Hayacibary i wsp. (3), prowadzone na 2 próbkach propolisu brazylijskiego (tab. 2) wykazały, że ekstrakty etanolowe (EEP), jak również frakcje heksanowe (Fr. Heks.) i chloroformowe (Fr. CHCl₃) wykazywały działanie bakteriostatyczne (MIC) w granicach 12,5-400 µg/ml i działanie bakteriobójcze (MBC) w granicach 50-400 µg/ml. Fr. Heks. pochodzące z obu próbek propolisu były bardziej aktywne w porównaniu do EEP, natomiast Fr. CHCl₃ miały podobną aktywność przeciwdrobnoustrojową w porównaniu do EEP.

Z kolei badania Kima i wsp. (4) wykazały, że paciorkowce chorobotwórcze, pochodzące z zębów próchnicznych, w liczbie 57, były bardzo wrażliwe na działanie ekstraktu etanolowego (EEP) z propolisu koreańskiego. Wyniki badań zebrane w tabeli 3 wskazują, że 33,3% tych szczepów było wrażliwych na działanie EEP w stężeniu 17,5 µg/ml, 64,9% było wrażliwych na działanie EEP w stężeniu 35,0 µg/ml i 1,8% szczepów było wrażliwych na działanie EEP w stężeniu 70,0 µg/ml.

Tabela 2. Działanie bakteriostatyczne (MIC) i bakteriobójcze (MBC) ekstraktów etanolowych (EEP) z propolisu brazylijskiego i ich frakcji na paciorkowce próchnicotwórcze (wg 3).

| Ekstrakty etanolowe (EEP) z propolisu i ich frakcje | Paciorkowce próchnicotwórcze | | | |
|---|------------------------------|---------|--------------------|---------|
| | <i>S. mutans</i> | | <i>S. sobrinus</i> | |
| | MIC | MBC | MIC | MBC |
| Propolis 3 EEP | 25-50 | 200-400 | 25-50 | 100-200 |
| Frakcja heksanowa (Fr. Heks.) | 25-50 | 50-100 | 12,5-25 | 25-50 |
| Frakcja chloroformowa (Fr. CHCl ₃) | 25-50 | 200-400 | 25-50 | 200-400 |
| Propolis 12 EEP | 200-400 | | 200-400 | |
| Fr. Heks. | 25-50 | 200-400 | 25-50 | 200-400 |
| Fr. CHCl ₃ | 200-400 | | 200-400 | |

Tabela 3. Działanie bakteriostatyczne (MIC) ekstraktu etanolowego (EEP) z propolisu koreańskiego na paciorkowce próchnicotwórcze (wg 4).

| Paciorkowce próchnicotwórcze | Liczba szczepów | Stężenie EEP hamujące wzrost szczepów paciorkowców (MIC) (µg/ml) | | |
|-------------------------------|-----------------|--|------|------|
| | | 17,5 | 35,0 | 70,0 |
| <i>Streptococcus mutans</i> | 41 | 18 | 23 | 0 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | 46 | 1 | 14 | 1 |
| Łącznie | 57 | 19 | 37 | 1 |
| Procent | 100,0 | 33,3 | 64,9 | 1,8 |

Na podstawie przedstawionych powyżej wyników badań można przyjąć, że paciorkowce próchnicotwórcze (głównie *S. mutans* i *S. sobrinus*) były wrażliwe na działanie ekstraktów propolisowych w granicach stężeń 17,5-400 µg/ml. Natomiast działanie bakteriobójcze tych ekstraktów w większości mieściło się w granicach 100-400 µg/ml, jednak w niektórych przypadkach było wyższe od 800 µg/ml.

Hamowanie aktywności glukozylotransferazy (GTS)

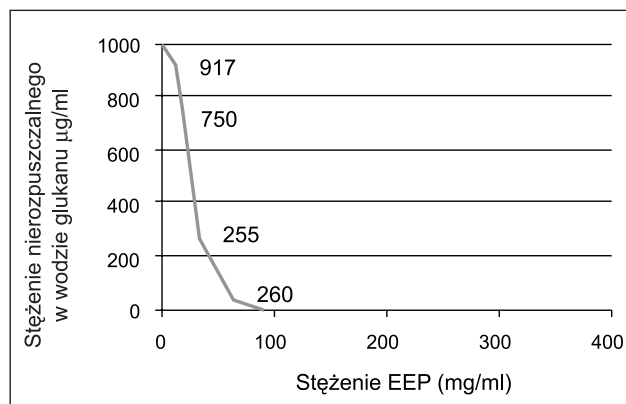
Ikeno i wsp. (5) wykazali, że aktywność glukozylotransferazy (GTS) hamowana jest przez ekstrakt etanolowy z propolisu (EEP). Do hodowli komórek paciorkowców próchnicotwórczych dodawano EEP w ilości 2,5 mg/ml i oceniano aktywność wytwarzanego enzymu. Wyniki badań zebrane w tabeli 4 wskazują, że w przypadku *Streptococcus mutans* EEP hamował aktywność GST na poziomie 60,3%, w przypadku *S. sobrinus* na poziomie 38,7%, a w przypadku *S. cricetus* na poziomie 39,5%.

Tabela 4. Wpływ ekstraktu etanolowego (EEP) z propolisu na aktywność glukozylotransferazy (GTS) (wg 5).

| Paciorkowce próchnicotwórcze jako źródło GTS | Aktywność GTS (mg/2 h/ml) | | |
|--|---------------------------|-----------------|--------------------------|
| | bez EEP | EEP (2,5 mg/ml) | obniżenie aktywności (%) |
| <i>Streptococcus mutans</i> | 6,30 | 2,50 | 60,3 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> | 1,86 | 1,14 | 38,7 |
| <i>Streptococcus cricetus</i> | 2,00 | 1,21 | 39,5 |

Badania Koo i wsp. (6) wyraźnie wskazują, że ekstrakt etanolowy z propolisu (EEP) hamuje tworzenie się nierozpuszczalnego w wodzie glukanu z sacharozy pod wpływem glukozylotransferazy (GTS). W roztworze reakcyjnym znajdowało się 1.000 μ l 0,25 mol/l sacharozy, 100 μ l enzymu glukozylotransferazy (GTS) oraz odpowiednie stężenia EEP (μ g/ml).

Stwierdzono (ryc. 2), że pod wpływem wzrastających stężeń EEP (5, 15, 30 i 60 μ g/ml) następowało gwałtowne hamowanie powstawania nierozpuszczalnego glukanu z sacharozy (odpowiednio 917, 750, 225 i 26 μ g/ml). Całkowite zahamowanie powstawania glukanu z sacharozy indukowane przez GST zaobserwowano przy stężeniu EEP w ilości 80 μ g/ml.

**Ryc. 2.** Hamowanie tworzenia się nierozpuszczalnego w wodzie glukanu z sacharozy pod wpływem glukozylotransferazy (GST) w obecności ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) (wg 6).

Późniejsze badania Koo i wsp. (7) potwierdziły te spostrzeżenia. W obecności 3 różnych ekstraktów etanolowych z EEP pochodzenia brazylijskiego, całkowite zahamowanie syntezy nierozpuszczalnego glukanu z sacharozy pod wpływem glukozylotransferazy (GTS) zachodziło w obecności EEP w granicach stężeń od 125 do 500 μ g/ml.

W tabeli 5 przedstawiono wpływ ekstraktów i frakcji uzyskanych z propolisu na aktywność enzymu glukozylotransferazy (GTS). Z badań wykonanych przez Hayacibarę i wsp. (3), Koo i wsp. (8) oraz Duarte i wsp. (9) wynika, że największą aktywnością hamowania tego enzymu odznaczała się frakcja chloroformowa i heksanowa otrzymane z ekstraktu etanolowego z

propolisu (hamowały one w 50% aktywność GTS w stężeniach 11,4 i 17,9 μ g/ml). Ekstrakty etanolowe, chloroformowe, heksanowe i octanu etylu działały nieco słabiej. Hamowały one w 50% aktywność GTS w granicach stężeń 41,2-141,9 μ g/ml.

Tabela 5. Wpływ ekstraktów z propolisu i ich frakcji na aktywność glukozylotransferazy (GTS) (wg 3, 8, 9).

| Pozycja piśmiennictwa | Rodzaj ekstraktu lub frakcji z propolisu | Stężenie hamujące 50% aktywności GTS (μ g/ml) |
|-----------------------|--|--|
| 3 | Ekstrakt chloroformowy | 97,3 |
| | Ekstrakt etanolowy (EEP) | 105,4 |
| | Ekstrakt heksanowy | 125,7 |
| 8 | Ekstrakt octanu etylu | 141,9 |
| | Ekstrakt etanolowy (EEP) | 41,2 |
| 9 | Frakcja heksanowa z EEP | 17,9 |
| | Frakcja chloroformowa z EEP | 11,4 |

Badania Ikeno i wsp. (5) oraz Koo i wsp. (10) wykazały, że wśród składników propolisu odpowiedzialnych za hamowanie aktywności GTS znajduje się kwas cynamonowy, apigenina i kemferol (tab. 6). Stwierdzono, że kwas cynamonowy w stężeniach od 5,0 do 7,5 mg/ml hamował w ponad 90% aktywność enzymu GTS. W stężeniach od 67,5 do 140,0 mg/ml właściwości takie wykazywały apigenina i kemferol. Są to przedstawiciele kwasów aromatycznych i związków flawonoidowych występujących w propolisie. Prawdopodobnie również inne związki obecne w ekstraktach propolisowych odznaczają się podobnym działaniem. Wymaga to jednak dalszych badań w tym kierunku.

Tabela 6. Składniki propolisu odznaczające się zdolnością hamowania aktywności glukozylotransferazy (GTS) (wg 5, 10).

| Składniki propolisu | Piśmiennictwo | Stężenia związków hamujące w ponad 90% aktywność GTS | |
|---------------------|---------------|--|----------------------|
| | | stężenie związku (mg/ml) | hamowanie enzymu (%) |
| Kwas cynamonowy | 5 | 5,0 | 91,8 |
| | | 6,25 | 98,8 |
| | | 7,5 | 99,8 |
| Apigenina | 10 | 67,5 | 92,8 |
| | | 135,0 | 94,3 |
| Kemferol | 10 | 140,0 | 90,4 |

Działanie antyadherencyjne

Jedną z cech paciorkowców próchnicotwórczych jest ich zdolność przylegania do tkanki zębowej. Hamowanie tego procesu nazywamy działaniem antyadherencyjnym. Ekstrakty propolisowe odznaczają się takimi właściwościami.

Koo i wsp. (7) badali wpływ ekstraktów etanolowych (EEP) otrzymanych z propolisu brazylijskiego na przyleganie paciorkowców próchnicotwórczych do powierzchni. Do tego celu użyto *Streptococcus mutans* i *S. sobrinus*, które hodowano w probówkach ułożonych pod kątem 30° przez 18 godz., w obecności różnych stężeń EEP, a następnie hodowlę tych drobnoustrojów przylegającą do ścian probówki (po usunięciu hodowli) zawieszano w jałowej wodzie destylowanej i określano ich liczbę spektrofotometrycznie. Na tej podstawie określano stężenie EEP całkowicie hamujące przyleganie paciorkowców do powierzchni szkła.

Wyniki badań przedstawione w tabeli 7 wskazują, że stężenia hamujące przyleganie paciorkowców do powierzchni szkła mieszczą się w granicach 50-450 µg/ml. Dwie z badanych próbek EEP (RS i BA) działały antyadherencyjnie znacznie silniej (50-75 µg/ml) w porównaniu do trzeciej badanej próbki EEP (MG) (400-450 µg/ml).

Tabela 7. Działanie antyadherencyjne ekstraktów etanolowych z propolisu (EEP) (wg 7).

| Próbki EEP brazylijskiego | Stężenie EEP (µg/ml) hamujące przyleganie paciorkowców do powierzchni szkła | |
|---------------------------|---|--------------------|
| | <i>S. mutans</i> | <i>S. sobrinus</i> |
| MG | 400 | 450 |
| RS | 75 | 50 |
| BA | 60 | 70 |

Późniejsze badania Duarte i wsp. (9) dotyczące ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) oraz uzyskanych z tego ekstraktu frakcji: heksanowej (EEP-H) i chloroformowej (EEP-CH) wykazały, że na szczepy *Streptococcus mutans* i *S. sobrinus* najsilniejsze działanie antyadherencyjne wykazuje frakcja EEP-H (średnie stężenie antyadherencyjne wynosiło 22,9 µg/ml) (tab. 8). Zarówno EEP, jak i EEP-CH odznaczały się słabszym działaniem antyadherencyjnym (średnie stężenie antyadherencyjne wynosiło odpowiednio 41,7 i 45,8 µg/ml).

Tabela 8. Działanie antyadherencyjne ekstraktu etanolowego (EEP), jego frakcji heksanowej (EEP-H) i chloroformowej (EEP-CH) (wg 9).

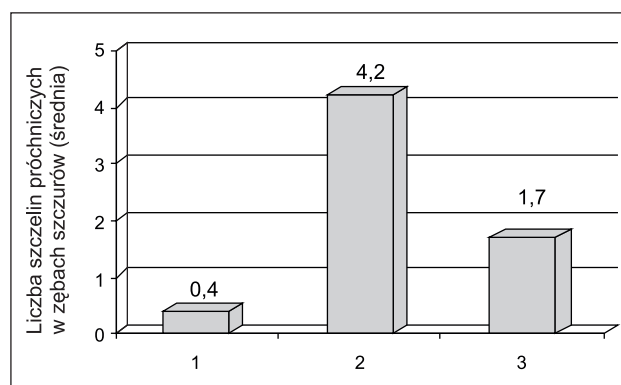
| Badane drobnoustroje | Stężenie EEP (µg/ml) hamujące przyleganie paciorkowców do powierzchni szkła | | |
|------------------------------------|---|-------|--------|
| | EEP | EEP-H | EEP-CH |
| <i>Streptococcus mutans</i> 1600 | 50 | 25 | 50 |
| <i>Streptococcus mutans</i> 1 | 50 | 25 | 50 |
| <i>Streptococcus mutans</i> 2 | 50 | 25 | 50 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> 6715 | 25 | 12,5 | 25 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> 1 | 25 | 25 | 50 |
| <i>Streptococcus sobrinus</i> 2 | 50 | 25 | 50 |
| Średnie stężenie | 41,7 | 22,9 | 45,8 |

W podsumowaniu można stwierdzić, że ekstrakty propolisowe odznaczają się działaniem antyadherencyjnym i zapobiegają przyleganiu paciorkowców próchnicotwórczych do powierzchni szkła. Na tej podstawie można przypuszczać, że działanie takie ekstrakty propolisowe wykazują w przypadku tkanek zęba, a to oznaczałoby, że przeciwdziałają one powstawaniu płytki nazębnej i zabezpieczają przed rozwojem próchnicy zębów.

Wpływ propolisu na próchnicę doświadczalną

Ikeno i wsp. (5) jako jedni z pierwszych wywoływali u zwierząt doświadczalnych próchnicę doświadczalną, a następnie podawali im ekstrakt propolisowy. Próchnicę wywoływano u szczurów na drodze podawania im do picia wody zakażonej hodowlą *Streptococcus sobrinus*. Leczenie zwierząt polegało na podawaniu im w wodzie do picia 1% ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP). Doświadczenie prowadzono przez 9 tygodni.

Przeprowadzone badania wykazały (ryc. 3), że u zwierząt z wywołaną próchnicą doświadczalną podawanie EEP w wodzie do picia (w postaci 0,1% roztworu) powodowało po 9 tyg. zmniejszenie liczby szczelin próchnicznych w zębach średnio z 4,2 do 1,7 (obniżenie o 59,5%).



Ryc. 3. Leczenie próchnicy doświadczalnej za pomocą ekstraktu etanolowego z propolisu (wg 5).

- 1 - Kontrola (zwierzęta nie poddawane żadnym zabiegom),
- 2 - próchnica zębów (*S. sobrinus*),
- 3 - zwierzęta leczone (*S. sobrinus* + EEP).

Badania Koo i wsp. (11) dowodzą, że u szczurów, u których wywołano próchnicę doświadczalną zębów trzonowych, podawanie 8% roztworu ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) w paszy przez 3 tygodnie, spowodowało znaczne zmniejszenie zakażenia zębów przez paciorkowce próchnicotwórcze (tab. 9). W zależności od pochodzenia propolisu stopień zakażenia

zębów był mniejszy o 40,3% (EEP RS) i o 35,8% (EEP MG).

Podobny proces obserwowano w przypadku ciężkości zmian próchnicznych. U zwierząt leczonych EEP RS próchnica powierzchniowa była o 70,9% mniej zaawansowana, a próchnica w postaci bruzd o 67,8% mniej zaawansowana niż u zwierząt kontrolnych (nieleczonych). Leczenie za pomocą EEP MG było mniej korzystne. Próchnica powierzchniowa u zwierząt była o 35,8% mniej zaawansowana, a próchnica w postaci bruzd była o 43,6% mniej zaawansowana niż u zwierząt kontrolnych (nieleczonych).

Z badań Hayacibary i wsp. (3) wynika, że ekstrakty etanolowe z propolisu brazylijskiego (EEP) w większym stopniu ochraniają u szczurów zęby trzonowe przed próchnicą powierzchniową niż bruzdową. Szczury zakażano na drodze wprowadzania do jamy gębowej paciorkowców *Streptococcus sobrinus* przez 3 kolejne dni. Następnie karmiono je specjalną dietą zawierającą 56% sacharozy. Leczenie zębów trzonowych polegało na smarowaniu ich 2,5% alkoholowym roztworem EEP przez 30 s dwa razy dziennie przez 5 tygodni.

Wyniki badań przedstawione w tabeli 10 wskazują, że EEP w 52,7 i 37,5% (zależnie od użytej próbki) ochraniał zęby trzonowe zwierząt przed powierzchniową próchnicą zębinową. W znacznie mniejszym

stopniu (odpowiednio 4,8 i 15,3%) ochraniał on zęby przed bruzdową próchnicą zębinową. Łącznie 2,5% roztwór alkoholowy EEP ochraniał zęby trzonowe szczurów przed próchnicą zębinową w około 23%.

Ostatnie badania Duatre i wsp. (12) potwierdziły wcześniejsze obserwacje, a mianowicie stwierdzono, że ekstrakt etanolowy z propolisu brazylijskiego (EEP) w większym stopniu zapobiegał próchnicy zębinowej powierzchniowej niż bruzdowej w przypadku zębów trzonowych u szczurów. Próchnicę zębów u zwierząt wywoływano za pomocą paciorkowców *Streptococcus sobrinus*, a następnie zwierzęta otrzymywały do picia wodę zawierającą 5% sacharozy. Leczenie próchnicy prowadzono przy użyciu 5% alkoholowego roztworu EEP, którym smarowano zęby trzonowe dwa razy dziennie przez 5 tygodni.

Z wyników badań zebranych w tabeli 11 można zorientować się, że leczenie próchnicy zębinowej powierzchniowej było bardziej skuteczne i zabezpieczało zwierzęta przed jej rozwojem w 43,0%. Natomiast w przypadku próchnicy zębinowej bruzdowej jej rozwój był zaledwie o 12,3% słabszy niż u zwierząt nieleczonych. W obu rodzajach próchnicy dotyczyło to zarówno zmian słabych, średnich i dużych, jakie obserwowano w przebiegu tej choroby wywołanej u zwierząt na drodze doświadczalnej.

Tabela 9. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na powstawanie próchnicy zębów u szczurów (wg 11),

| Grupy zwierząt | Stopień zakażenia zębów przez <i>S. sobrinus</i> (%) | Ciężkość zmian próchnicznych (w punktach)* | |
|--|--|--|--------------------|
| | | próchnica powierzchniowa | próchnica bruzdowa |
| Kontrolna (zakażona <i>S. sobrinus</i>) | 17,6 (100,0) | 11,0 (100,0) | 14,9 (100,0) |
| Leczona EEP RS | 10,5 (59,7) | 3,2 (29,1) | 4,8 (32,2) |
| Leczona EEP MG | 11,3 (64,2) | 8,2 (74,5) | 8,4 (56,4) |

*Średnio zaawansowana próchnica zębinowa.
W nawiasach podano procent zmian próchnicowych w odniesieniu do kontroli.

Tabela 10. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na przebieg próchnicy doświadczalnej u szczurów (wg 3).

| Grupy zwierząt | Zmiany próchniczne zębów trzonowych (w punktach)* | | |
|-----------------------|---|--------------------|-------------------|
| | próchnica powierzchniowa | próchnica bruzdowa | próchnica łącznie |
| Kontrola (nieleczona) | 22,0 (100,0) | 35,4 (100,0) | 57,4 (100,0) |
| EEP 3 | 10,4 (47,3) | 33,7 (95,2) | 44,1 (75,8) |
| EEP 12 | 13,8 (62,7) | 30,0 (84,7) | 43,8 (76,3) |

*Słabo i średniozaawansowana próchnica zębinowa
W nawiasach podano procent zmian próchnicznych w odniesieniu do kontroli

Tabela 11. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na przebieg próchnicy doświadczalnej u szczurów (wg 12).

| Grupy zwierząt | Zmiany próchniczne zębów trzonowych (w punktach) | | | |
|-----------------------------------|--|---------|------|--------------|
| | słabe | średnie | duże | łącznie |
| Próchnica zębinowa powierzchniowa | | | | |
| Kontrola | 27,2 | 12,2 | 2,7 | 42,1 (100,0) |
| EEP | 17,8 | 5,2 | 1,0 | 24,0 (57,0) |
| Próchnica zębinowa bruzdowa | | | | |
| Kontrola | 26,0 | 15,3 | 1,9 | 42,2 (100,0) |
| EEP | 24,0 | 12,4 | 1,5 | 37,9 (87,7) |

Na podstawie przedstawionych powyżej danych można stwierdzić, że ekstrakty propolisowe zabezpieczają zwierzęta przed próchnicą doświadczalną powierzchniową w około 50% i bruzdową w około 30%.

Leczenie próchnicy zębów za pomocą propolisu

Zastosowanie ekstraktów propolisowych u ludzi może mieć charakter zapobiegawczy i leczniczy. W pierwszym przypadku preparaty zawierające ekstrakty propolisowe stosuje się w celu zapobieżenia powstawaniu płytki nazębnej, w drugim przypadku używa się ich do leczenia powstałych już ubytków próchnicowych zębów.

Zapobieganie powstawaniu płytki nazębnej

Schmidt i wsp. (13) do usuwania płytki nazębnej użyli 0,5% wody propolisowej. W badaniach uczestniczyło 100 ochotników obojga płci w wieku 16-50 lat. Wodę propolisową do płukania ust sporządzano z ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP). 50% EEP rozpuszczano w ilości 5 kropli w 100 ml wody przegotowanej. Po umyciu zębów za pomocą pasty i szczoteczki, jamę ustną płukano wodą propolisową w ilości 100 ml. Zabiegi te wykonywano 2 razy dziennie: rano i wieczorem. Kontrolę stanowili ochotnicy myjący zęby przy użyciu pasty i szczoteczki.

Wyniki badań zebrane w tabeli 12 wskazują, że płukanie jamy ustnej 0,5% wodą propolisową zmniejszało płytkę nazębną w pięciu grupach wiekowych w granicach od 34,6 do 53,7% (średnio o 42,8%). A zatem płukanie ust wodą propolisową zmniejsza zagrożenie próchnicą zębów, niezależnie od wieku ochotników, prawie o połowę w stosunku do grupy kontrolnej (nie stosującej tego zabiegu po oczyszczeniu zębów pastą i szczoteczką).

Tabela 12. Wpływ płukania jamy ustnej wodą propolisową na płytkę nazębną (wg 13).

| Grupy wiekowe ochotników (lata) | Liczba ochotników | Zmniejszenie płytki nazębnej w porównaniu do kontroli (%) |
|---------------------------------|-------------------|---|
| 16-25 | 20 | 34,6 |
| 26-30 | 20 | 53,7 |
| 31-35 | 20 | 42,1 |
| 36-40 | 20 | 41,9 |
| 41-50 | 20 | 40,2 |
| łącznie (16-50 lat) | 100 | 42,8 |

Poppe i Michelis (14) badali wpływ pasty do zębów z propolisem na rozwój płytki nazębnej. Badania prowadzono z udziałem 103 dzieci, które stosowały przez 2 lata pastę do zębów z propolisem (autorzy nie po-

dają jego stężenia w preparacie). Kontrolę stanowiła pasta do zębów bez propolisu. Stwierdzono, że pasta z zawartością propolisu po roku zmniejszała płytkę nazębną o 34,3%, a po 2 latach stosowania jeszcze o 12,4% w porównaniu do wartości wyjściowych. Natomiast pasta bez propolisu po roku zmniejszała płytkę nazębną o 31,9%, a po 2 latach o 5% (tab. 13). Z przedstawionych danych można wyciągnąć wniosek, że pasta do zębów z propolisem działała nieco lepiej przeciwpróchniczo w porównaniu do pasty bez propolisu.

Tabela 13. Wpływ stosowania pasty do zębów z propolisem na płytkę nazębną (wg 14).

| Stosowanie pasty do zębów (lata) | Zmniejszenie płytki nazębnej (%) | |
|----------------------------------|----------------------------------|-------------|
| | pasta bez EEP | pasta z EEP |
| 0 | 0 | 0 |
| 1 | 31,9 | 34,3 |
| 2 | 5,0 | 12,4 |

Badanie Neumanna i wsp. (15) z płynem do płukania ust zawierającym propolis wskazują na korzystne działanie preparatu w ograniczaniu powstawania płytki nazębnej. W badaniach uczestniczyło 60 studentów obojga płci w wieku 20-25 lat. Jedna grupa ochotników płukała usta 2 razy dziennie przez 2 minuty za pomocą płynu zawierającego 0,5% ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP), druga grupa (kontrolna) płukała usta przez 2 minuty wodą. Badania prowadzono przez 21 dni.

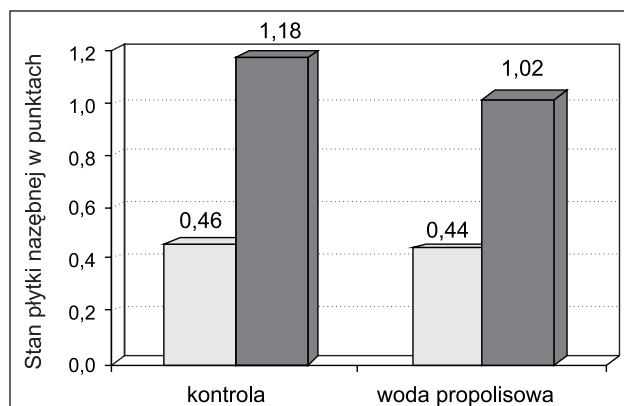
W wyniku przeprowadzonych badań (tab. 14) stwierdzono, że płukanie ust wodą propolisową obniżało wskaźnik płytki nazębnej po 7 dniach o 7,9%, po 14 dniach o 16,3% i po 21 dniach o 18,1% w porównaniu do kontroli. Na tej podstawie można przyjąć, że woda propolisowa wpływa na zmniejszenie płytki nazębnej.

Tabela 14. Wpływ stosowania wody do płukania ust z propolisem na powstawanie płytki nazębnej (wg 15).

| Czas stosowania preparatu (dni) | Płytkę nazębną (wskaźnik) | | Obniżenie wskaźnika płytki nazębnej w porównaniu do kontroli (%) |
|---------------------------------|---------------------------|----------|--|
| | kontrola | preparat | |
| 0 | 0,23 | 0,23 | 0 |
| 7 | 1,65 | 1,52 | 7,9 |
| 14 | 2,15 | 1,80 | 16,3 |
| 21 | 2,38 | 1,95 | 18,1 |

Kolejne badania Murraya i wsp. (16) potwierdzają powyższe obserwacje. Woda propolisowa do płukania ust stosowana u 21 osób (autorzy nie podają jej składu) przez 5 dni obniżyła o 13,6% grubość płytki nazębnej w porównaniu do 21 osób płuczających jamę ustną w tym czasie samą wodą (ryc. 4). A zatem stosowanie wody propolisowej jako jedyne czynni-

ka wpływającego na stan płytki nazębnej wydaje się niezadowolające.



Ryc. 4. Wpływ płukania jamy ustnej wodą propolisową na stan płytki nazębnej (wg 16).

Badania przeprowadzone przez Koo i wsp. (17) przynoszą nieco inny obraz działania propolisu na płytkę nazębną. Autorzy uwzględnili w badaniach 6 ochotników (3 kobiety i 3 mężczyzn) w wieku 20-38 lat z dobrym uzębieniem. Płyn do płukania ust zawierał 3% ekstraktu etanolowego z propolisu, 20% etanolu i 5% glikolu propylenowego w 100 ml. Płyn kontrolny nie zawierał propolisu. Badania rozpoczynano od dokładnego oczyszczenia jamy ustnej za pomocą pasty do zębów. Następnie ochotnicy płukali jamę ustną 2 razy dziennie (po śniadaniu i przed snem) za pomocą 15 ml płynu do ust przez 1 minutę. Ponadto ochotnicy płukali jamę ustną 15 ml 20% roztworu sacharozy przez 10 minut 5 razy dziennie (w określonych porach), celem stymulowania powstawania płytki nazębnej. Po 3 dniach oceniano u ochotników indeks płytkowy oraz zawartość nierozpuszczalnego glukanu w płytce nazębnej. U tych samych ochotników prowadzono następnie badania z płynem nie zawierającym propolisu. Były to zatem badania krzyżowe z podwójną ślepą próbą.

Wyniki badań przedstawione w tabeli 15 wskazują, że płyn do płukania ust z propolisem o 44,7% obniżał indeks płytkowy oraz o 61,7% zmniejszał poziom nierozpuszczalnego glukanu w płytce nazębnej. Świadczy to o wyraźnym działaniu przeciwpróchnicowym płynu do płukania ust zawierającego 3% ekstraktu etanolowego z propolisu.

Tabela 15. Usuwanie płytki nazębnej za pomocą płynu do płukania ust z propolisem (wg 17).

| Stosowany preparat | Indeks płytkowy | | Nierozpuszczalny glukan (mg/g) | |
|-------------------------------|-----------------|---------------|--------------------------------|---------------|
| | średnia | obniżenie (%) | średnia | obniżenie (%) |
| Płyn kontrolny | 1,41 | 0 | 49,6 | 0 |
| Płyn do płukania z propolisem | 0,78 | 44,7 | 19,0 | 61,7 |

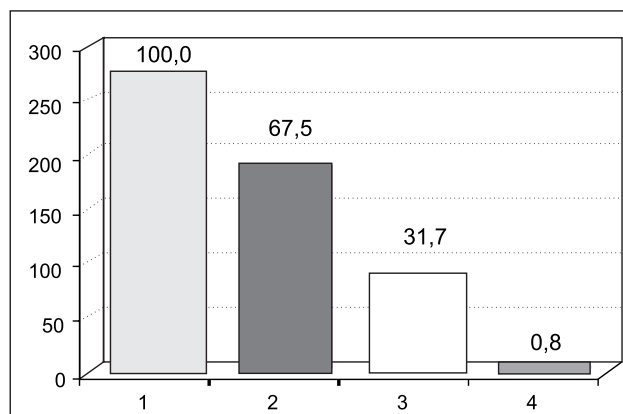
Przedstawione powyżej publikacje pozwalają na stwierdzenie, że o stopniu usuwania płytki nazębnej decyduje stężenie propolisu w płynie do płukania ust. Niskie stężenia propolisu (0,5%) tylko w niewielkim stopniu zabezpieczają zęby przed płytką nazębną. A zatem można je stosować do płukania ust po zabiegu szczotkowania zębów z udziałem pasty. Natomiast obecność propolisu w płynie do płukania ust w stężeniu wyższym (3%) pozwala na usuwanie płytki nazębnej oraz zapobiega tworzeniu się nierozpuszczalnego glukanu w stopniu zapobiegającym powstawaniu próchnicy zębów. Nie mniej nie są zalecane jako jedyny sposób zabezpieczania zębów przed próchnicą, a raczej jako zabieg uzupełniający codzienną higienę jamy ustnej, polegającą na oczyszczaniu uzębienia pastą do zębów.

Leczenie ubytków próchnicznych

Jako jedni z pierwszych zastosowaniem propolisu do leczenia próchnicy zębów zajęli się Danilewski i wsp. (18). Do ubytków próchnicowych wprowadzali oni 4% ekstrakt etanolowy z propolisu ogrzany do temp. 37°C na 3-4 minuty. Leczeniem objęto 278 chorych (łącznie propolisem traktowano 457 zębów). Zastosowanie propolisu miało przede wszystkim na celu znieczulenie miejscowe twardych tkanek zęba.

Z ryciny 5 wynika, że wysoki stopień znieczulenia ubytków próchnicowych stwierdzono u 188 osób (67,5%), częściowe znieczulenie u 88 osób (31,7%) i brak efektu zaobserwowano u 2 osób (0,8%). Wysoki stopień znieczulenia ubytków próchnicowych odnotowano głównie u 72 dzieci w wieku 7-18 lat (15,8%) z klinicznym obrazem ostrego przebiegu próchnicy. W przeważającej liczbie pacjentów tej grupy występowały liczne ubytki próchniczne w większej liczbie zębów, przy czym były one zlokalizowane w obszarze szyjek zębowych, gdzie wrażliwość na ból jest wyjątkowo duża. Wysoką efektywność znieczulenia zębiny za pomocą ekstraktu etanolowego z propolisu u młodych ludzi autorzy przypisują lepszemu dyfuzji tego preparatu przez szerokie kanały zębowe.

Vljakov (19) do leczenia ubytków próchnicowych stosował 50% ekstrakt etanolowy z propolisu. Przy pierwszym kontakcie ubytek próchnicowy przemywał opisanym wyżej roztworem propolisu w celu znieczulenia tkanki zębowej przed borowaniem, następnie ubytek opracowywał i ponownie przemywał roztworem propolisu, aby zapobiec zakażeniu miazgi. Po osuszeniu ubytku ciepłym powietrzem ubytek próchnicowy wypełniał pastą biologiczną sporządzoną z eugenolu i 50% ekstraktu etanolowego z propolisu (1:1) po wymieszaniu z tlenkiem cynku jako wypełnieniem. Po tygodniu, w ramach drugiego kontaktu z chorym,



Ryc. 5. Znieczulanie miejscowe ubytków próchnicowych za pomocą 4% ekstraktu etanolowego z propolisu (wg 18). 1 – Ogólna liczba chorych, 2 – wysoki stopień znieczulenia ubytków próchnicowych, 3 – częściowe znieczulenie, 4 – brak znieczulenia.

tymczasowy opatrunek był częściowo odborowywany i po uformowaniu podkładki ubytek próchnicowy był ostatecznie wypełniany. Autor (19) podaje, że przy wielokrotnym smarowaniu ubytku próchnicowego za pomocą 50% ekstraktu etanolowego z propolisu, zarówno usuwanie martwych tkanek zęba, jak i formowanie ubytku i ozębnej, staje się bezbolesne. Ponadto ekstrakt propolisowy zabarwia martwą ozębną na żółto, co jest wskazaniem dla lekarza dentysty, gdzie należy jeszcze wykonać opracowanie ubytku próchniczego. Dlatego należy uznać propolis jako środek leczniczy przydatny w leczeniu próchnicy, szczególnie próchnicy głębokiej zębów mlecznych.

Scheller i wsp. (20) stosowali ekstrakty etanolowe z propolisu w postaci tamponów do leczenia próchnicy zębów średniej oraz głębokiej. Na 150 leczonych przypadków pełne wyleczenie osiągnięto u 98 osób (65,3%). Badania obejmowały także przypadki zmian próchnicznych okołoszczytowych oraz zgorzeli zębów jednokorzeniowych. Na ogólną liczbę 21 pacjentów wyleczenie uzyskano w 10 przypadkach (47,6%), a wyraźną poprawę obserwowano w 7 dalszych przypadkach (33,3%).

W badaniach prowadzonych przez Ilewicza i wsp. (21) 3% roztwór etanolowo-glicerynowy propolisu stosowano do opracowywania i kształtowania ubytków próchnicowych. Roztwór propolisowy wcierano w twarde tkanki zęba, ręcznie lub za pomocą borowania, celem ich znieczulenia. Efekt taki zwykle osiągnano po 3-4 minutach wcierania roztworu propolisowego w ściany i dno ubytku. W przypadku braku działania znieczulającego opracowywany ubytek wypełniano fletcherem z dodatkiem roztworu propolisowego. Po 24 godz. po usunięciu opatrunku i ponownym wtarceniu roztworu propolisowego w ściany i dno ubytku, jego oczyszczanie i formowanie było zazwyczaj bezbolesne.

W podsumowaniu autorzy (21) stwierdzają, że większy odsetek przypadków pełnego znieczulenia uzyskiwano w przypadkach próchnicy zębów średniej i głębokiej niż powierzchniowej. Poza tym efekt pełnego znieczulenia zęba obserwowano u osób młodych, u których komora miazgowa i szerokie kanaliki zębinowe, a także słabiej zmineralizowana zębina, ułatwiają penetrację ekstraktu etanolowego z propolisu w porównaniu do osób starszych.

Piśmiennictwo

1. Samaranyake LP. Podstawy mikrobiologii dla stomatologów. Wyd Lek PZWL, Warszawa 2004; 237-56.
2. Koo H, Rosalen PL, Cury JA i wsp. Effect of a new variety of *Apis mellifera* propolis on mutans streptococci. *Curr Microbiol* 200; 41:192-6.
3. Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL i wsp. *In vitro* and *in vivo* effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *J Ethnopharmacol* 2005; 101:110-5.
4. Kim MJ, Kim CS, Kim B-H i wsp. Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutans streptococci isolated from Koreans. *J Microbiol* 2011; 49: 161-4.
5. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25:347-51.
6. Koo H, Gomes BPFA, Rosalen PL i wsp. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and *Arnica montana* against oral pathogens. *Arch Oral Biol* 2000; 45:141-8.
7. Koo H, Rosalen PL, Cury JA i wsp. Effect of a new variety of *Apis mellifera* propolis on mutans streptococci. *Curr Microbiol* 2000; 41:192-6.
8. Koo H, Vacca-Smith AM, Bowen WH i wsp. Effects of *Apis mellifera* propolis on the activities of streptococcal glucosyltransferases in solution and adsorbed on to saliva-coated hydroxyapatite. *Caries Res* 2000; 34:418-26.
9. Duarte S, Koo H, Bowen WH i wsp. Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:527-31.
10. Koo H, Rosalen PL, Cury JA i wsp. Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1302-9.
11. Koo H, Rosalen PL, Cury JA i wsp. Effect of *Apis mellifera* propolis from two Brazilian regions on caries development in desalivated rats. *Caries Res* 1999; 33: 393-400.
12. Duarte S., Rosalen P, Hayacibara MF i wsp. The influence of a novel propolis on mutans streptococci biofilms and caries development in rats. *Arch Oral Biol* 2006; 51:15-22.
13. Schmidt H, Hempel C-M, Schmidt G i wsp. Doppelblindversuch über den Einfluss eines propolisaltigen Mundwassers auf die entzündete und gesunde Gingiva. *Stomatol DDR* 1980; 30:491-7.
14. Poppe B, Michaelis H. Ergebnisse einer zweimal Ehrlich kontrollierten Mundhygieneaktion mit propolisaltiger Zahnpaste (Doppelblindstudie). *Stomatol DDR* 1986; 36: 195-203.
15. Neumann D, Götze G, Binus W. Klinische Studie zur Untersuchung der Plaque- und Gingivitis-Hemmung durch Propolis. *Stomatol DDR* 1986; 36:677-81.
16. Murray MC, Worthington HV, Blinkhorn AS. A study to investigate the effect of a propolis-containing mouthrinse on the inhibition of de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 1997; 24:796-8.
17. Koo H, Cury JA, Rosalen PL i wsp. Effect of mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Res* 2002; 36:445-8.
18. Danilewskij NF, Frankowskaja SI, Flis ZA i wsp. Propolis und ihre Anwendung in der Stomatologie. *Probl Stomatol (Kiew)* 1960; Nr 5:422-3.
19. Vljakov M. Naszijat opit s pचे-

len klej pri lecenieto na d'lbokija karies na wremienite z'bi. Stomatologija (Sofia) 1969; Nr 5:394-7. **20.** Scheller S, Stojko A, Szwarnowiecka I i wsp. Przeciwbakteryjne właściwości kitu pszczelego. Now Wet 1978; 8:73-6. **21.** Ilewicz L, Scheller S,

Chróściel H i wsp. Dalsze próby zastosowania etanolowego ekstraktu propolisu (EEP) w leczeniu niektórych chorób zębów i błony śluzowej jamy ustnej. Czas Stomat 1982; 35:749-53.

otrzymano/received: 13.04.2011
zaakceptowano/accepted: 21.04.2011

Adres/address:
*prof. dr hab. Bogdan Kędzia
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
Zakład Farmakologii i Biologii Doświadczalnej
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel.: (61) 665-95-50, fax: 665-95-51
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl