

Występowanie metylogliksalu w miodzie manuka i jego oddziaływanie na organizm człowieka

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

OCCURENCE OF METHYLGLYOXAL IN MANUKA HONEY AND ITS INFLUENCE ON HUMAN BODY

SUMMARY

Synthesis of methylglyoxal in manuka honey and its content in the different honey varieties and some food products has been ascribed. Moreover, the methylglyoxal toxicity in experimental animals was assessed. Possible effects on human body after oral intake and especially results of treatment of diabetic wounds using manuka honey were also established. Based on toxicological studies it can be assumed that methylglyoxal content in manuka honey does not have harmful effects on person health.

KEYWORDS: METHYLGLYOXAL – MANUKA HONEY – OTHER HONEY VARIETES – TOXICITY – INFLUENCE ON HUMAN BODY – ORAL AND TOPICAL APPLICATION

Badania z ostatnich lat, dotyczące wysokiej aktywności antybiotycznej miodu manuka wykazały, że za tę właściwość odpowiedzialny jest metylogliksal, związek występujący w nektarze rośliny *Leptospermum scoparium*. Na tym tle powstaje szereg pytań, a mianowicie: w jaki sposób tworzy się metylogliksal w tej odmianie miodu, jaka jest jego toksyczność, a także oddziaływanie na organizm człowieka, zarówno po podaniu doustnym, jak i zastosowaniu miejscowym. Niniejsze opracowanie ma na celu wyjaśnienie powyższych zagadnień w oparciu o dotychczasowe dane z piśmiennictwa.

Tworzenie się metylogliksalu w miodzie manuka

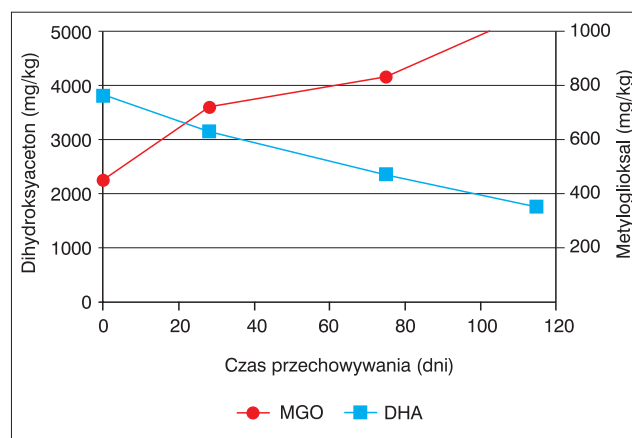
Yadav i wsp. (1) podają, że metylogliksal jest produktem pośrednim w przemianie metabolicznej fosforanów trioz (trójwęglowych pochodnych cukrów prostych, m.in. glukozy i fruktozy), takich jak fosforan dihydroacetonu i 3-fosforan aldehydu glicerynowego. Związki te powstają w komórkach organizmów wyższych (roślin, zwierząt i ludzi). Mogą one także gromadzić się wewnątrz komórek pod wpływem działalności enzymów: izomerazy fosforanowej trioz oraz syntazy metylogliksalowej.

Według Adamsa i wsp. (2) metylogliksal występuje w nektarze nowozelandzkiego miodu manuka wraz z dihydroksyacetonem. Nazywane są one związkami 1,2-karbonylowymi. Autorzy w 9 próbkach świeżego dojrzałego miodu manuka stwierdzili obecność od 139 do 491 mg/kg metylogliksalu, a także od 1192 do 5099 mg/kg dihydroksyacetonu. Okazało się, że w trakcie przechowywania tych próbek miodu w temp. 37°C poziom metylogliksalu na przestrzeni 30 tyg. systematycznie wzrastał, podczas gdy poziom dihydroksyacetonu jednocześnie w tym czasie malał (ryc. 1).

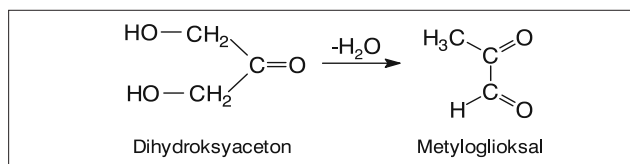
Ponadto dihydroksyacetone dodany do miodu koniczynowego (zawierającego 31 mg/kg metylogliksalu) w ilości 6190 mg/kg, po 30 tyg. przechowywania w temp. 37°C zawierał 1107 mg/kg metylogliksalu.

Na tej podstawie autorzy doszli do wniosku, że metylogliksal w miodzie manuka, przechowywanym przez dłuższy okres czasu, tworzy się dodatkowo na skutek reakcji odwodnienia z dihydroksyacetonu (ryc. 2).

Skąd jednak w miodzie manuka znajduje się tak duża zawartość metylogliksalu w porównaniu z innymi miodami nektarowymi? Dotyczy to zarówno innych miodów nowozelandzkich, jak i wszystkich znanych miodów nektarowych na świecie.



Ryc. 1. Wpływ przechowywania próbki miodu manuka M165 na tworzenie się metylogliksalu z dihydroksyacetonu (1). DHA – dihydroksyacetone, MGO – metylogliksal

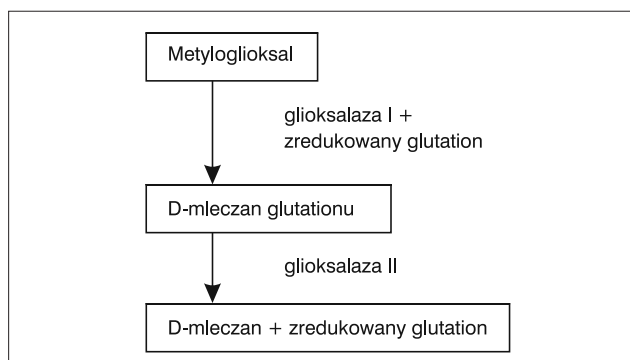


Ryc. 2. Tworzenie się metylogliksalu w miodzie manuka na drodze reakcji odwodnienia dihydroksyacetonu.

Yadav i wsp. (1) zaobserwowali, że niektóre rośliny, m.in. transgeniczny tytoń oraz różne odmiany ryżu, pod wpływem zwiększonego zasolenia gleby, suszy i zimna zawierają w korzeniach, liściach i pędach nadziemnych od 2 do 6 razy więcej metylogliksalu niż w trakcie normalnych warunków uprawy.

Dla przykładu w korzeniach odmiany ryżu IR64 w normalnych warunkach uprawy znajdowało się 1980 mg/kg metylogliksalu, podczas gdy w warunkach zwiększonego zasolenia gleby wartość ta wzrosła do 8960 mg/kg, suszy – do 13730 mg/kg, a zimna – do 5290 mg/kg. Uważa się, że metylogliksal jest dla roślin wskaźnikiem stresu, jaki towarzyszy niekorzystnym warunkom ich rozwoju. Autorzy sądzą, że pod wpływem stresu zostaje zaburzony proces usuwania tego związku z rośliny, polegający na rozkładzie enzymatycznym metylogliksalu za pośrednictwem glioksalazy I i II, przy współudziale zredukowanego glutationu. W wyniku tego procesu powstaje D-mleczan (ryc. 3).

Na tej podstawie można przypuszczać, że wysoki poziom metylogliksalu w miodzie manuka jest wynikiem braku enzymów rozkładających ten związek w nektarze wytwarzanym przez kwiaty *Leptospermum scoparium* lub powstaje na drodze innych zaburzeń tego procesu detoksykacyjnego. Metylogliksal usuwany jest z komórek roślinnych ze względu na jego działanie cytotoksyczne (2).



Ryc. 3. Enzymatyczny rozkład metylogliksalu zachodzący w tkankach roślinnych (2).

Zawartość metylogliksalu w miodzie manuka i innych odmianach miodu

Badania Mavrica i wsp. (3), Adamsa i wsp. (4) oraz Atrotta i Henlego (5) wyraźnie wskazują, że miód manuka zawdzięcza swoją nienadtlenną aktywność antybiotyczną (po unieczynnieniu enzymu oksydazy glukozy, powodującego powstawanie nadtlenu wodoru z glukozy) obecności metylogliksalu.

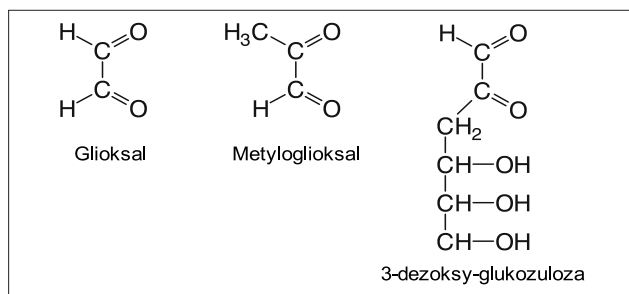
Mavric i wsp. (3) ustalili, że zawartość metylogliksalu w 6 próbkach miodu manuka wynosiła od 38 do 761 mg/kg. Adams i wsp. (4) w 49 próbkach miodu manuka oznaczyli poziom metylogliksalu w granicach od 38 do 709 mg/kg. Z kolei Atrott i Henle (5) podają, że zawartość tego związku w 61 próbkach miodu manuka mieściła się w przedziale od 189 do 835 mg/kg. Biorąc pod uwagę wszystkie badania, jako przeciętną wartość można przyjąć 410 mg/kg metylogliksalu w omawianej odmianie miodu.

Natomiast we wszystkich innych badanych dotychczas odmianach miodów zawartość metylogliksalu jest bardzo niska. Mavric i wsp. (3) po przebadaniu 50 niemieckich miodów pochodzących z obrotu handlowego stwierdzili, że średnia zawartość metylogliksalu wynosiła 3,1 mg/kg. Podobne wyniki otrzymali Adams i wsp. (4), którzy przebadali 34 próbki miodów nowozelandzkich powstałych z nektaru innych roślin niż manuka. Poziom metylogliksalu mieścił się w nich w granicach stężeń 1,6-24 mg/kg. Średnia zawartość tego związku wynosiła 6,7 mg/kg. Łącznie w 84 próbkach innych odmian średnia zawartość metylogliksalu kształtowała się na poziomie 4,9 mg/kg, tj. prawie 84 razy niższym w porównaniu do miodu manuka.

Powstawanie metylogliksalu w innych odmianach miodu i produktach spożywczych

Metylogliksal w innych odmianach miodu, a także w produktach spożywczych tworzy się na drodze całkowicie odmiennego mechanizmu, niż ten, który obserwujemy w przypadku miodu manuka.

Weigel i wsp. (6), Yadav i wsp. (1) oraz Adams i wsp. (4) twierdzą, że cukry proste obecne w miodzie i innych produktach spożywczych (głównie glukoza i fruktoza) pod wpływem zabiegów technologicznych (szczególnie ogrzewania) i długiego przechowywania ulegają rozkładowi z wytworzeniem związków 1,2-karbonylowych, takich jak glioksal, metylogliksal i 3-dezoksy-glukozuloza (ryc. 4). Są to związki wysoce reaktywne. Mogą łączyć się z innymi cukrami w tzw. procesie karmelizacji lub z niektórymi aminokwasami wchodzącymi w skład białek, takimi jak



Ryc. 4. Związki 1,2-dikarbonylowe występujące w innych miódach odmianowych i przetworzonej żywności (6).

arginina, lizyna i cysteina, oraz lipidami zawierającymi związki aminowe i kwasami nukleinowymi. W trakcie tych procesów powstają tzw. zaawansowane końcowe produkty glikacji (AGES – ang. *advanced glycation end products*) oraz zaawansowane końcowe produkty utleniania lipidów (ALES – ang. *lipoxidation end products*). W procesie rozkładu cukrów prostych tworzy się także 5-hydroksy-metylofurfural.

Weigel i wsp. (6) donoszą, że w trakcie przechowywania 21 niemieckich miódów wielokwiatowych w temp. 35-45°C przez 70 dni średnia zawartość wymienionych produktów rozkładu cukrów prostych wynosiła: glioksalu – 1,7 mg/kg, metyloglioksalu – 2,4 mg/kg, 3-dezoksy-glukozulozy – 180 mg/kg i 5-hydroksy-metylofurfuralu – 2,2 mg/kg.

Metyloglioksal występuje także w niektórych przetworzonych produktach spożywczych i napojach. Hayashi i Shibamoto (7) stwierdzili jego obecność w różnych postaciach kawy naturalnej (23-45 mg/kg), kakao, herbacie, odtłuszczonym mleku i sosie sojowym (0,7-7,6 mg/kg), a także napojach gazowanych (cola, piwo – 0,2-0,8 mg/l), sokach owocowych (0,04-0,11 mg/l) oraz syropie klonowym (2,5 mg/l). Revel i Bertrand (8) związek ten wykryli ponadto w winie czerwonym w stężeniach od 0,1 do 0,4 mg/l. W porównaniu do miodu manuka są to jednak wartości od kilkunastu do kilkuset razy niższe.

Toksyczność metyloglioksalu dla zwierząt doświadczalnych

Liczne badania wskazują, że metyloglioksal podawany drogą pokarmową zwierzętom doświadczalnym, nawet w stosunkowo dużych dawkach i przez długi okres czasu, nie odznacza się zbyt dużą toksycznością.

Vasdev i wsp. (9) podawali metyloglioksal szczurom w wodzie do picia w stężeniu 0,2% (250 mg/kg m.c.) przez pierwsze 5 tyg., w stężeniu 0,4% (500 mg/kg m.c.) przez następne 5 tyg. i w stężeniu 0,6% (750 mg/kg m.c.) przez ostatnie 8 tyg. (łącznie doświadczenie

trwało 18 tyg.). Po tym czasie okazało się, że w surowicy krwi zwierząt kontrolnych i badanych (otrzymujących metyloglioksal) poziom sodu, potasu, wapnia, magnezu, kreatyniny, cholesterolu całkowitego, triglicerydów i glukozy nie różniły się statystycznie. Wzrosło natomiast znacznie wiązanie tego związku do tkanki nerkowej (o 157%), wzrosło ciśnienie tętnicze krwi (o 41%) oraz podwyższył się wyraźnie poziom wapnia w płytkach krwi (o 59%). Ponadto zaobserwowano znaczne obniżenie poziomu azotanów i azotynów (o ok. 85%) w surowicy krwi szczurów.

Golej i wsp. (10) podawali zdrowym myszom dożołądkowo metyloglioksal w ilości 50 mg/kg m.c. raz dziennie przez 20 tyg. W wyniku tego doświadczenia grubość błony podstawnej kłębuszków nerkowych wzrosła o ok. 15%, a ogólna zawartość kolagenu nerkowego podwyższyła się o 39%, co świadczy o niekorzystnym wpływie tego związku na tkankę nerkową.

Ankrah i Oppiah-Opong (11) toksyczność metyloglioksalu dla myszy oceniali na drodze podawania zwierzętom 1% roztworu wodnego tego związku (2000 mg/kg m.c.) przez okres 2 mies. Wpływ długotrwałego podawania metyloglioksalu myszom objawiał się obniżeniem w surowicy krwi glutationu o 20%, a także zdolności krwinek czerwonych do przeciwdziałania stresowi oksydacyjnemu.

Z kolei badania Ghosh i wsp. (12) nie wykazały żadnego toksycznego oddziaływania metyloglioksalu dla szczurów. Związek ten podawany w ilości 1000 mg/kg m.c. przez 6 tyg. nie spowodował istotnych zmian zarówno histopatologicznych, jak i metabolicznych w odniesieniu do wątroby, nerek i serca badanych zwierząt doświadczalnych.

Możliwość oddziaływania metyloglioksalu podawanego drogą pokarmową na organizm człowieka

Należy zastanowić się nad teoretycznymi dawkami metyloglioksalu, jakie mogą być wprowadzane do organizmu człowieka dziennie przy maksymalnym podawaniu miodu manuka o wysokiej zawartości tego związku.

Przy założeniu, że człowiekowi o masie 80 kg możemy podać maksymalnie 80 g miodu manuka dziennie (1 g/kg m.c.), to jeśli miód ten zawiera skrajnie wysoką zawartość metyloglioksalu w ilości 1000 mg/kg, jego poziom w surowicy krwi człowieka, o ile cały miód wchłonął się do krwiobiegu, wyniesie zaledwie 1 mg/kg m.c.

W świetle przytoczonych powyżej badań toksykologicznych jest to stężenie znikome. Nawet uwzględ-

niając fakt, że myszy i szczury są 10-krotnie mniej wrażliwe od człowieka na substancje toksyczne, to i tak stężenia maksymalne, jakie osiąga się w surowicy krwi przy przyjmowaniu miodu manuka, będą bardzo małe w stosunku do dawek podawanych w doświadczeniach toksykologicznych zwierzętom doświadczalnym (25-200 mg/kg m.c.).

Biorąc pod uwagę tylko niewielkie oddziaływanie toksyczne metylogliksalu podawanego w powyższych dawkach zwierzętom doświadczalnym przez długi okres czasu (5-20 tyg.), można przyjąć, że stosowanie drogą doustną miodu manuka zawierającego nawet duże ilości metylogliksalu jest całkowicie bezpieczne i nie niesie ze sobą niebezpieczeństwa działań ubocznych.

Sytuacja kształtuje się jednak zupełnie inaczej u chorych na cukrzycę II stopnia, u których metylogliksal wytwarzany jest w trakcie procesu chorobowego przeciętnie w ilości ok. 30 mg/l krwi (13). Jeśli założyć, że taki chory będzie przyjmował raz dziennie miód manuka zawierający 1000 mg/kg metylogliksalu, to podanie go w ilości 1 g/kg m.c. spowoduje dodatkowe podwyższenie poziomu tego związku we krwi o ok. 12 mg/l, a to może spowodować zaburzenia jego detoksykacji w organizmie i pogłębienie choroby.

W tym kontekście podawanie miodu manuka chorym na cukrzycę II stopnia wydaje się niewskazane, ponieważ może stanowić zagrożenie dla ich stanu zdrowia.

Oddziaływanie metylogliksalu w trakcie leczenia miodem manuka ran cukrzycowych

Opinie na temat leczenia za pomocą miodu manuka ran cukrzycowych stóp i podudzi są podzielone.

Majtan (14) wypowiada się w tym względzie krytycznie. Powołując się na badania kliniczne Gethin i Cowmana (15), obejmujące leczenie miodem manuka różnego typu ran stóp i podudzi, uważa on, że miód tej odmiany nie nadaje się w pełni do tego celu.

Potwierdzeniem tych przypuszczeń mogą być prace dotyczące wpływu na rany cukrzycowe metylogliksalu oraz jego połączeń z aminokwasami wchodzącymi w skład białek, lipoprotein i kwasów nukleinowych, tzw. zaawansowanych końcowych produktów glikacji (AGEs). Mogą one obniżać odporność immunologiczną, pobudzać procesy miażdżycowe, powodować niedokrwienie, utrudniać powstawanie nowych naczyń krwionośnych, zmniejszać elastyczność istniejących naczyń oraz działać prozapalnie (pobudzając tworzenie się w tkankach mediatorów stanu zapalnego), utrudniając tym samym gojenie się ran (16-20).

Natomiast publikacja Kamaratosa i wsp. (21) dowodzi, że stosowanie opatrunków z miodu manuka w przypadkach owrzodzeń cukrzycowych stóp daje bardzo korzystne efekty, lepsze i szybciej osiągnięte niż w przypadku opatrunków konwencjonalnych, włączając w to chorych, którzy przez długi czas leczenia byli za pomocą wszystkich dostępnych środków. Okazało się, że średni czas leczenia 32 pacjentów z owrzodzeniami cukrzycowymi typu neurogennego opatrunkami z miodu manuka wynosił 31 dni, natomiast leczenie 31 pacjentów z tymi samymi zmianami chorobowymi przy użyciu opatrunków konwencjonalnych trwało średnio 43 dni, tj. o 11 dni (38,7%) dłużej.

W świetle powyższych danych leczenie ran cukrzycowych stóp i podudzi za pomocą opatrunków z miodu manuka jest dyskusyjne. Zagadnienie to wymaga zatem dalszych badań biologicznych i klinicznych.

Piśmiennictwo

1. Yadav SK, Siugla-Pareek SL, Ray M i wsp. Methylglyoxal levels in plants under salinity stress are dependent on glyoxalase I and glutathione. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 337:61-7.
2. Adams CJ, Manley-Harris M, Molan PC. The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr Res* 2009; 344:1050-3.
3. Mavric E, Witmann S, Barth G i wsp. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52:483-9.
4. Adams CJ, Boulton CH, Deadman BJ i wsp. Isolation by HPLC and characterization of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr Res* 2008; 343:651-9.
5. Atrott J, Henle T. Methylglyoxal in manuka honey – correlation with antibacterial properties. *Czech J Food Sci* 2009; 27:S163-5.
6. Weigel KU, Opitz T, Henle T. Studies on the occurrence and formation of 1,2-dicarbonyls in honey. *Eur Food Res Technol* 2004; 218:147-51.
7. Hayashi T, Shibamoto T. Analysis of methylglyoxal in foods and beverages. *J Agric Food Chem* 1985; 33:1090-3.
8. Revel de G, Bertrand A. A method for the detection of carbonyl compounds in wine: Glyoxal and methylglyoxal. *J Sci Food Agric* 1993; 61:267-72.
9. Vasdev S, Ford CA, Longereich L i wsp. Aldehyde induced hypertension in rats: Prevention by N-acetyl cysteine. *Artery* 1998; 23(1):10-36.
10. Golej J, Hoeger H, Radner W i wsp. Oral administration of methylglyoxal leads to kidney collagen accumulation in the mouse. *Life Sci* 1998; 63(9):801-7.
11. Ankrah N-A, Oppiah-Openg R. Toxicity of low levels of methylglyoxal: Depletion of blood glutathione and adverse effect on glucose tolerance in mice. *Toxicol Lett* 1999; 109:61-7.
12. Ghosh M, Talukdar D, Ghosh S i wsp. *In vivo* assessment of toxicity and pharmacokinetics of methylglyoxal. Augmentation of the curative effect of methylglyoxal on cancer-bearing mice by ascorbic acid and creatine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 212:45-58.
13. Lapolla A, Flamini R, Vedora AD i wsp. Glyoxal and methylglyoxal levels in diabetic patients: Quantitative determination by a new GC/MS method. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(9):1166-73.
14. Majtan J. Methylglyoxal A potential risk factor of manuka honey in healing of diabetic ulcers. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011:295494.
15. Gethin G, Cowman S. Case series of use of manuka honey in leg ulceration. *Int Wound J* 2005; 2(1):10-5.
16. Chong SAC, Lee W, Arora PD i wsp. Methylglyoxal inhibits the binding step of collagen phagocytosis. *J Biol Chem* 2007; 282

(11):8510-20. **17.** Goova MT, Li J, Kislinger T i wsp. Blockade of receptor for advanced glycation end-products restores effective wound healing in diabetic mice. *Am J Pathol* 2001; 159(2):513-25. **18.** Peppas M, Brem H, Ehrlich P i wsp. Adverse effects of dietary glycotoxins on wound healing in genetically diabetic mice. *Diabetes* 2003; 52:2805-13. **19.** Peppas M, Stavroulakis P, Raptis SA. Advanced glycoxidation products and impaired diabetic

wound healing. *Wound Rep Reg* 2009; 17:461-72. **20.** Berlanga J, Cibrian D, Guillén I i wsp. Methylglyoxal administration induces diabetes-like microvascular changes and perturbs the healing process of cutaneous wounds. *Clin Sci* 2005; 109:83-95. **21.** Kamartos AV, Tzirogiannis KN, Iraklianos SA i wsp. Manuka honey-impregnated dressings in the treatment of neuropathic diabetic foot ulcers. *Int Wound J* 2012; 2012:1082.x.

otrzymano/received: 02.07.2015
zaakceptowano/accepted: 29.07.2015

Adres/address:
*prof. dr hab. Bogdan Kędzia
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel. +48 (61) 665-95-50, fax +48 (61) 665-95-51
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl