

# Toksyczność i działanie alergizujące propolisu

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

## TOXICITY AND SENSITIZING ACTIVITY OF PROPOLIS

### SUMMARY

*The acute and chronic toxicity, the primary irritative activity, the sensitizing activity and the substances with sensitizing activity also the occurring of propolis allergy by health and ill people have been discussed. It could be stated that the contact allergy caused by propolis occurs rarely by health people, while by people with skin diseases is avoidable after doctor's interview, by discontinuation of propolis use or by concurrent use of propolis and antiallergic remedies. The high amount of people healed with propolis preparations show that the benefit assessment of propolis use is not comparable with risk assesment. It should added, that the propolis allergy after internal application practically not exist.*

**KEY WORDS:** PROPOLIS – TOXICITY – SENSITIZING ACTIVITY – ALLERGIES

## Toksyczność

### Toksyczność ostra

Toksyczność ostrą określa się po jednorazowym podaniu badanej substancji w dawce, która powoduje śmierć 50% zwierząt doświadczalnych. Stąd jej nazwa LD<sub>50</sub> (*lethal dosis*). Jako zwierzęta doświadczalne używa się do tego celu najczęściej myszy, szczury i króliki. Substancje podaje się drogą pokarmową (sondą do żołądka), dootrzewnowo, podskórnie lub dożylnie, zależnie od drogi podania jej w postaci leczniczej.

Toksyczność ostra (LD<sub>50</sub>) ekstraktów propolisowych nie została do tej pory dość dokładnie określona. Najlepiej została poznana LD<sub>50</sub> ekstraktów etanolowych z propolisu. Z danych zebranych w tabeli 1 wynika, że po podaniu drogą pokarmową LD<sub>50</sub> dla myszy wynosi od 700 do powyżej 2000 mg/kg m.c.

Poza tym określono toksyczność ostrą ekstraktu eterowego z propolisu, który podawano drogą pokarmową myszom. Jego LD<sub>50</sub> określono na 700 mg/kg m.c. (1). Lebeda (9) oznaczył toksyczność ostrą surowego propolisu na szczurach, świnkach morskich i psach. Wartość LD<sub>50</sub> po podaniu surowego propolisu świnkom morskim wynosiła powyżej 10 000 mg/kg m.c. Natomiast wartość LD<sub>50</sub> dla szczurów i psów, przy tej samej drodze podania, wynosiła powyżej 15 000 mg/kg m.c.

Tichonow i wsp. (10) określili także toksyczność ostrą fenolowego hydrofobowego ekstraktu z propolisu (ekstrakcja propolisu rozdrobnionego w temp. -196°C za pomocą 80% etanolu). Wartość LD<sub>50</sub> fenolowego hydrofobowego ekstraktu z propolisu, po podaniu drogą pokarmową szczurom, wynosiła 6875 mg/kg m.c.

Na podstawie przedstawionych powyżej danych można wnioskować, że ekstrakty propolisowe w świetle klasyfikacji Hodge'a i Sternera (cyt. za 11) mieszczą się w granicach stopni toksyczności 4-7 (LD<sub>50</sub> po podaniu drogą pokarmową szczurom mieści się w granicach od 500 do powyżej 15 000 mg/kg m.c.) (tab. 2). A zatem ekstrakty te można zakwalifikować od średnio toksycznych, poprzez słabo toksyczne, praktycznie nietoksyczne, do stosunkowo nietoksycznych, z przewagą trzech ostatnich określić.

### Toksyczność przewlekła

Toksyczność przewlekłą określa się na drodze podawania zwierzętom doświadczalnym substancji odpowiednio mniejszej od dawki LD50, najczęściej 1/10 dawki LD50, przez długi okres czasu, zwykle przez 30-90 dni. Po tym czasie ocenia się działanie substancji na zwierzęta pod kątem ich śmiertelności, zachowania, wyglądu, badań biochemicznych i morfotycznych krwi oraz stanu patomorfologicznego narządów wewnętrznych. Niekiedy podaje się zwierzętom doświadczalnym wielokrotność dawki efektywnej

**Tabela 1.** Toksyczność ostra (LD<sub>50</sub>) ekstraktów etanolowych z propolisu określana drogą pokarmową na różnych zwierzętach doświadczalnych w świetle danych piśmiennictwa.

Autorzy publikacji	Zwierzęta doświadczalne	LD <sub>50</sub> (mg/kg m.c.)
Prokopowicz (1)	myszy	700
Dobrowolski i wsp. (2)	myszy	>2000
Park i wsp. (3)	myszy	<2000
Fu i wsp. (4)	myszy	>2000
Hrytsenko i wsp. (5)	szczury	2050
Goetz (6)	szczury	> 15000
Kędzia i wsp. (7)	szczury	>15000
Arvouet-Grand (8)	króliki	>7340

**Tabela 2.** Klasyfikacja toksyczności wg Hodge'a i Sternera (cyt. za 11).

Stopień toksyczności	Określenie toksyczności substancji	LD <sub>50</sub> (mg/kg m.c.) po podaniu drogą pokarmową szczurom
3	bardzo toksyczna	50
4	średnio toksyczna	500
5	słabo toksyczna	5000
6	praktycznie nietoksyczna	15000
7	stosunkowo nietoksyczna	>15000

(ED<sub>50</sub>), tj. dawki, która u 50% zwierząt wywołuje działanie farmakologiczne.

W jednym z pierwszych badań tego rodzaju Todoro i wsp. (12) podawali długotrwale ekstrakt wodny z propolisu myszom drogą dootrzewnową i podskórną w dawce 5 ml/kg m.c. (ok. 500 mg/kg m.c.). Nie wpłynęło to na ogólny stan zwierząt. Natomiast podawanie młodym szczurom drogą pokarmową tego ekstraktu w ilości 1 ml/kg m.c. (ok. 100 mg/kg m.c.) raz dziennie przez okres 30 dni spowodowało niewielki przyrost masy ciała, a także wzrost liczby krwinek czerwonych i zawartości hemoglobiny we krwi w porównaniu do zwierząt kontrolnych.

Z badań Bekemeiera i wsp. (13) wynika, że ekstrakt etanolowy z propolisu podawany szczurom drogą pokarmową w dawce 1000 mg/kg m.c. przez 28 dni nie wpływał na masę ciała, na stan narządów wewnętrznych (wątroby, nerek, śledziony i nadnerczy), liczbę krwinek białych i czerwonych oraz zawartość hemoglobiny we krwi, a także na aktywność transaminazy asparaginianowej i fosfatazy alkalicznej, poziom glukozy i kreatyniny w surowicy krwi w porównaniu do zwierząt kontrolnych.

Według Olinescu i wsp. (14) podawanie przez 5 dni ekstraktu etanolowego z propolisu drogą dootrzewnową w dawce 1000 mg/kg m.c. nie powodowało uszkodzenia komórek i lizosomów komórkowych. Obserwowano natomiast obniżenie poziomu triglicerydów oraz  $\alpha$ - i  $\beta$ -globulin w surowicy krwi. W homogenatach wątroby stwierdzono wzrost aktywności reduktazy cytochromu C, transferazy glutationowej, hydratazy epoksydowej i oksygenazy tryptofanowej. W surowicy krwi ujawniono niewielki wzrost poziomu bilirubiny sugerujący, że ekstrakt etanolowy z propolisu wydalany jest z organizmu zwierząt głównie z żółcią.

Badania Ghiurcea i wsp. (15, 16) wskazują, że podawanie szczurom ekstraktu etanolowego z propolisu drogą pokarmową w dawce 1500 mg/kg m.c. przez 90 dni prowadziło do nieznacznych zmian w grasicy. W pierwszym okresie podawania ekstraktu zawartość białek, kwasów nukleinowych i glikogenu w grasicy ulegała wyraźnemu zróżnicowaniu, jednak

już po 20 dniach następowała normalizacja procesów biochemicznych i po 60 dniach poziom wymienionych substancji w grasicy powracał do wartości wyjściowych. Natomiast zawartość kwasu askorbinowego w nadnerczach utrzymywała się przez cały okres badań na jednakowym poziomie.

Ikeno i wsp. (17) podawali ekstrakt etanolowy z propolisu szczurom w wodzie do picia w ilości 1 mg/ml przez 63 dni. Przy założeniu, że zwierzęta te wypijają dziennie ilość wody odpowiadającej 10% ich masy ciała, wyliczono, że szczur o masie 150 g wypijał dziennie 150 mg ekstraktu etanolowego z propolisu zawieszonego w wodzie, tj. 1000 mg/kg m.c. dziennie. Po zakończeniu badań nie stwierdzono działania toksycznego ekstraktu propolisowego na zwierzęta. Wszystkie szczury przeżyły. W ich organizmach nie ujawniono żadnych różnic w poziomie glukozy i amylazy w surowicy krwi, trzustce, śliniankach przyusznych i w wątrobie w odniesieniu do zwierząt kontrolnych.

Hollands i wsp. (18) w jednym z eksperymentów podawali ekstrakt etanolowy z propolisu myszom w wodzie do picia w dawce wynoszącej 4600 mg/kg m.c. dziennie przez 90 dni. W badaniach nie stwierdzono różnic w zachowaniu się zwierząt, ich masie ciała, wydalaniu moczu, a także w poziomie glukozy i cholesterolu w porównaniu do zwierząt kontrolnych. W innym doświadczeniu myszom podawano w wodzie do picia ekstrakt etanolowy z propolisu w ilości 6 mg/ml. Zwierzęta otrzymywały tą drogą ekstrakt etanolowy w ilości 1400 mg/kg m.c. dziennie przez 14 i 90 dni. Po zakończeniu badań w surowicy krwi zwierząt nie stwierdzono różnic w poziomie mocznika w odniesieniu do zwierząt kontrolnych. Nie odnotowano także żadnych odchyśleń od normy narządów wewnętrznych po wykonaniu badań histomorfologicznych. Na tej podstawie przyjęto, że dawka 1400 mg/kg m.c./dzień jest dla tych zwierząt dawką bezpieczną (terapeutyczną).

Kaneeda i Nishina (19) podawali ekstrakty etanolowe z propolisu brazylijskiego i chińskiego jako dodatek do paszy 5-tygodniowym myszom w dawkach 2230 i 4000 mg/kg m.c. dziennie. Po 2 tyg. doświadczenia nie odnotowano śmierci żadnego ze zwierząt.

Ich masa ciała wzrastała normalnie. Nie stwierdzono żadnych odchyśleń od normy badanych sekcyjnie narządów wewnętrznych.

De Castro i Higashi (20) podawali ekstrakt etanolowy z propolisu w ilości od 200 do 1220 mg/kg m.c. myszom drogą pokarmową raz dziennie przez 7-10 dni. Nie zauważyli oni żadnego niekorzystnego wpływu ekstraktu propolisowego na zwierzęta doświadczalne. Podobnie zachowywały się zwierzęta, którym w wodzie do picia podawano przez dłuższy czas ekstrakt etanolowy z propolisu w dawkach 1600, 2500, 4000 i 5000 mg/kg m.c. dziennie.

Obszerne badania nad toksycznością przewlekłą fenolowego hydrofobowego ekstraktu z propolisu (ekstrakcja rozdrobnionego w temp.  $-196^{\circ}\text{C}$  propolisu za pomocą 80% etanolu) przeprowadzili Tichonow i wsp. (21). Badany ekstrakt propolisowy podawali oni 80 dorosłym szczurom obojga płci (40 samców i 40 samic). Zwierzęta podzielono na 4 grupy po 10 osobników każda. Pierwsza grupa stanowiła grupę kontrolną. Zwierzęta drugiej grupy otrzymywały drogą pokarmową ekstrakt w dawce  $2,5 \text{ ED}_{50}$  (25 mg/kg m.c.), trzeciej grupy ekstrakt w dawce  $10 \text{ ED}_{50}$  (100 mg/kg m.c.) i czwartej grupy otrzymywały ekstrakt w dawce  $25 \text{ ED}_{50}$  (250 mg/kg m.c.). Druga i trzecia grupa otrzymywała fenolowy hydrofobowy ekstrakt z propolisu przez 12 miesięcy, czwarta przez 6 miesięcy.

W trakcie badań nie odnotowano żadnego padnięcia zwierząt. Ich masa zarówno w grupie kontrolnej, jak i w grupach doświadczalnych, wzrastała jednakowo. Funkcja oddechowa u zwierząt obojga płci nie uległa zmianie, podobnie jak częstotliwość oddechu. Reakcje zwierząt na bodźce zewnętrzne były we wszystkich grupach jednakowe. Nie stwierdzono także różnic we wskaźnikach ośrodkowego układu nerwowego.

Analiza danych EKG wykazała, że u zwierząt wszystkich grup badanych, częstotliwość skurczów serca i jego amplitudy były jednakowe. Rytm serca we wszystkich przypadkach określono jako zatokowy; zdolność skurczowa przedsionków i komór pozostawała w normie, podobnie jak wieńcowy przepływ krwi. Nie stwierdzono zmian w układzie przewodnictwa.

We wszystkich grupach zwierząt doświadczalnych liczba krwinek czerwonych oraz zawartość hemoglobiny we krwi była jednakowa. Czas krzepnięcia krwi pozostawał w granicach norm fizjologicznych. Liczba białych krwinek w grupach zwierząt, otrzymujących ekstrakt propolisowy wykazywała tendencję malejącą w porównaniu z grupą kontrolną. Nie odnotowano jednak znacznej różnicy w odniesieniu do wskaźników

początkowych. Skład biochemiczny krwi odpowiadał normom sezonowym, danym kontrolnym i wskaźnikom początkowym.

Aktywność enzymów obecnych w surowicy krwi, świadczących o procesach cytolizy w tkance wątrobowej (aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej) pozostawała w trakcie całego czasu badań w granicach normy. Świadczy to o braku zmian martwiczych w wątrobie, mięśniu sercowym i mięśniach szkieletowych zwierząt otrzymujących przez długi czas fenolowy hydrofobowy ekstrakt z propolisu.

W trakcie doświadczenia nie stwierdzono zmian w funkcji nerek. Diureza utrzymywała się w normie. Zawartość białka w moczu odpowiadała normom fizjologicznym. Nie stwierdzono obecności ciał ketonowych i bilirubiny. Glukoza i urobilinogen utrzymywały się w granicach normy.

Ogłędziny narządów wewnętrznych i badania histologiczne nie ujawniły zmian patologicznych: mózgu, tkanki płucnej, wątroby, śledziony, jąder, jajników, macicy, nerek, nadnerczy, żołądka, jelit i serca.

Badania patomorfologiczne prowadzone w kierunku stwierdzenia ewentualnej przewlekłej toksyczności fenolowego hydrofobowego wyciągu z propolisu udowodniły, że preparat jest nietoksyczny.

Stwierdzono, że wszystkie zwierzęta poddane doświadczeniu dobrze znosiły oddziaływanie ekstraktu propolisowego podawanego przez 12 miesięcy w dawkach  $2,5$  i  $10 \text{ ED}_{50}$  oraz przez 6 miesięcy w dawce  $25 \text{ ED}_{50}$ .

Identyczne dane otrzymano w przypadku podawania fenolowego hydrofobowego ekstraktu z propolisu w tych samych dawkach królikom i psom.

Na tej podstawie oraz przytoczonych powyżej danych publikacyjnych można stwierdzić, że ekstrakty propolisowe są praktycznie nietoksyczne dla zwierząt i mogą służyć do sporządzania leków bezpiecznych dla człowieka.

#### *Działanie pierwotnie drażniące*

Działanie pierwotnie drażniące badanej substancji może objawiać się już po pierwszym kontakcie ze skórą lub w ciągu 10-dniowych aplikacji tej substancji na skórę zwierząt doświadczalnych. Odczyn pierwotnie drażniący (toksyczny) na skutek styczności z badaną substancją może objawiać się w postaci rumienia, obrzęku lub wzrostu ciepłoty ciała. Jako kontrolę stosuje się podłoże lub rozpuszczalnik użyty do zawieszenia lub rozpuszczania badanej substancji.

Czarnecki (22) przeprowadził badania na działanie pierwotnie drażniące maści propolisowej, zawierającej

w swym składzie ekstrakt etanolowy z propolisu (EEP) w ilości 3% oraz podłoże złożone z nasyconych i nie-nasyconych węglowodorów parafinowych, alkoholu cetylowego i cholesterolu. Badania prowadzone były na świnkach morskich. Na ogoloną i odtłuszczoną etanolem skórę lewego lub prawego boku zwierzęcia o powierzchni 5 x 5 cm nakładano 0,5 g maści codziennie przez 10 kolejnych dni. Maści nie rozsmarowywano, na miejsce aplikacji nakładano luźny opatrunek z jałowej gazy i celofanu.

Doświadczenia wykazały, że maść zawierająca 3% EEP w trakcie kontaktu ze skórą świnek morskich nie powodowała odczynu toksycznego (rumień, obrzęk, wzrost ciepłoty) zarówno po pierwszej aplikacji, jak i po 10-dniowym okresie badań. Stosowane podłoże również nie wykazało żadnego działania pierwotnie drażniącego (toksycznego).

Badania przeprowadzone przez Katedrę i Zakład Fizjologii w Poznaniu (23) na szczurach wykazały, że doodbytnicze podawanie czopków zawierających 3% EEP nie powodowało działania pierwotnie drażniącego. Szczurom poprzez aplikator podawano doodbytniczo czopki zawierające 3% EEP w ilości 0,2 g. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały w taki sam sposób podłoże czopkowe. Aplikacje prowadzono codziennie przez 10 dni.

Po zakończeniu badań od zwierząt wypreparowywano końcowy odcinek jelita grubego wraz z odbytnicą o długości 5 cm. Badania sekcyjne nie wykazały żadnych zmian morfologicznych końcowego odcinka jelita szczurów pochodzącego zarówno od zwierząt otrzymujących czopki z 3% EEP, jak i podłoże czopkowe. Tym samym nie stwierdzono działania pierwotnie drażniącego 3% EEP na błony śluzowe odbytu u badanych zwierząt doświadczalnych.

Kędzia i wsp. (24) zaobserwowali, że aktywność przeciwapalna 10% ekstraktu etanolowego z propolisu w odniesieniu do obrzęku łapy szczura wywołanego karageniną nie we wszystkich przypadkach daje wartości dodatnie. Na 9 przebadanych próbek EEP, w 7 przypadkach hamowanie obrzęku łapy szczura mieściło się w granicach 6-55%. Jednak w 2 przypadkach zauważono zamiast hamowania, wzrost obrzęku łapy szczura, odpowiednio o 7 i 60%. Zdaniem autorów świadczy to o pierwotnym drażniącym działaniu EEP. A zatem badania wykazały wśród 9 ocenianych próbek, 2 próbki (22,2%) o wyraźnym działaniu miejscowo drażniącym.

Ledön i wsp. (25) określali działanie pierwotnie drażniące ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na skórę świnek morskich oraz błonę śluzową oka królików. Po usunięciu sierści okolicy grzbietowej po jednej stronie skórę pozostawiano w stanie nie-

zmienionym, a po drugiej stronie jej powierzchnię uszkadzano. Następnie na skórę nakładano EEP w postaci 50% roztworu w 70 % etanolu i okrywano ją opatrunkiem z gazy. Podobnie postępowano z królikami, zakraplając im do zdrowego i podrażnionego mechanicznie oka roztwór EEP. Skutki działania EEP oceniano po 1, 2 i 3 dniach doświadczenia.

Badania wykazały, że 50% roztwór EEP w 70% etanolu nie wykazywał działania na nieuszkodzoną skórę świnek morskich, natomiast w przypadku uszkodzonej skóry we wszystkich przypadkach powodował pierwotne działanie drażniące. Podobnie działał w przypadku podrażnionych oczu królików. W przypadku niepodrażnionych oczu działania toksycznego EEP nie obserwowano. Działania takiego nie wykazywał również sam rozpuszczalnik (70% etanol) kiedy stosowano go na skórę świnek morskich (uszkodzonych i nieuszkodzonych), jak i do oka królików (podrażnionych mechanicznie i niepodrażnionych). Stąd wniosek, że badany roztwór EEP nie wykazywał działania pierwotnie drażniącego w przypadku nieuszkodzonej skóry świnek morskich i niepodrażnionych mechanicznie oczu królików.

Podsumowując powyżej zaprezentowane badania można dojść do wniosku, że ekstrakty propolisowe nie powodują działania pierwotnie drażniącego jeśli mają kontakt z nieuszkodzoną skórą lub błonami śluzowymi. Natomiast kontakt ekstraktów propolisowych ze skórą uszkodzoną lub podrażnionymi błonami śluzowymi, szczególnie w dużych stężeniach (10-50% EEP) może powodować działanie pierwotnie drażniące u zwierząt doświadczalnych.

## **Działanie alergizujące (uczulające) propolisu**

### *Działanie alergizujące*

Ekstrakty propolisowe mogą powodować działanie alergizujące, nazywane inaczej działaniem uczulającym. Jest to zdolność do wywoływania alergii kontaktowej typu późnego, gdzie antygenem wywołującym tę reakcję jest ekstrakt propolisowy.

Wykrywanie działania alergizującego ekstraktów propolisowych na zwierzęta doświadczalne polega na stosowaniu na ogoloną i odtłuszczoną skórę tych zwierząt określonej ilości badanej substancji przez 8-10 kolejnych dni, a następnie po 15-24 dniach wywołanie odczynu alergicznego za pomocą tej samej substancji w stężeniu 10-krotnie mniejszym od stosowanego uprzednio. Jeśli w miejscu zastosowanej substancji wywołującej pojawi się rumień, naciek, pęcherzyki z płynem wysiękowym lub martwica w czasie 24-72

godz., to przyjmuje się, że wykazuje ona działanie alergizujące.

Jako pierwszy o działaniu alergizującym ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) doniósł Petersen (1977). Stosował on u świnek morskich iniekcje i aplikacje miejscowe z EEP. W ogoloną skórę grzbietu świnek morskich wstrzykiwał 5% roztwór EEP w glikolu propylenowym, a także stosował miejscowo 50% roztwór EEP w etanolu. Dawkę wywołującą autor podawał po 24 dniach. Jako kontrolę działania alergizującego stosowano dinitrochlorobenzen (DNCB).

Badania wykazały, że na DNCB zareagowało pozytywnie 100% badanych zwierząt, natomiast na EEP zareagowało 19 z 25 badanych zwierząt (76%). Na rozpuszczalniki (glikol propylenowy i etanol) nie zareagowała alergicznie żadna z badanych świnek morskich.

Hausen i wsp. (27) badali działanie alergizujące ekstraktu acetonowego z propolisu (AEP) połączone z pełnym adjuwantem Freund'a (wzmagającego wytwarzanie przeciwciał przez organizm) (FCA). FCA zawierający 30 mg AEP podawano świnkom morskim 1, 5 i 9 dnia w postaci iniekcji śródskórnej w ogoloną skórę boku zwierzęcia. Po 11 dniach od ostatniego podania FCA i AEP, w ogolony bok świnki morskiej podawano 0,3 mg AEP jako dawkę wywołującą reakcję alergiczną. Efekty reakcji odczytywano przez 3 kolejne dni, określając jej intensywność. Badania wykazały, że reakcja alergiczna wystąpiła u wszystkich zwierząt uczulonych na AEP, przy czym po wywołaniu reakcji alergicznej przez 10% AEP była ona o 50% silniejsza niż w przypadku wywołania jej przez 0,1% AEP. Stąd wniosek, że siła reakcji alergicznej w dużym stopniu zależy od stężenia ekstraktu propolisowego.

Czarnecki (28) badał działanie alergizujące 3% ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) w postaci maści. Na ogoloną i odtłuszczoną skórę prawego boku świnki morskiej (o powierzchni 5 x 5 cm) nakładano 0,1g maści z 3% EEP przez 8 kolejnych dni. Po 15 dniach na przeciwległym boku nanoszono dawkę wywołującą maści w ilości 0,01g. Na aplikacje z maści propolisowej nakładano luźny opatrunek z gazy. Jako kontrolę zastosowano test skórny z DNCB.

Z przeprowadzonych badań wynika, że 3% maść z propolisem jako potencjalnym antygenem, nie spowodowała odczynu alergicznego. Zwierzęta otrzymujące podłoże maściowe również nie zareagowały pozytywnie. Natomiast pod wpływem silnego bodźca antygenowego, jakim jest DNCB, stwierdzono na skórze świnek morskich powstanie plamy rumieniowej,

której powierzchnia po 24 godz. wynosiła średnio 157,7 mm<sup>2</sup>. A zatem maść z zawartością 3% EEP zastosowana na niezmienioną skórę nie spowodowała odczynu alergicznego o charakterze nadwrażliwości typu późnego.

Ledōn i wsp. (29) oceniali alergiczne działanie 5, 10 i 15% ekstraktów etanolowych z propolisu w postaci maści na ogoloną skórę karku świnek morskich. Maści nanoszono na skórę codziennie przez 10 dni pod luźny opatrunek z gazy. Następnie po 21 dniach na wolną od zabiegów skórę przenoszono 1/10 ilości badanych maści i określano pojawianie się zmian alergicznych w ciągu 72 godz.

Stwierdzono, że wszystkie stężenia maści z EEP wywoływały odczyny alergiczne, jednak stopień ich intensywności był największy przy stosowaniu maści z 15% EEP, słabszy z 10% EEP i najslabszy w przypadku stosowania maści z 5% EEP. W porównaniu do maści zawierającej 15% EEP, maść zawierająca 5% EEP dawała reakcję alergiczną prawie o połowę słabszą.

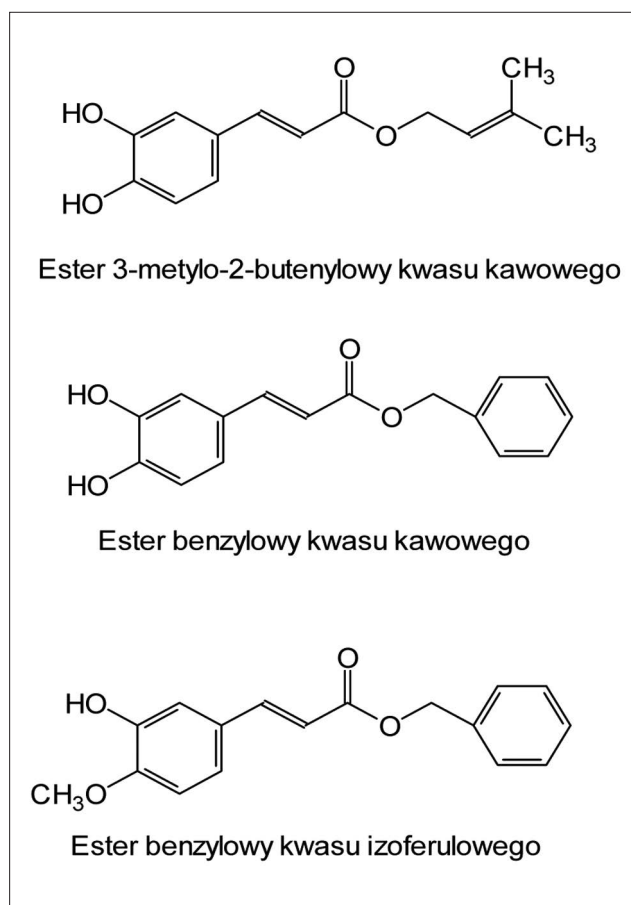
Z przedstawionych powyżej badań można wyciągnąć wniosek, że maści zawierające w swoim składzie ekstrakt etanolowy często wywołują reakcje alergiczne typu późnego u zwierząt doświadczalnych. Zauważono, że wyższe stężenia ekstraktów etanolowych dają silniejsze reakcje alergiczne w porównaniu do niższych stężeń tych ekstraktów w aplikacjach naskórnych stosowanych u zwierząt doświadczalnych.

### *Substancje o działaniu alergizującym*

Hausen i wsp. (30) przebadali na świnkach morskich kilkadziesiąt substancji występujących w ekstraktach propolisowych w celu określenia, które z nich mają właściwości wywoływania reakcji alergicznych. Badania prowadzono z użyciem pełnego adjuwantu Freund'a, jak to opisano powyżej. Wywoływanie reakcji alergicznej prowadzono za pomocą badanych składników w stężeniach 0,1, 1,0 i 10,0%. Na tej podstawie określano stopień alergizacji, który był ilorazem sumy wszystkich reakcji alergicznych i liczby badanych zwierząt (31).

Na podstawie tych badań ustalono 3 grupy substancji o działaniu alergizującym, które występują w ekstraktach propolisowych. Do pierwszej grupy zaliczono składniki propolisu o silnych właściwościach alergizujących, do drugiej grupy składniki o średniej sile alergizującej i do 3 grupy składniki o słabym działaniu alergizującym.

W tabeli 3 zebrano składniki ekstraktów propolisowych o silnych właściwościach alergizujących. W skład tej grupy weszły takie substancje, jak ester 3-metylo-2-butenylowy kwasu kawowego, ester ben-



Ryc. 1. Składniki ekstraktów propolisowych o silnych właściwościach alergizujących (wg 30).

zyłowy kwasu kawowego i ester benzyloowy kwasu izoferulowego (ryc. 1). Stężenie tych substancji w ekstraktach propolisowych waha się od 0,1 do 16,3%. Warto dodać, że najsilniej działającą alergizującą substancją występującą w propolisie, tj. ester 2-metylo-3-butenylowy kwasu kawowego, nosi także nazwę estru 1,1-dimetyloallilowego kwasu kawowego, a wcześniej określany był symbolem LB-1 (30, 31).

Tabela 4 zawiera składniki ekstraktów propolisowych o średnich właściwościach alergizujących. Zalicza się do nich: ester cynamylowy kwasu kawowego, ester fenyletylowy (fenetylowy) kwasu kawowego i ester fenyletylowy kwasu izoferulowego. Ich zawartość w ekstraktach propolisowych waha się od 0,1 do 2,6%. Wzory chemiczne omawianych związków zamieszczone zostały na rycinie 2.

Składniki ekstraktów propolisowych o słabych właściwościach alergizujących przedstawiono w tabeli 5. Poza kolejnymi ekstraktami kwasu ferulowego, izoferulowego, cynamonowego i benzoowego właściwości alergizujące przejawiają: wanilina (aldehyd metyloprotokatechowy), alkohol cynamonowy, kwas benzoowy (ryc. 3) oraz nerolidol, kwercetyna, akacetyna (ryc. 4), naryngenina i chryzyna. Ich stężenia w ekstraktach propolisowych są bardzo zróżnicowane (od 0,1 do 9,7%). Jednak ze względu na wysokie stężenie wywołujące odczyn alergiczny (10%), ich praktyczny udział w alergizowaniu organizmu jest problematyczny.

Tabela 3. Składniki ekstraktów propolisowych o silnych właściwościach alergizujących (stężenie wywołujące reakcję alergiczną: 0,1%) (wg 30).

Składniki propolisowe	Stopień alergizacji <sup>1</sup>	Stężenie w ekstrakcie (%)
Ester 3-metylo-2-butenylowy kwasu kawowego	2,23	0,1-7,1 <sup>2</sup>
Ester benzyloowy kwasu kawowego	1,87	0,2-16,3
Ester benzyloowy kwasu izoferulowego	1,20	0,1-0,7

<sup>1</sup>Iloraz sumy wszystkich reakcji alergicznych i liczby badanych zwierząt po wywołaniu reakcji alergicznej przy użyciu 0,1% składników propolisowych.

<sup>2</sup>Zawartość tego związku w krajowych nalewkach propolisowych wynosi od 0,17 do 1,08% (32).

Tabela 4. Składniki ekstraktów propolisowych o średnich właściwościach alergizujących (stężenie wywołujące reakcję alergiczną: 1,0%) (wg 30).

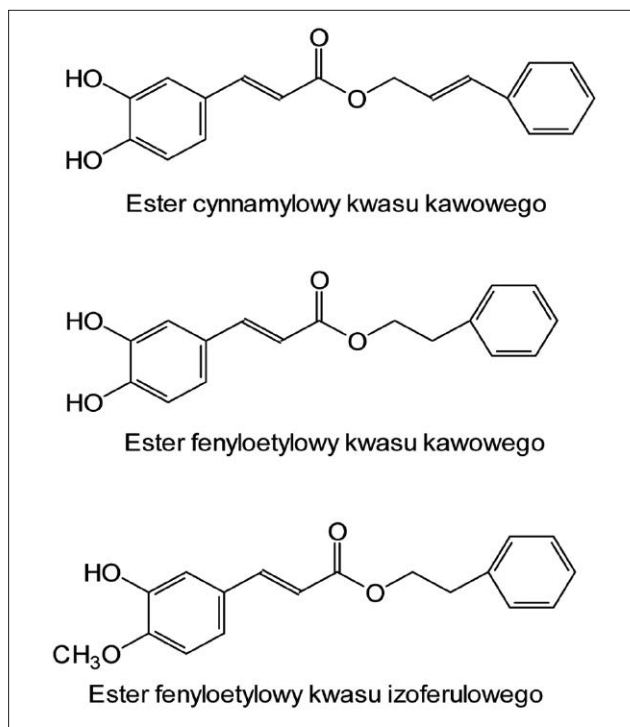
Składniki propolisowe	Stopień alergizacji <sup>1</sup>	Stężenie w ekstrakcie (%)
Ester cynamylowy kwasu kawowego	1,48	0,1-1,7
Ester fenyletylowy kwasu kawowego	1,26	0,4-2,6 <sup>2</sup>
Ester fenyletylowy kwasu izoferulowego	0,81	0,1-0,7

<sup>1</sup>Iloraz sumy wszystkich reakcji alergicznych i liczby badanych zwierząt po wywołaniu reakcji alergicznej przy użyciu 1,0% składników propolisowych.

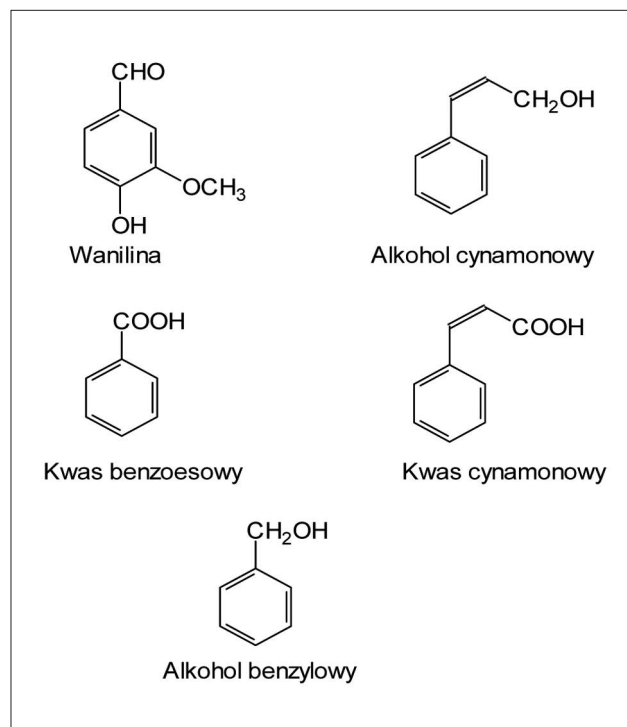
<sup>2</sup>Zawartość tego związku w krajowych nalewkach propolisowych (32).

Z przedstawionych powyżej danych wynika, że niektóre składniki propolisu przechodzące do ekstraktów mogą powodować reakcje alergiczne o charakterze nadwrażliwości typu późnego. Szczególnie dotyczy to substancji o silnych właściwościach alergizujących (wywołujących reakcję alergiczną w stężeniu 0,1%), do których zalicza się ester 3-metylo-2-

-butenyloyowy kwasu kawowego, ester benzyloyowy kwasu kawowego i ester benzyloyowy kwasu izoferulowego, a także w mniejszym stopniu substancji o średnich właściwościach alergizujących (wywołujących reakcję alergiczną w stężeniu 1,0%), takie jak ester cynnamyloyowy kwasu kawowego, ester fenyletyloyowy kwasu kawowego i ester fenyletyloyowy kwasu izoferulo-



Ryc. 2. Składniki ekstraktów propolisowych o średnich właściwościach alergizujących (wg 30).



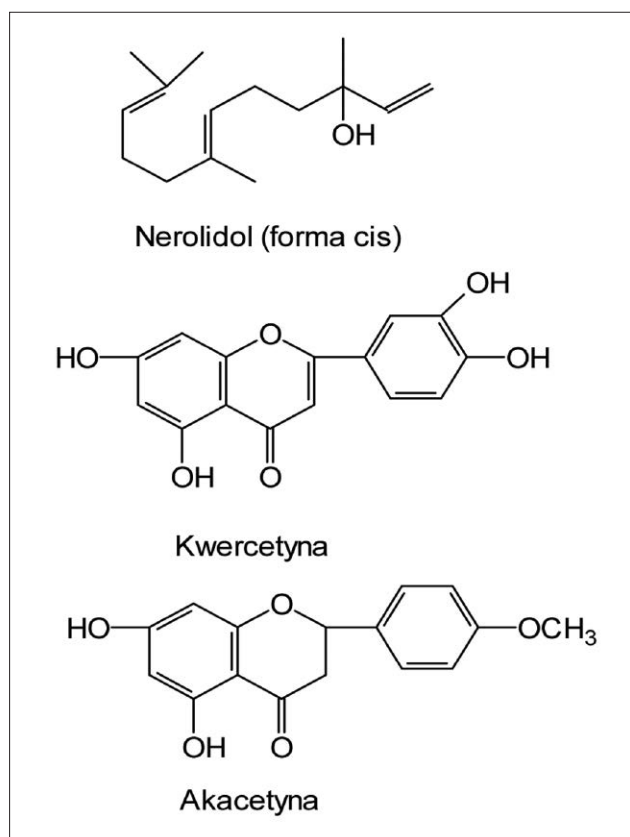
Ryc. 3. Składniki ekstraktów propolisowych o słabych właściwościach alergizujących (wg 30).

Tabela 5. Składniki ekstraktów propolisowych o słabych właściwościach alergizujących (stężenie wywołujące reakcję alergiczną: 10,0%) (wg 30).

Składniki propolisowe	Stopień alergizacji <sup>1</sup>	Stężenie w ekstrakcie (%)
Wanilina	1,17	0,1-0,4
Ester benzyloyowy kwasu ferulowego	0,88	0,1-1,4
Alkohol cynamonowy	0,57	0,1-0,3
Ester cynnamyloyowy kwasu izoferulowego	0,45	0,2-1,1
Ester cynnamyloyowy kwasu cynamonowego	0,43	0,1
Ester benzyloyowy kwasu benzoesowego	0,17	0,1
Ester 3-metylo-2-butenyloyowy kwasu izoferulowego	0,32	0,6
Kwas benzoesowy	0,15	1,0-9,5
Kwas cynamonowy	0,15	0,2-9,7
Alkohol benzyloyowy	1,00	0,1-4,0
Nerolidol	0,28	0,4
Kwercetyna	0,65	2,2-10,8 <sup>2</sup>
Naryngenina	0,50	
Akacetyna	0,40	
Chryzyna	0,05	

<sup>1</sup>Iloraz sumy wszystkich reakcji alergicznych i liczby badanych zwierząt po wywołaniu reakcji alergicznej przy użyciu 10,0% składników propolisowych.

<sup>2</sup>Ogólna zawartość flawonoidów w ekstraktach propolisowych pochodzenia krajowego w przeliczeniu na kwercetynę (wg 32).



Ryc. 4. Składniki ekstraktów propolisowych o słabych właściwościach alergizujących (wg 30).

wego. Stąd istnieje możliwość powstawania reakcji alergicznych po miejscowym stosowaniu ekstraktów propolisowych także u ludzi.

#### Uczulenie na propolis u ludzi zdrowych i chorych

Z zaprezentowanego piśmiennictwa wynika, że inaczej na miejscowe preparaty propolisowe reagują ludzie zdrowi i inaczej ludzie chorzy przebywający na oddziałach dermatologicznych.

Badania wykazały, że u ludzi zdrowych kontakt z miejscowymi preparatami propolisowymi (maści, balsamy, czopki) powoduje zaledwie 0,84% reakcji uczuleniowych (tab. 6). Natomiast uczulenie na preparaty propolisowe u pacjentów oddziałów dermatologicznych wynosiło 2,44% (tab. 7), a zatem było ono prawie 3-krotnie wyższe.

Dobrym przykładem stopnia uczuleń ludzi chorych na preparaty propolisowe jest ginekologia i położnictwo. Badania kliniczne (w liczbie 13) wykonane w latach 1965-2000 wskazują, że na ogólną liczbę 896 kobiet leczonych różnymi formami preparatów propolisowych tylko 16 z nich (1,8%) doznało uczuleń. Terapia wymienionymi preparatami propolisowymi pozwoliła natomiast na wyleczenie lub wyraźną poprawę 88,9% z nich. To oznacza, że wskaźnik wyleczenia lub wyraźnej poprawy ich stanu zdrowia był bardzo wysoki.

Tabela 6. Uczulenie na miejscowe preparaty propolisowe u ludzi zdrowych.

Piśmiennictwo	Liczba badanych osób*	Osoby uczulone	
		liczba	procent
Hegy i wsp. (30)	1558	10	0,64
Wöhrl i wsp (34)	2660	7	0,26
Schnuch i wsp. (35)	1831	34	1,86
Razem	6049	51	0,84

\*Test płatkowy

Tabela 7. Uczulenie na preparaty propolisowe u pacjentów oddziałów dermatologicznych.

Piśmiennictwo	Liczba badanych osób*	Osoby uczulone	
		liczba	procent
Kacznyj (36)	2007	76	3,79
Rudzki i Grzywa (37)	852	38	4,46
Macháčková (38)	605	25	4,13
Hegy i wsp. (33)	7483	136	1,82
Rudzki i wsp. (39)	1830	33	1,80
Reduta i wsp. (40)	480	16	3,33
Razem	13.257	324	2,44

\*Test płatkowy



## Podsumowanie

W podsumowaniu można stwierdzić, że alergią kontaktowa na propolis występuje u osób zdrowych rzadko, natomiast u osób z chorobami dermatologicznymi występuje w dość ograniczonym stopniu i w większości przypadków jest do uniknięcia po przeprowadzeniu wywiadu lekarskiego, wczesnym odstawieniu stosowanego preparatu propolisowego lub równoczesnym stosowaniu propolisu i środków przeciwalergicznymi.

Wysoka liczba chorych wyleczonych preparatami propolisowymi wskazuje, że bilans korzyści stosowania tych preparatów w leczeniu jest nieporównywalnie większy od bilansu zagrożenia chorych alergią kontaktową.

Taka sama zasada dotyczy osób, które stosują preparaty propolisowe we własnym zakresie. Osoby zdrowe (nie mające chorób dermatologicznych), które stosują te preparaty na skórę i błony śluzowe w przypadku drobnych zranień i niewielkich zakażeń, są znacznie mniej narażone na uczulenie na propolis, w porównaniu do osób cierpiących na poważne i rozległe choroby dermatologiczne. W tych przypadkach powinny one wykonywać tak zwane próby uczuleniowe, polegające na wcześniejszym nałożeniu preparatu propolisowego na miejsce szczególnie wrażliwe na działanie środków uczulających (przegub dłoni, skroń, zgięcie w łokciu, błony śluzowe warg) i ocenie po upływie 1-2 godz. reakcji na preparat. Zmiany w miejscu podania preparatu (zaczerwienienie, opuchnięcie, wyprysk) wskazują na reakcję uczuleniową. W tej sytuacji preparatu propolisowego nie powinno się stosować w terapii. Brak zmian kwalifikuje preparat propolisowy do zastosowania na skórę i błony śluzowe zmienione chorobowo.

Należy również dodać, że uczulenie na propolis podawany do wewnątrz praktycznie nie istnieje.

## Piśmiennictwo

1. Prokopowicz NN. Propolis a new anaesthetic. *Wracz Delo* 1957; 10:1077-1080. *Wg Chem Abstr* 1958; 52:4032e. 2. Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharmak K i wsp. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol* 1991; 35:77-82. 3. Park E-H, Kim S-H, Park S-S. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharm Res* 1996; 19:337-41. 4. Fu J-Y, Xia Y, Zheng Y-Y. Antimutagenicity of propolis against some mutagens *in vivo* and *in vitro*. *Biomed Environment Sci* 2004; 17:469-75. 5. Hrytsenko VI, Tykhonov OI, Pryakhin OR. Study of the polysaccharide preparation propolis. *Farm Zhurn* 1977; 32:92-3. *Wg Burdock GA: Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis)*. *Food Chem Toxicol* 1998; 36:347-63. 6. Goetz P. Monographies médicales de phytothérapie. Propolis. *Rev Phytother Pratiq* 1990; 3:29-30. 7. Kędzia , Geppert B, Iwazskiewicz J. Pharmacological investigations of ethanolic extract of propolis. *Rev Phytother Pratiq* 1990; 3:7-10. 8. Arvouet-Grand A, Lejeune B,

Bastide P i wsp. Propolis extract. Part 6. Subacute toxicity and cutaneous primary irritation index. *J Pharm Belg* 1993; 48:165-70. *Wg Int Pharm Abstr* 1993; 31:687. 9. Lebeda D. Examination of acute toxicity of propolis. III Intern Symp Apitherapy, Portorož (Słowenia) 1978; 64. 10. Tichonow AI, Jarnych TG, Czernych WP i wsp. Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatów propolisowych. *Wyd Apipol-Farma, Myślenice* 2006; 208-16. 11. Seńczuk W. (red): Toksykologia. *Wyd Lek PZWL, Warszawa* 1994; 172. 12. Todorov V, Drenovski S, Vasiliev V. K'm farmakodinamiata na propolisa. *Farmacija (Sofia)* 1968; 5:23-31. 13. Bekemeier H, Braun W, Friedrich E i wsp. Mikrobiologische, Pharmakologische und Klinische Untersuchungen zur Wirksamkeit von Propolis. *Derm Mschr* 1973; 159:443-9. 14. Olinescu R, Gidoin T, Safta T i wsp. Biochemical mechanisms involved in the pharmacodynamic effect of propolis. II. Changes following the administration of single and multiple doses. *Stud Cercet Biochim* 1983; 2:166-72. *Wg Chem Abstr* 1984; 100:132108j. 15. Giurgea R, Coprean D, Popescu H i wsp. Reactia timusului și a suprarenalei la șobolanii tratati cu extract de propolis standardizat. *Clujul Med* 1982; 55:333-36. 16. Giurgea R, Coprean D, Popescu H i wsp. Modificari in timusul șobolanilor Wistar in urma tratamentului cu extract de propolis standardizat (EPS). *Clujul Med* 1984; 57:348-50. 17. Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Res* 1991; 25:347-51. 18. Hollands I, Vidal A, Gra B i wsp. Estudio evaluatiro do la toxicidad subcronica del propoleos cubano. *Rev Cubana Cienc Veter* 1991; 22:91-100. 19. Kaneeda J, Nishina T. Safety of propolis. Acute toxicity. *Honeybee Sci* 1994; 15:29-33. 20. De Castro SL, Higashi KO. Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Ethnopharmacol* 1995; 46:55-8. 21. Tichonow AI, Jarnych TG, Czernych WP i wsp. Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatów propolisowych. *Wyd Apipol-Farma, Myślenice* 2006; 208-16. 22. Czarnecki R. Farmakologia propolisu. Ocena dermatologiczna, histologiczna, cytomorfologiczna i histoenzymatyczna. Opracowanie dla firmy Apipol-Farma w Myślenicach, Kraków 1992. 23. Praca Badawcza nt. Badanie przedkliniczne czopków przeciw hemoroidom – Propolis (czopki z kitem pszczelim). Katedra i Zakład Fizjologii AM w Poznaniu, Poznań 1993. 24. Kędzia B, Jankowiak J, Mściśz A i wsp. Badania nad standaryzacją ekstraktów etanolowych z propolisu. XXXV Nauk Konf Pszczel, Puławy 1998; 33-5. 25. Ledön N, Casacó A, González R i wsp. Assessment of potential dermal and ocular toxicity and allergic properties of an extract of red propolis. *Arch Dermatol Res* 2002; 293:594-6. 26. Petersen HO. Hypersensitivity to propolis. *Cont Dermat* 1977; 3:278-9. 27. Hausen BM, Wollenweber E, Senff H i wsp. Propolis allergy. (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Cont Dermat* 1987; 17:171-7. 28. Czarnecki R. Farmakologia propolisu. Ocena dermatologiczna, histologiczna, cytomorfologiczna i histoenzymatyczna. Opracowanie dla firmy Apipol-Farma w Myślenicach, Kraków 1992. 29. Ledön N, Casacó A, González R i wsp. Assessment of potential dermal and ocular toxicity and allergic properties of an extract of red propolis. *Arch Dermatol Res* 2002; 293:594-6. 30. Hausen BM, Evers P, Stüwe H-T i wsp. Propolis allergy (IV). Studies with further sensitizers from propolis constituents common to propolis, popular buds and balsam of Peru. *Cont Dermat* 1992; 26:34-44. 31. Hausen BM, Wollenweber E, Senff H i wsp. Propolis allergy (II). The sensitizing properties of 1,1-dimethyl caffeic acid ester. *Cont Dermat* 1987; 17:171-7. 32. Kaleta J. Analiza fizykochemiczna propolisu I możliwości jego standaryzacji. Praca doktorska. Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Kraków 2007. 33. Hegyi E, Suchý V, Nagy M. Zur Frage der Propolisallergie. *Hautarzt* 1990; 41:675-9. 34. Wöhrl S, Hemmer W, Focke M i wsp. The significance of fragrance mix, balsam of Peru, colophony and propolis

as screening tools in the detection of fragrance allergy. *Br J Derm* 2001; 145:268-73. **35.** Schnuch A, Uter W, Geier J i wsp. Contact allergy to farnesol in 2021 consecutively patch tested patients. Results of the IVDK. *Cont Dermat* 2004; 50:117-21. **36.** Kacznyj GG. Ob allergii k propolisu. *Pczelowodstwo* 1978; 5:43. **37.** Rudzki E, Grzywa Z. Uczulenie na propolis. Częstość, sposób uczulenia, odczyny krzyżowe. *Pol Tyg Lek* 1987; 42:40-2. **38.** Macháčkova J.

The incidence of allergy to propolis in 605 consecutive patients patch tested in Prague. *Cont Dermat* 1998; 18:210-12. **39.** Rudzki E, Rebandel P, Jaworski E. Comparison of the eliciting properties of 3 different propolis samples. *Cont Dermat* 1998; 39:142-3. **40.** Reduta T, Laudańska H, Chodyncka B. Alergia kontaktowa u chorych hospitalizowanych w klinice dermatologii i wenerologii w ostatnim pięcioleciu. *Przegl Dermatol* 2002; 89:193-7.

otrzymano/received: 10.10.2011  
zaakceptowano/accepted: 19.10.2011

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.: +48 (61) 665-95-50, fax: (61) 665-95-51  
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl