

\*Bogdan Kędzia, Elżbieta Hołderna-Kędzia

## Działanie propolisu na serce i naczynia krwionośne w świetle badań farmakologicznych. Część 2

### Propolis effect on the heart and blood vessels in the light of pharmacological studies. Part 2

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań  
Dyrektor Instytutu: dr n. ekon. Robert Sobków

---

#### SUMMARY

*The pharmacological tests presented in the first part of this work clearly indicate the beneficial effect of propolis extracts and their components on the heart and blood vessels. The propolis extracts and the components present in them, such as caffeic acid phenylethylester (CAPE), artemillin and pinocembrin, are characterized by multidirectional effects on the heart and blood vessels. The publications cited earlier indicate that propolis extracts direct impact on the heart, and confirmed anti-ischemic activity, diastolic blood vessel activity, preventing hypertrophy of vessels, inhibiting blood capillary permeability, lowering blood pressure, preventing cardiomyopathy as well as hypolipemia. This part of the paper discusses anticoagulant, anti-angiogenic activity of propolis extracts and prevention of ischemic necrosis of the brain tissue. On the basis of the provided pharmacological research data, it can be assumed that the described properties of propolis extracts and substances isolated from them will contribute to the application of these products in the treatment of heart and blood vessel diseases.*

**Keywords:** propolis, heart, blood vessels, CAPE, artemillin, pinocembrin

---

#### STRESZCZENIE

*Przedstawione w części pierwszej pracy badania farmakologiczne wyraźnie wskazują na korzystne oddziaływanie ekstraktów propolisowych i zawartych w nich składników na serce i naczynia krwionośne. Ekstrakty propolisowe i obecne w nich składniki, takie jak ester fenyletylowy kwasu kawowego (CAPE), artemilina oraz pinocembryna, charakteryzują się wielokierunkowym działaniem na serce i naczynia krwionośne. Cytowane wcześniej publikacje wskazują na ich bezpośrednie oddziaływanie na serce, a także działanie przeciwniedokrwiennie, rozkurczające naczynia krwionośne, zapobiegające przerostowi naczyń, hamujące przepuszczalność naczyń włosowatych, obniżające ciśnienie krwi, zapobiegające kardiomiopatii oraz hipolipemiczne. W tej części pracy omówiono działanie przeciwzakrzepowe, przeciwingiogenne i zapobiegające martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej. Na podstawie przedstawionych danych badań farmakologicznych można przypuszczać, że opisane właściwości ekstraktów propolisowych i wyizolowanych z nich substancji przyczynią się do zastosowania tych produktów w terapii chorób serca i naczyń krwionośnych.*

**Słowa kluczowe:** propolis, serce, naczynia krwionośne, CAPE, artemilina, pinocembryna

---

### Wprowadzenie

Badania na zwierzętach doświadczalnych dowodzą, że ekstrakty propolisowe i obecne w nich składniki oddziałują zarówno na serce, jak i na naczynia krwionośne. Poza bezpośrednim wpływem na serce, ekstrakty propolisowe i obecne w nich składniki

działają przeciwniedokrwiennie, rozkurczają naczynia, zapobiegają ich przerostowi, hamują przepuszczalność naczyń włosowatych, obniżają ciśnienie krwi, zapobiegają kardiomiopatii oraz działają hipolipemicznie. Poza tym odznaczają się one właściwościami przeciwzakrzepowymi, przeciwingiogennymi

oraz zapobiegają martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej.

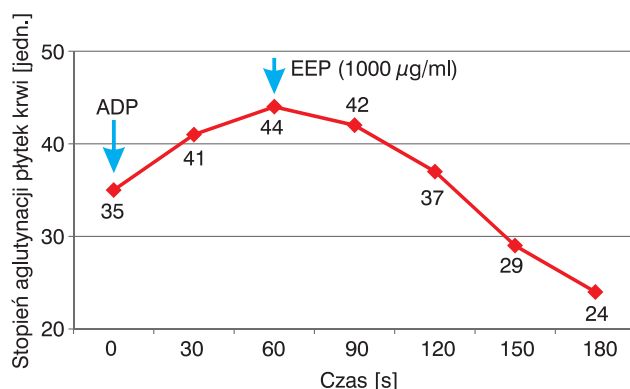
Na tej podstawie z dużym prawdopodobieństwem można przyjąć, że ekstrakty propolisowe i występujące w nich substancje biologicznie aktywne znajdują zastosowanie w terapii chorób serca i naczyń krwionośnych.

### Działanie przeciwzakrzepowe

Płytki krwi (trombocyty) wytwarzane są w szpiku kostnym i biorą udział w procesie krzepnięcia krwi oraz wytwarzania skrzepu. Są czynnikiem aktywacji krzepnięcia wewnątrznaczyniowego, głównie na drodze adhezji i agregacji. Zaburzenia prawidłowej funkcji płytek krwi prowadzą do ich agregacji w naczyniach tętniczych i żylnych. Odgrywają one zatem ważną rolę w procesach patologicznych, głównie w miażdżycy tętnic i naczyń żylnych kończyn dolnych.

Dejanov i wsp. (1) oceniali wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu macedońskiego (EEP) w warunkach *in vitro* na stopień aglutynacji (zlepiania się) płytek krwi stymulowanej adenozyndifosfatazą (ADP). W badaniach używano surowicy bogatej w płytki krwi pochodzącej od zdrowych dawców. Do surowicy z płytkami krwi dodawano ADP, zapoczątkowując ich agregację i proces krzepnięcia krwi, a następnie EEP w stężeniu od 100 do 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Proces aglutynacji pod wpływem ADP i jego hamowanie za pomocą EEP mierzono przy użyciu aglutynometru.

Wyniki badań przedstawione na rycinie 1 wskazują, że EEP w stężeniu 1000  $\mu\text{g/ml}$  wyraźnie zapobiega agregacji płytek krwi i powstaniu skrzepu. Działanie to obserwowano także w niższych stężeniach. Najmniejsze stężenie EEP, które hamowało proces agregacji płytek krwi *in vitro*, wynosiło 100  $\mu\text{g/ml}$ .



Ryc. 1. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu macedońskiego (EEP) na stopień aglutynacji (zlepiania się) płytek krwi stymulowanej adenozyndifosfatazą (ADP) (wg 1)

Powyższe badania dowodzą, że EEP hamuje agregację płytek krwi, co może być wykorzystane do leczenia chorych z zaburzeniami krzepliwości krwi, szczególnie w zakrzepicy naczyń serca i naczyń żylnych kończyn dolnych.

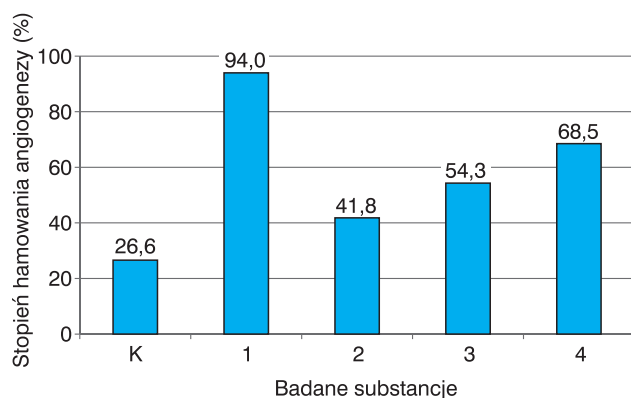
### Działanie przeciwangiogenne

Angiogeneza oznacza powstawanie nowych naczyń kapilarnych, które są istotne dla normalnego rozwoju łożyska, zarodka i płodu, ale prawie nigdy nie zachodzi u osób dorosłych, za wyjątkiem pęcherzyków Graafa i śluzówki macicy po okresie miesiączki.

Odgrywa ona ważną rolę w różnych procesach chorobowych, takich jak rozwój nowotworu, miażdżycy, łuszczyca i zapalenie stawów. Istnieją dowody na to, że angiogeneza i przewlekły stan zapalny są ze sobą ściśle powiązane. Mediatory zapalenia także mogą wzmacniać angiogenezę, zarówno bezpośrednio, jak i pośrednio. Odwrotnie, angiogeneza może przyczynić się do rozwoju procesu chorobowego na tle zapalnym. Nowe naczynia krwionośne mogą utrzymywać przewlekły stan zapalny poprzez transport komórek zapalnych do miejsca zapalenia, a także dostarczanie składników odżywczych i tlenu do rozwijającej się tkanki zapalnej. Wzrost powierzchni komórek nabłonkowych również stwarza warunki do wytwarzania cytokin, adhezji cząstek i innych stymulatorów zapalenia. Dlatego ważne są substancje, które odznaczają się właściwościami hamowania procesu angiogenezy. Należą do nich m.in. ekstrakty propolisowe i niektóre związki występujące w propolisie.

Jako jedni z pierwszych na przeciwangiogenne właściwości propolisu zwrócili uwagę Hepsen i wsp. (2). Zaobserwowali oni, że ekstrakt wodny z propolisu tureckiego (WEP) hamował tworzenie się nowych naczyń krwionośnych w rogówce oka królika uszkodzonego na drodze kauteryzacji (przyżegania) azotaniem srebra. Okazało się, że 1% WEP hamował tworzenie się naczyń krwionośnych rogówki na poziomie 30,8% w odniesieniu do kontroli. Natomiast 0,1% deksametazon w tych samych warunkach hamował tworzenie się naczyń krwionośnych rogówki w 27,3% w porównaniu do kontroli. Wskazuje to na wyraźne działanie przeciwangiogenne zastosowanego ekstraktu propolisowego.

Song i wsp. (3) badali wpływ ekstraktu etanolowego (EEP) i eterowego (Etep) z propolisu tureckiego oraz estru feniloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na rozwój naczyń krwionośnych w kosmówce omoczniowej zarodka kurzego. Na podstawie przeprowadzonych przez nich badań (ryc. 2) można wnioskować, że zarówno EEP, Etep, jak i CAPE odznaczają się działaniem przeciwangiogennym (wszystkie substancje



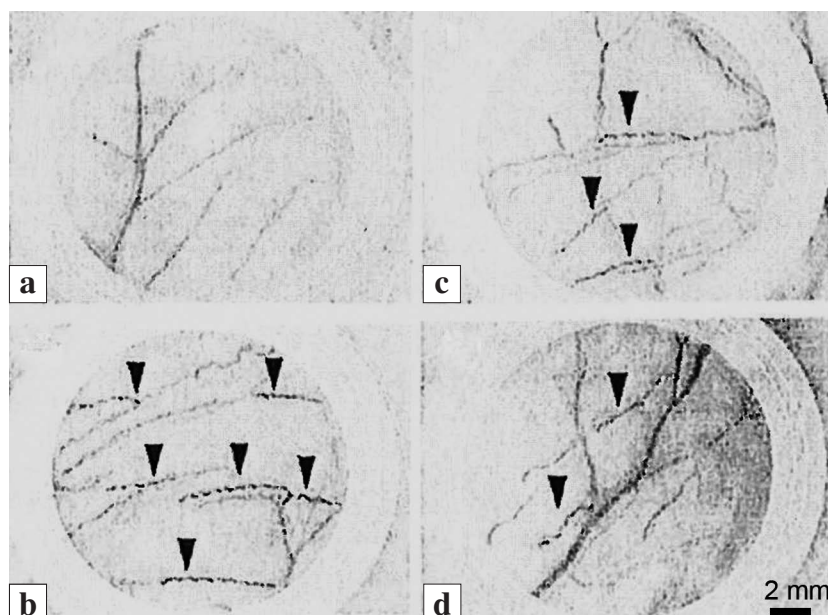
**Ryc. 2.** Wpływ ekstraktu etanolowego (EEP) i eterowego (EETEP) z propolisu tureckiego oraz estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na rozwój naczyń krwionośnych w kosmówce omoczniowej zarodka kurzego (wg 3)  
K – kontrola; 1 – kwas retynowy; 2 – EEP; 3 – EETEP; 4 – CAPE

stosowano w stężeniu  $5 \mu\text{g}/\text{zarodek}$ ). EEP hamował angiogenezę w  $41,8\%$ , EETEP w  $54,3\%$ , a CAPE w  $68,5\%$ . Natomiast kwas retynowy w stężeniu  $1 \mu\text{g}/\text{zarodek}$ , związek o znanej aktywności angiogennej, hamował angiogenezę w  $94,0\%$ .

Ponadto oceniano wpływ wymienionych substancji propolisowych na rozwój hodowli komórek nabłonkowych tętnicy płucnej izolowanych z organizmu cielęcia. Badania wykazały, że najsilniej rozwój tych komórek hamował EEP ( $EC_{50} = 0,18 \mu\text{g}/\text{ml}$ ),

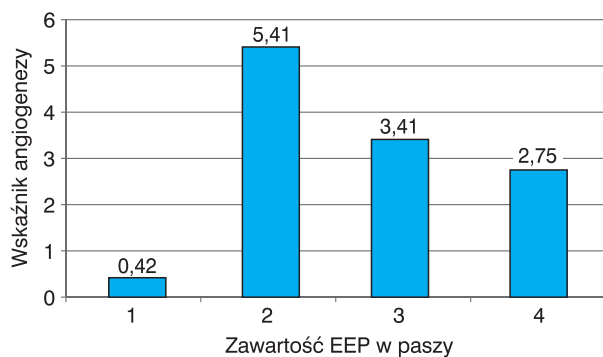
słabiej EETEP ( $EC_{50} = 2,97 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) i CAPE ( $EC_{50} = 1,71 \mu\text{g}/\text{ml}$ ). Przeprowadzone badania wskazują, że ekstrakty etanolowy i eterowy z propolisu tureckiego, a także ester fenyloetylowy kwasu kawowego charakteryzowały się wyraźnym działaniem przeciwingiennym.

Interesujące i szeroko zakrojone badania na temat wpływu ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego i jednego z głównych składników tego ekstraktu – artepiliny C, przeprowadzili Ahn i wsp. (4). Ekstrakt etanolowy z tego propolisu (EEP) badano pod kątem działania na tworzenie się nowych naczyń krwionośnych w nabłonku skóry myszy. Proces ten indukowano za pomocą zawiesiny nowotworu S180, którą implantowano do skóry grzbietu myszy, wykorzystując do tego celu specjalną technikę z użyciem sączków membranowych. Technika ta pozwalała na obserwowanie *in vivo* tworzących się po 7 dniach nowych naczyń krwionośnych. Wyniki badań zilustrowane na rycinie 3a-d wskazują, że EEP wprowadzony do organizmu myszy za pośrednictwem paszy powodował wyraźne zmniejszenie liczby nowych naczyń krwionośnych, zależnie od zawartości spożywanego przez myszy ekstraktu. Z danych przedstawionych na rycinie 4 wynika, że dodatek do paszy  $2,5\%$  EEP obniżał tworzenie się nowych naczyń krwionośnych o  $37,0\%$ , a dodatek  $5,0\%$  EEP – o  $49,2\%$  w porównaniu do kontroli (pasza bez dodatku EEP).



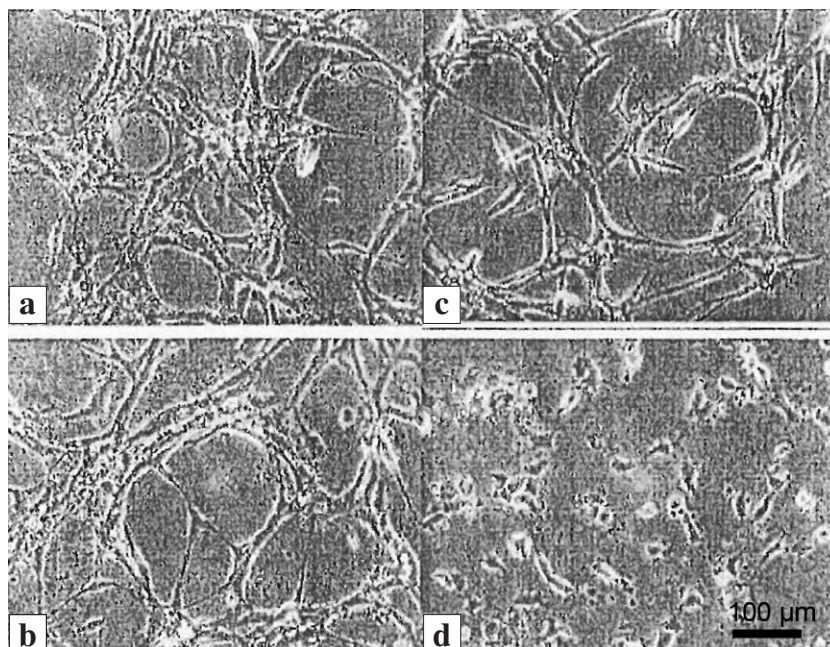
**Ryc. 3a-d.** Działanie ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) na tworzenie się nowych naczyń krwionośnych w nabłonku skóry myszy indukowanym zawiesiną nowotworu S180 (wg 4)  
a – nabłonek kontrolny; b – nabłonek poddany działaniu nowotworu; c, d – nabłonek poddany działaniu nowotworu u zwierząt karmionych paszą z dodatkiem  $2,5$  i  $5,0\%$  EEP





**Ryc. 4.** Działanie EEP na tworzenie się nowych naczyń krwionośnych (wskaźnik angiogenezy) (wg 4)  
1 – nabłonek kontrolny; 2 – nabłonek poddany działaniu czynnika angiotwórczego; 3, 4 – nabłonek poddany działaniu czynnika angiotwórczego u myszy karmionych paszą z dodatkiem 2,5 i 5,0% EEP; wskaźnik angiogenezy – liczba nowych naczyń krwionośnych powyżej 3 mm długości i 75  $\mu\text{m}$  szerokości

Określano także wpływ EEP na tworzenie się cewkowatych (kapilaropodobnych) komórek nabłonkowych (charakterystycznych dla procesu angiogenezy) w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) (4). Do hodowli tych komórek o gęstości  $6 \times 10^4/\text{ml}$  dodawano EEP w stężeniach: 3,1; 12,5 i 25,0  $\mu\text{g/ml}$ . Badania wykazały (ryc. 5a-d), że w miarę wzrostu stężenia EEP w hodowli liczba komórek cewkowatych malała, a przy stężeniu 50  $\mu\text{g/ml}$  w hodowli takie komórki w ogóle nie występowały.



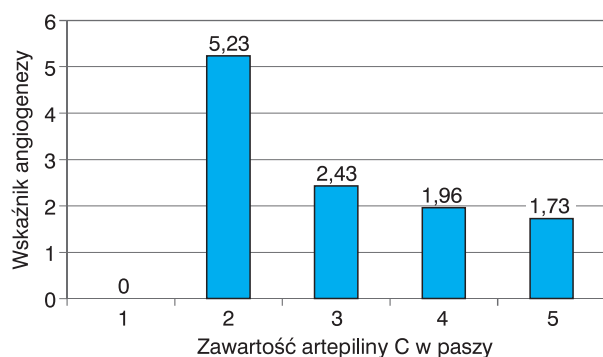
**Ryc. 5a-d.** Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) na tworzenie się cewkowatych (kapilaropodobnych) komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) (wg 4)  
a – hodowla kontrolna HUVEC; b, c, d – hodowla HUVEC z dodatkiem EEP w stężeniach: 3,1; 12,5 i 50,0  $\mu\text{g/ml}$

Dalsze badania Ahn i wsp. (4) w ramach tej samej publikacji dotyczyły działania artepiliny C, jednego z najważniejszych składników propolisu brazylijskiego, na tworzenie się nowych naczyń krwionośnych, tworzenie się komórek cewkowatych i rozwój komórek nabłonkowych żyły pępowinowej. Badania wykazały, że pod wpływem artepiliny C wskaźnik angiogenezy malał wraz ze wzrostem stężenia tej substancji (ryc. 6). Przy stężeniu 0,125% artepiliny C wskaźnik angiogenezy był niższy o 53,5%, przy stężeniu 0,25% – o 62,5%, a przy stężeniu 0,50% – o 66,9% w porównaniu do kontroli (bez artepiliny C).

Artepilina C podawana zwierzętom w paszy także wyraźnie obniżała tworzenie się komórek cewkowatych (ryc. 7). Przy stężeniu 3,1  $\mu\text{g/ml}$  artepiliny C tworzenie się komórek cewkowatych było niższe o 27,6%, przy stężeniu 12,5  $\mu\text{g/ml}$  – o 63,7%, a przy stężeniu 50  $\mu\text{g/ml}$  – o 89,8% w porównaniu do kontroli (bez artepiliny C).

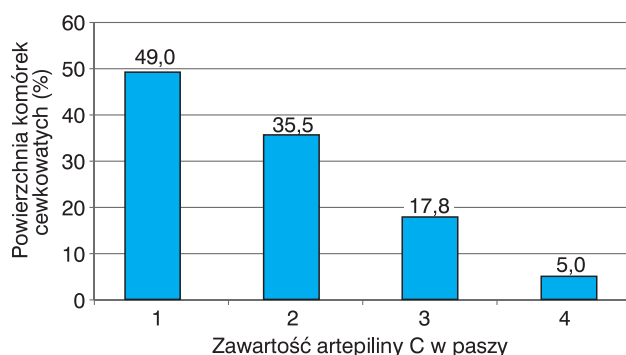
Podobny wpływ wykazała artepilina C na rozwój hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC). W obecności 3,1  $\mu\text{g/ml}$  artepiliny C rozwój hodowli był słabszy o 4,9%, w obecności 12,5  $\mu\text{g/ml}$  – o 29,0%, a w obecności 50,0  $\mu\text{g/ml}$  o 63,1% w porównaniu do hodowli bez dodatku tej substancji (ryc. 8).

W podsumowaniu można przyjąć, że ekstrakt etanolowy z propolisu brazylijskiego odznacza się silnymi właściwościami przeciwingiennymi, przy czym



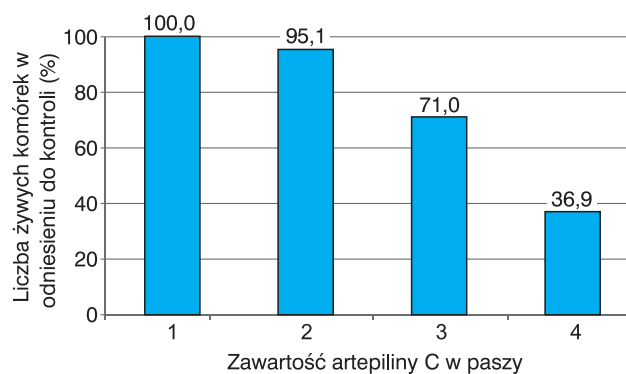
**Ryc. 6.** Działanie artepiliny C na tworzenie się nowych naczyń krwionośnych (wskaźnik angiogenezy) (wg 4)

1 – nabłonek kontrolny; 2 – nabłonek poddany działaniu czynnika angiotwórczego; 3-5 – nabłonek poddany działaniu czynnika angiotwórczego u myszy karmionych paszą z dodatkiem 0,125; 0,25 i 0,50% artepiliny C



**Ryc. 7.** Wpływ artepiliny C podawanej zwierzętom w paszy na tworzenie się cewkowatych (kapilaropodobnych) komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) (wg 4)

1 – hodowla kontrolna HUVEC; 2-4 – hodowla HUVEC z dodatkiem artepiliny C w stężeniach: 3,1; 12,5 i 25,0  $\mu\text{g/ml}$



**Ryc. 8.** Wpływ artepiliny C na rozwój hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) (wg 4)

1 – hodowla kontrolna HUVEC; 2-4 – hodowla HUVEC z dodatkiem artepiliny C w stężeniach: 3,1; 12,5 i 50,0  $\mu\text{g/ml}$

artepilina C, główny składnik tego ekstraktu, w dużym stopniu jest odpowiedzialna za to działanie.

Według Izuty i wsp. (5) czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) jest najważniejszą substancją powodującą angiogenezę w takich chorobach, jak nowotwory i retinopatia cukrzycowa. Wymienieni autorzy określili jego wpływ na tworzenie się cewkowatych komórek nabłonkowych (kapilaropodobnych) w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) oraz na namnażanie i ruchliwość komórek nabłonkowych HUVEC w obecności substancji przeciwiangiogennych, do których zalicza się ekstrakty propolisowe i ester fenyloetylowy kwasu kawowego, jeden z ważnych składników propolisu. Do hodowli komórek nabłonkowych HUVEC dodawano VEGF w stężeniu 10 ng/ml, ekstrakt etanolowy z propolisu hiszpańskiego (EEP) w stężeniu 3  $\mu\text{g/ml}$  oraz ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE) w stężeniu 3  $\mu\text{mol/l}$ .

Wyniki przedstawionych badań wskazują (tab. 1), że EEP w obecności VEGF zmniejszał powierzchnię cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC o 31,7%, namnażanie komórek nabłonkowych HUVEC o 30,3% i ruchliwość tych komórek o 48,5% w odniesieniu do hodowli zawierającej tylko czynnik VEGF.

Podobne efekty uzyskano w hodowli komórek HUVEC, do której wprowadzano czynnik VEGF i ester fenyloetylowy kwasu kawowego CAPE (tab. 2). Zaobserwowano, że CAPE zmniejszał powierzchnię cewkowatych komórek HUVEC o 56,1%, namnażanie komórek HUVEC o 28,1% i ich ruchliwość o 32,9% w odniesieniu do hodowli zawierającej tylko czynnik VEGF. Przedstawione badania świadczą wyraźnie o przeciwiangiogennym działaniu EEP oraz występującego w ekstraktach propolisowych estru kwasu kawowego CAPE.

Chikaraishi i wsp. (6) badali z kolei pod kątem działania przeciwiangiogennego ekstrakt wodny z propolisu brazylijskiego (WEP). Określali oni wpływ WEP oraz najważniejszych kwasów aromatycznych i ich estrów występujących w propolisie brazylijskim na tworzenie się cewkowatych komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) indukowanych czynnikiem wzrostu śródbłonna (VEGF). Z danych zebranych w tabeli 3 wynika, że WEP zmniejszał powierzchnię cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC o 36,4% w porównaniu do hodowli zawierającej tylko czynnik VEGF. Ze składników propolisowych najsilniejsze działanie przeciwiangiogenne wywierały kwasy dikawoilochinowe i kwas chlorogenowy. Zmniejszały one powierzchnię cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC w granicach 51,1-66,6%. Pozostałe

**Tab. 1.** Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu hiszpańskiego (EEP) na tworzenie się cewkowatych komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) oraz namnażanie i wielkość komórek nabłonkowych HUVEC indukowanych czynnikiem wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF) (wg 5)

Parametry fizjologiczne	Badane substancje			
	Kontrola	VEGF <sup>1</sup>	EEP + VEGF <sup>2</sup>	Obniżenie parametrów (%)
Powierzchnia cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC ( $\mu\text{m}^2$ )	94	142	97	31,7
Namnażanie komórek nabłonkowych HUVEC (% w odniesieniu do kontroli)	100	142	99	30,3
Ruchliwość komórek nabłonkowych HUVEC (% w odniesieniu do kontroli)	100	198	102	48,5

<sup>1</sup>Stężenie 10 ng/l<sup>2</sup>Stężenie EEP 3  $\mu\text{g/ml}$ ; VEGF 10 ng/ml**Tab. 2.** Wpływ estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na tworzenie się cewkowatych komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) oraz namnażanie i ruchliwość komórek nabłonkowych HUVEC indukowanych czynnikiem wzrostu śródbłonka (VEGF) (wg 5)

Parametry fizjologiczne	Badane substancje			
	Kontrola	VEGF <sup>1</sup>	CAPE + VEGF <sup>2</sup>	Obniżenie parametrów (%)
Powierzchnia cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC ( $\mu\text{m}^2$ )	98	262	115	56,1
Namnażanie komórek nabłonkowych HUVEC (% w odniesieniu do kontroli)	100	210	151	28,1
Ruchliwość komórek nabłonkowych HUVEC (% w odniesieniu do kontroli)	100	149	100	32,9

<sup>1</sup>Stężenie 10 ng/ml<sup>2</sup>Stężenie CAPE 3  $\mu\text{mol/l}$ ; VEGF 10 ng/ml**Tab. 3.** Wpływ ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) i jego składników na tworzenie się cewkowatych komórek nabłonkowych w hodowli ludzkich komórek nabłonkowych żyły pępowinowej (HUVEC) indukowanych czynnikiem wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF) (wg 6)

Badane substancje i ich stężenie w hodowli HUVEC	Powierzchnia cewkowatych komórek nabłonkowych HUVEC ( $\mu\text{m}^2$ )			
	Kontrola	VEGF	Substancja + VEGF	Obniżenie (%)
WEP (3 $\mu\text{g/ml}$ )	22	231	147	36,4
Kwas <i>p</i> -kumarowy (20 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	203	12,2
Artepilina C (2 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	172	25,5
Drupanina (0,5 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	222	3,9
Bakcharyna (0,1 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	194	16,0
Kwas 3,4-di-kawoilochinowy (10 $\mu\text{mol}$ )	22	231	81	64,9
Kwas 3,5-di-kawoilochinowy (10 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	78	66,2
Kwas chlorogenowy (10 $\mu\text{mol/l}$ )	22	231	113	51,1

substancje propolisowe odznaczały się słabszym działaniem przeciwingiennym od WEP.

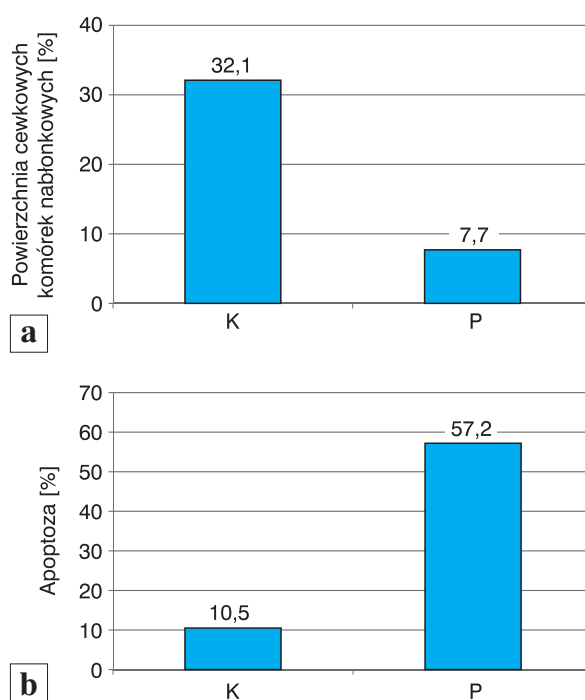
Drugim modelem oceny działania przeciwingiennego jest neowaskularyzacja (tworzenie się nowych naczyń krwionośnych) w rogówce oka u zwierząt doświadczalnych. Neowaskularyzacja rogówki oka u ludzi może powstać w wyniku zapalenia rogówki, jej mechanicznego uszkodzenia, w tym działania substancji alkalicznych, używania szkieł kontaktowych i innych.

Kashavarz i wsp. (7) uważają, że głównymi czynnikami neowaskularyzacji rogówki oka są: czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (VEGF) i metaloproteiny macierzy pozakomórkowej, szczególnie metaloproteinaza-2 (MNP-2). Twierdzą oni, że proces neowaskularyzacji rogówki oka, będący patologiczną formą tkanki ocznej, można zmniejszać na drodze wprowadzania do oka substancji hamujących aktywność VEGF i MNP-2. Do takich substancji zalicza się także ekstrakty propolisowe i niektóre substancje wchodzące w skład propolisu, m.in. CAPE i artepilinę C.

Chikaraishi i wsp. (6) w swoich badaniach wykazali, że ekstrakt wodny z propolisu brazylijskiego (WEP) odznaczał się działaniem przeciwwaskularyzacyjnym (tab. 4). Myszy poddawano działaniu wysokiego stężenia tlenu w powietrzu (75%) przez 17 dni. W grupie badanej zwierzęta otrzymywały dodatkowo przez 5 dni (pomiędzy 12. a 16. dniem doświadczenia) WEP drogą podskórną w dawce 300 mg/kg/dzień. Z tabeli 4 wynika, że WEP obniżał w rogówce oka myszy liczbę nowych naczyń krwionośnych o 26,9%, powierzchnię nowych naczyń krwionośnych o 31,2% i zmniejszał powierzchnię rogówki wolną od naczyń krwionośnych o 10,0% w porównaniu do zwierząt nieotrzymujących WEP. Dane te świadczą o hamowaniu neowaskularyzacji rogówki oka u myszy przez ekstrakt wodny z propolisu brazylijskiego.

Ohta i wsp. (8) jako pierwsi odkryli, że ekstrakty propolisowe mogą indukować apoptozę cewkowatych

komórek nabłonkowych. Proces ten wydaje się najbardziej prawdopodobnym mechanizmem działania przeciwingiennego propolisu i jego składników. Cytowani autorzy stwierdzili, że w miarę ubywania w hodowli, pod wpływem EEP, komórek HUVEC (cewkowatych komórek nabłonkowych), wzrasta liczba komórek podlegających apoptozie. EEP powodował u nich gromadzenie chromatyny, morfologicznego wskaźnika procesu apoptozy. Dane zilustrowane na rycinie 9 wskazują, że pod wpływem EEP w stężeniu 50  $\mu\text{g/ml}$  powierzchnia cewkowatych



**Ryc. 9a, b.** Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) na proces powstawania cewkowatych komórek nabłonkowych w hodowli komórek HUVEC oraz na proces ich apoptozy (wg 8)

K – hodowla komórek HUVEC; P – hodowla komórek HUVEC z dodatkiem 50  $\mu\text{g/ml}$  EEP

Czas trwania doświadczenia: a – 48 godz., b – 24 godz.

**Tab. 4.** Wpływ ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) na neowaskularyzację rogówki oka u myszy indukowaną tlenem (wg 6)

Parametry neowaskularyzacji rogówki oka u myszy	Badane substancje		
	Kontrola	WEP <sup>1</sup>	Obniżenie (%)
Liczba naczyń krwionośnych	130	95	26,9
Powierzchnia naczyń krwionośnych (mm <sup>2</sup> )	1,28	0,88	31,2
Powierzchnia wolna od naczyń krwionośnych (mm <sup>2</sup> )	1,20	1,08	10,0



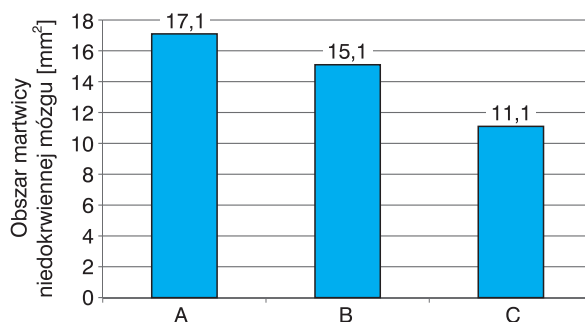
komórek nabłonkowych uległa obniżeniu o 76,2%, podczas gdy apoptoza tych komórek wzrosła w tym samym czasie o 81,6% w porównaniu do hodowli kontrolnej HUVEC. Na tej podstawie można przyjąć, że EEP indukował apoptozę cewkowatych komórek nabłonkowych.

Dalsze badania przeprowadzone przez Kunimasa i wsp. (9) dowiodły, że indukcja apoptozy cewkowatych komórek nabłonka pod wpływem EEP zachodzi na drodze inaktywacji enzymu ERK 1/2 (ang. *extracellular signal-regulated kinase*), tzw. sygnału przeżycia. Inaktywacja tego białka w cewkowatych komórkach nabłonka w hodowli komórek HUVEC pod wpływem 25  $\mu\text{g/ml}$  EEP spowodowała wzrost apoptozy tych komórek o 49,1%, podczas gdy liczba cewkowatych komórek nabłonka hodowli obniżyła się równocześnie o 45,4%. Świadczy to o inaktywacji enzymu ERK 1/2 w cewkowatych komórkach śródbłonka pod wpływem ekstraktu etanolowego z propolisu, co doprowadziło do apoptozy tych komórek. W nawiązaniu do tych wyników badań autorzy sugerują, że wyjaśnienie mechanizmu działania przeciwingiennego ekstraktów propolisowych przyczyni się do wykorzystania ich w zapobieganiu powstawania nowotworów i innych angiozależnych chorób u ludzi.

### Zapobieganie martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej

Stwierdzono, że neuroochronne działanie ekstraktów propolisowych dotyczy również mózgu. Shimazawa i wsp. (10) oceniali stopień takiego działania na modelu niedotlenienia mózgu u myszy. Zwierzętom trwale podwiązywano środkową tętnicę mózgu (MCA). Ekstrakt wodny z propolisu brazylijskiego (WEP) podawano myszom dootrzewnowo w dawce 30 i 100 mg/kg m.c. na 2 dni, 1 dzień i 60 min przed zabiegiem, a także w 4 godz. po zabiegu podwiązania MCA. Doświadczenie prowadzono przez 24 godz. od wykonania zabiegu. Po tym czasie zwierzęta usypiano, wypreparowywano mózgi i przeprowadzono badania histologiczne mające na celu określenie obszaru i objętości martwicy niedokrwiennej mózgu.

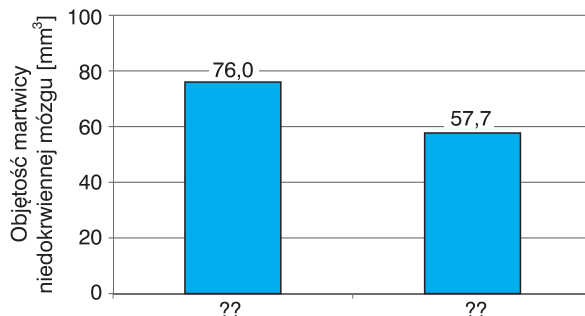
Wyniki badań przedstawione na rycinie 10 wskazują, że podawanie zwierzętom WEP wyraźnie ochrania tkankę mózgową przed martwicą niedokrwinną. W wyniku podawania WEP w dawce 30 mg/kg m.c. powierzchnia martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej była mniejsza o 11,7%, a przy dawce 100 mg/kg m.c. nawet o 37,1% w porównaniu z tkanką zwierząt nieleczonych. Podobnie kształtowała się objętość



Ryc. 10. Neuroochronne działanie ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) na powierzchnię mózgowia myszy uszkodzonego na drodze niedokrwienia tego narządu (NM) (wg 11)  
A – NM; B – WEP (30 mg/kg m.c.) + NM; C – WEP (100 mg/kg m.c.) + NM

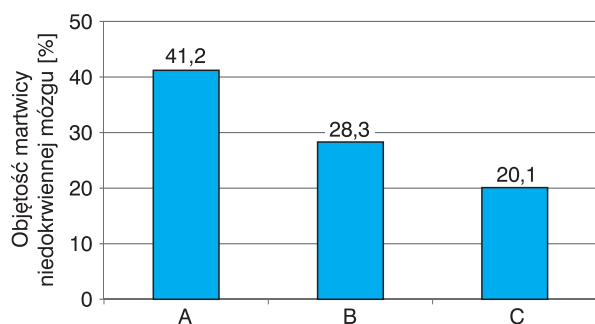
tkanki mózgowej dotknięta martwicą niedokrwinną. W pierwszym przypadku (ryc. 11) objętość tkanki martwiczej była mniejsza o 24,1%, a w drugim przypadku o 39,2% w porównaniu do tkanki mózgowej zwierząt nieleczonych. Badania te dowodzą wyraźnego neuroochronnego działania ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego przed niedokrwieniem tkanki mózgowej.

Liu i wsp. (11) określali neuroochronne działanie pinocembryny (PIN), flawonoidu występującego w ekstraktach propolisowych na mózgowie szczura uszkodzonego na drodze niedokrwienia tego narządu. Zwierzętom podwiązywano środkową tętnicę mózgu (MCA) na 2 godz., podawano drogą dożylną PIN w dawkach 10 i 30 mg/kg m.c., a następnie przez 24 godz. zwierzęta reperfundowano (przywracano przepływ krwi w tętnicy mózgowej). Okazało się (ryc. 12), że podwiązanie MCA (bez leczenia) powodowało wzrost objętości martwicy niedokrwiennej



Ryc. 11. Neuroochronne działanie ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) na objętość mózgowia myszy uszkodzonego na drodze niedokrwienia tego narządu (NM) (wg 11)  
A – NM; B – WEP (30 mg/kg m.c.) + NM

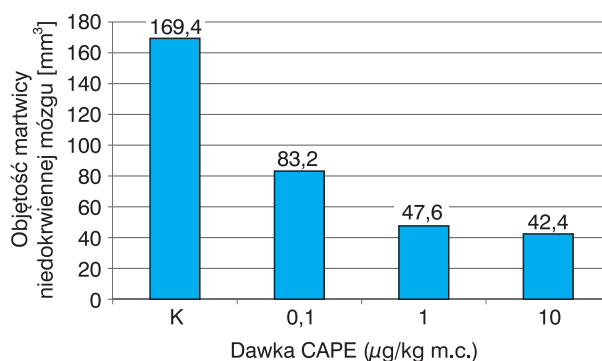




**Ryc. 12.** Neuroochronne działanie pinocembryny (PIN) na mózgowie szczura uszkodzone na drodze niedokrwienia tego narządu (NM) (wg 11)  
A – NM; B – NM + PIN (10 mg/kg m.c.); C – NM + PIN (30 mg/kg m.c.)

mózgu o 41,2% w porównaniu do zwierząt niepoddanych temu zabiegowi. Natomiast leczenie zwierząt za pomocą PIN w przypadku niższej dawki (10 mg/kg m.c.) zmniejszało objętość niedokrwiennej tkanki mózgowej o 31,3%, a w przypadku wyższej dawki (30 mg/kg m.c.) – o 51,2% w odniesieniu do tkanki mózgowej zwierząt nieleczonych. Przedstawione wyniki badań dowodzą wyraźnego neuroochronnego działania pinocembryny przed niedokrwieniem tkanki mózgowej zwierząt doświadczalnych.

W kolejnych badaniach Tsai i wsp. (12) oceniali wpływ estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na mózgowie szczura uszkodzone na drodze niedokrwienia (NM). Niedokrwienie mózgu uzyskiwano poprzez podwiązanie środkowej tętnicy mózgowej (MCH) na 1 godz. CAPE podawano dożylnie w dawkach: 0,1; 1 i 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c. zwierzętom na 15 min przed podwiązaniem MCA. Następnie przez 24 godz. prowadzono reperfundację zwierząt. Wyniki badań przedstawiono na rycinie 13. Na ich podstawie można stwierdzić, że podwiązanie MCA (bez leczenia) powoduje wzrost objętości martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej do poziomu 169,4  $\text{mm}^3$ . Leczenie zwierząt za pomocą CAPE zmniejszało objętość chorej tkanki przy dawce 0,1 mg/kg m.c. o 50,9%, przy dawce 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c. o 71,9% i przy dawce 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c. o 75,0% w porównaniu do tkanki mózgowej uszkodzonej na drodze niedokrwienia i nielezionej. Powyższe dane świadczą o silnym działaniu neuroochronnym



**Ryc. 13.** Neuroochronne działanie estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na mózgowie szczura uszkodzone na drodze niedokrwienia tego narządu (NM) (wg 12)  
K – kontrola

CAPE, który już w bardzo małych dawkach (0,1-10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  m.c.) pozwala na ochronę tkanki mózgowej przed niedokrwieniem w granicach 50,9-75,0%.

### Podsumowanie

Przedstawione w pierwszej części pracy badania farmakologiczne wyraźnie wskazują na korzystne oddziaływanie ekstraktów propolisowych i zawartych w nich składników na serce i naczynia krwionośne.

Ekstrakty propolisowe i obecne w nich składniki, takie jak ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE), artepilina oraz pinocembryna, charakteryzują się wielokierunkowym działaniem na serce i naczynia krwionośne. Cytowane wcześniej publikacje wskazują na ich bezpośrednie oddziaływanie na serce, a także działanie przeciwniedokrwienne, rozkurczające naczynia krwionośne, zapobiegające przerostowi naczyń, hamujące przepuszczalność naczyń włosowatych, obniżające ciśnienie krwi, zapobiegające kardiomiopatii oraz hipolipemiczne. W tej części pracy omówiono działanie przeciwzakrzepowe, przeciwingiogenne i zapobiegające martwicy niedokrwiennej tkanki mózgowej.

Na podstawie przedstawionych danych badań farmakologicznych można przypuszczać, że opisane właściwości ekstraktów propolisowych i wyizolowanych z nich substancji przyczynią się do zastosowania tych produktów w terapii chorób serca i naczyń krwionośnych.

### Piśmiennictwo

1. Dejanov LL, Jamovskij L, Starova A. Efekty propolisa *in vitro* na agglutinacja krowjanych płastinok. Cennyj produkt pszczelowodstwa: propolis (red. V. Harnaj). Izd Apimondii, Bucharest 1987; 104-6.
2. Hepsen IF, Er H, Cekiç O. Topically applied water extract of propolis to suppress corneal neovascularization in rabbits. *Ophthalmic Res* 1999; 31:426-31.
3. Song YS, Park E-H, Jung KJ i wsp. Inhibition of angiogenesis by propolis. *Arch Pharm Res* 2002; 25:500-4.
4. Ahn M-R, Kunimasa K, Ohta T i wsp. Suppression of tumor-induced angiogenesis by Brazilian propolis: Major component artepillin C inhibits *in vitro* tube formation and endothelial cell proliferation. *Cancer Lett* 2007; 252:235-43.
5. Izuta H, Shimazawa M, Tsumura K i wsp. Bee products prevent VEGF – induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complement Alter Med* 2009; 9:45-54.
6. Chikaraishi Y, Izuta H, Shimazawa M i wsp. Angiostatic effects of Brazilian green propolis and its chemical constituents. *Mol Natur Food Res* 2010; 54:566-75.
7. Kashavarz M, Mostafaie M, Mansouri K i wsp. Inhibition of corneal neovascularization with propolis extract. *Arch Med Res* 2009; 40:59-61.
8. Ohta T, Kunimasa K, Kobayashi T i wsp. Propolis suppresses tumor angiogenesis by inducing apoptosis in tube-forming endothelial cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2008; 72:2436-40.
9. Kunimasa K, Ahn M-R, Kobayashi T i wsp. Brazilian propolis supresses angiogenesis by inducing apoptosis in tube-forming endothelial cells trough inactivation of survival signal ERK 1/2. *Evid Based Complement Alter Med* 2011; 8:1-8.
10. Shimazawa M, Chikamatsu S, Morimoto N i wsp. Neuroprotection by Brazilian green propolis against *in vitro* and *in vivo* ischemic neuronal damage. *eCAM* 2005; 2(2):201-7.
11. Liu R, Gao M, Yang Z-H i wsp. Pinocembrin protect rat brain against oxidation and apoptosis induced by ischemia-reperfusion both *in vivo* and *in vitro*. *Brain Res* 2008; 1216:104-15.
12. Tsai S-K, Lin M-J, Liao P-H i wsp. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates cerebral infraction in rats subjected to focal cerebral ischemia. *Life Sci* 2006; 78:2758-62.

### Konflikt interesów

#### Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 17.01.2018

zaakceptowano/accepted: 26.03.2018

Adres/address:

\*prof. dr hab. n. farm. Bogdan Kędzia  
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich  
ul. Wojska Polskiego 71B, 60-630 Poznań  
tel.: +48 (61) 84-55-867  
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl