

*Bogdan Kędzia, Elżbieta Hołderna-Kędzia

Wpływ propolisu na odnowę tkanki skórnej, kostnej, chrzęstnej i zębowej

The influence of propolis on the regeneration of skin, bone, cartilaginous and tooth tissue

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań
Dyrektor Instytutu: dr hab. Małgorzata Zimmiewska, prof. IWNiRZ

SUMMARY

The research on the influence of ethanol and water extracts from propolis on the regeneration of tissues important for the organism, such as skin tissue, bone tissue, cartilaginous tissue, and tooth tissue have been conducted for over 50 years. The research literature of Polish scientists played a significant role in this respect. The research on the influence of propolis on the regeneration of skin, bone, cartilaginous and tooth tissue has been reviewed. Studies carried out on experimental animals indicate that both ethanol extracts (EEP) and aqueous extracts (WEP) from propolis are characterized by a distinct regenerating effect on the above mentioned types of tissues. There was noticed a significant acceleration of healing experimental wounds under the influence of EEP and WEP, accelerated bone tissue reconstruction as well as rapid reproduction of cartilaginous and dental tissues. In the context of the above data, it can be assumed that both EEP and WEP are characterized by a distinct, significant influence regenerating the skin, bone, cartilaginous and tooth tissues. These extracts can be successfully used in the treatment of disorders of these tissues in humans.

Keywords: propolis (ethanol and water extracts), pharmacological studies, regeneration of tissues

STRESZCZENIE

Badania nad wpływem ekstraktów etanolowych i wodnych z propolisu na odnowę ważnych dla organizmu tkanek, jak skórna, kostna, chrzęstna i zębowa, prowadzone są już od ponad 50 lat. Dużą rolę odegrały w tym względzie piśmiennictwa badawcze polskich naukowców. Dokonano przeglądu badań dotyczących wpływu propolisu na odnowę tkanki skórnej, kostnej, chrzęstnej i zębowej. Badania przeprowadzone na zwierzętach doświadczalnych wskazują, że zarówno ekstrakty etanolowe (EEP), jak i wodne (WEP) z propolisu odznaczają się wyraźnym działaniem odnawiającym na wymienione rodzaje tkanek. Stwierdzono znaczne przyspieszenie pod wpływem EEP i WEP gojenia się ran doświadczalnych, przyspieszoną odbudowę tkanki kostnej, a także szybkie odtwarzanie tkanki chrzęstnej i zębowej. W kontekście powyższych danych można przyjąć, że zarówno EEP, jak i WEP odznaczają się wyraźnym działaniem odnawiającym tkanki skórnej, kostnej, chrzęstnej i zębowej. Może to być z powodzeniem wykorzystane w leczeniu zaburzeń chorobowych tych tkanek u ludzi.

Słowa kluczowe: propolis (ekstrakty etanolowe i wodne), badania farmakologiczne, odnowa tkanek

Wstęp

Badania nad wpływem ekstraktów etanolowych i wodnych z propolisu na odnowę ważnych dla organizmu tkanek, takich jak: skórna, kostna, chrzęstna i zębowa, prowadzone są już od ponad 50 lat. Dużą rolę odegrały w tym względzie pionierskie badania polskich naukowców (1-7). Poniżej przedstawiono przegląd dokonań na tym polu do czasów współczesnych.

Działanie odnawiające tkankę skórą

W latach 60. ubiegłego stulecia badania nad wpływem propolisu na odnowę tkanki skórnej

zapoczątkowali Zaleski i wsp. (1). Za pomocą ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) leczyli oni rany wywoływane doświadczalnie u psów. Na szyi zwierząt wycinano kawałki skóry o średnicy 20 mm. U każdego z trzech psów z jednej strony szyi tworzone rany, którą leczono następnie EEP, a po drugiej stronie szyi rany kontrolną (nieleczoną). Rany leczono za pomocą 40% etanolowego roztworu EEP, smarując je raz dziennie przez 12 dni. Rany kontrolne smarowano etanolem.

Wyniki badań przedstawione w tabeli 1 wskazują, że pod wpływem EEP rany goiły się ponad 3 razy szybciej niż rany nielezione. Po 9-12 dniach średnica rany

Tab. 1. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na gojenie się ran doświadczalnych u psów (wg 1)

Dni leczenia	Średnica rany (mm)	
	rana leczona	rana nieleczona
1	20	20
2	18	19
5	12	18
7	7	16
9-12	4	14

leczonej EEP wynosiła średnio 4 mm, a nieleczonej 14 mm. Już po jednorazowym zastosowaniu EEP rany osuszały się, zablizniały na krawędziach i zmniejszały się ich rozmiary. Po 6-9 dniach były one praktycznie wygojone. Natomiast gojenie się ran kontrolnych zachodziło bardzo wolno.

Šutta i wsp. (8) oceniali działanie na rany 5% etanolowego ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP). Badania przeprowadzono na owcach, którym w znieczuleniu lokalnym wycinano po obu stronach grzbietu głębokie rany o wymiarach 4 x 4 cm. Następnie po jednej stronie wykonywano leczenie ran 5% etanolowym roztworem EEP, a po drugiej stronie stosowano zasypkę Sulfofen (zawierającą penicylinę S, surowicę zwierzęcą i sulfanilamid) lub zasypkę Framykoin (zawierającą neomycynę i sól cynkową bacytracyny). Rany leczono wymienionymi lekami przez 42 dni, podając je po 1, 2 i 4 dniach, a następnie co 4 dni. Wyniki badań zebrane w tabeli 2 wyraźnie wskazują na dużą skuteczność 5% etanolowego roztworu EEP.

Pod wpływem 5% etanolowego ekstraktu EEP wielkość ran zmniejszała się szybciej niż w przypadku zasypek Sulfofen i Framykoin. Po 16 dniach wynosiła ona odpowiednio: 3,8; 5,3 i 4,4 mm², a po 24 dniach odpowiednio: 0,9; 2,2 i 1,1 mm². Na tej podstawie można przyjąć, że 5% etanolowy roztwór EEP może być z powodzeniem używany do leczenia ran u ludzi i zwierząt.

Brodzicki (2) badał wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) w postaci aerozolu na gojenie się ran doświadczalnych u świnek morskich. Na ogolonej skórze zwierząt wykonywano nacięcia na przestrzeni ok. 1,5 cm do powięzi mięśniowej. Na rany codziennie przez okres 10 dni наносzono aerozol zawierający 3% EEP w etanolu. Kontrolę stanowił fizjologiczny roztwór NaCl.

Po 10 dniach leczenia wszystkie rany wygoiły się, a brzegi ich uległy całkowitemu zbliżeniu, tworząc bliznę. Jedynie w dwóch przypadkach nad raną obserwowano wypiętrzenie skrzepu, którego wnętrze wypełnione było ziarniną. W grupie kontrolnej wygojenie ran stwierdzono u 5 świnek morskich. Kolejne 5 zwierząt znajdowało się w trakcie gojenia ran, w tym u 2 świnek morskich w ranach stwierdzono obecność wydzieliny ropnej.

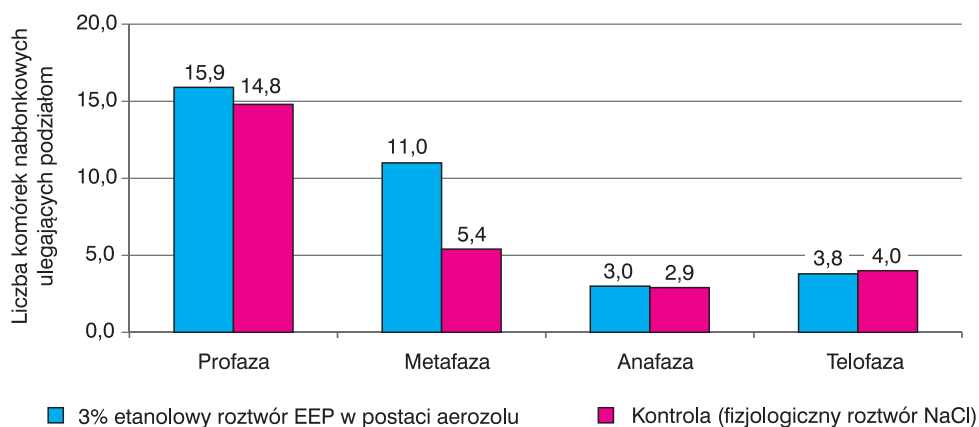
Równocześnie wykonywano badania mające na celu określenie liczby podziałów mitotycznych komórek nabłonkowych brzegów rany. Wyniki badań przedstawione na rycinie 1 wskazują, że aerozol zawierający 3% EEP stymulował aktywność mitotyczną komórek nabłonkowych. Liczba form komórek w fazie profazy wynosiła 15,9, a w formie metafazy – 11,0. Dla kontroli wartości te wynosiły odpowiednio 14,8 i 5,4. Łącznie preparat aerozolowy z 3% EEP spowodował mitozę 1104 komórek nabłonkowych, a w kontroli mitoza obejmowała 1069 komórek (o ok. 3,2% mniej). Średni procent komórek ulegających podziałom w przypadku preparatu aerozolowego z 3% EEP wynosił 3,04%, a w przypadku kontroli – 2,34 (o ok. 23% mniej). Wyniki te świadczą o intensywnym gojeniu ran pod wpływem preparatu aerozolowego zawierającego 3% etanolowego roztworu EEP.

Późniejsze badania Brodzickiego i Srebro (9) na wycinkach ran znakowanych 6-3H-tymidyną wykazały, że pod wpływem preparatu aerozolowego zawierającego 3% EEP po 5 dniach zaznaczył się wyraźny rozplam komórek tkanki łącznej, tj. fibroblastów i komórek śródbłonka. Zjawisko to wskazywało na znaczny postęp procesu ziarninowania rany. Natomiast pod wpływem fizjologicznego roztworu NaCl obserwowano

Tab. 2. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu słowackiego (EEP) na gojenie się ran doświadczalnych u owiec (wg 8)

Badane preparaty	Wielkość rany (mm ²)					
	0*	12	16	20	24	42
5% etanolowy roztwór EEP	16,0	10,5	3,8	2,3	0,9	0
Sulfofen	16,0	10,7	5,3	3,8	2,2	0,4
Framykoin	16,0	10,6	4,4	2,7	1,1	0

*Dni doświadczenia



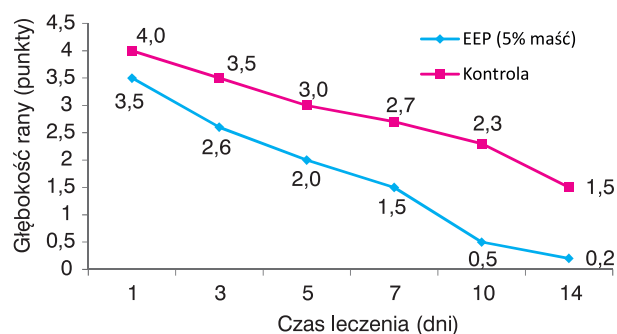
Ryc. 1. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) w postaci aerozolu na podziały mitotyczne komórek nabłonkowych brzegów rany u świnek morskich (wg 2)

w wycinkach ran pochodzących od świnek morskich jedynie namnażanie komórek epidermy i ich migrację do tkanki łącznej, co świadczyło o początkowym etapie ziarninowania.

Z kolei Stojko i wsp. (3) dowiedli, że także ekstrakt wodny z propolisu (WEP) odznacza się wyraźnym działaniem odnawiającym tkankę skórną i przyspieszającym leczenie ran. Badania przeprowadzono na psach, u których na szyi wycinano ubytki o średnicy 1 cm. Następnie na rany przykładano przymoczki sporządzone z 3% WEP 2 razy dziennie w odstępach 12-godzinnych. Ran kontrolnych nie zaopatrywano.

Badania wykazały, że po 9-10 dniach rany leczone 3% WEP uległy całkowitemu wyleczeniu, z pojawieniem się blizny. Natomiast w grupie kontrolnej po 9-10 dniach rany były jeszcze na etapie ziarninowania i ich wygląd przypominał rany zwierząt w 5. dniu leczenia ich 3% WEP. Na tej podstawie można przyjąć, że leczenie ran ekstraktem wodnym z propolisu u psów powoduje prawie dwukrotnie szybsze ich wyleczenie niż w przypadku ran nieleczonych.

Badania Arvouet-Grand i wsp. (10) dotyczyły wpływu ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) w postaci 5% maści na szybkość gojenia się głębokich ran skóry królików. Z ryciny 2 wynika, że głębokość rany u zwierząt leczonych maścią propolisową już po jednym dniu była mniejsza (3,5 punktu) w porównaniu do kontroli (zwierząt nieleczonych; 4,0 punkty). Po 7 dniach wartości te wynosiły odpowiednio 1,5 i 2,7 punktu, a po 14 dniach odpowiednio 0,2 i 1,5 punktu. Do całkowitego wyleczenia ran u królików po zastosowaniu maści zawierającej 5% EEP dochodziło w 10.-12. dniu, podczas gdy po tym czasie u zwierząt kontrolnych rany dalekie były od zagojenia. Jest to dowodem odnawiających właściwości maści propolisowej w stosunku do ran doświadczalnych.



Ryc. 2. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu belgijskiego (EEP) w postaci maści na szybkość gojenia się głębokich ran u królików (wg 10)

Obszerne badania dotyczące cytomorfologicznej i angiogennej oceny ran oparzeniowych leczonych ekstraktem etanolowym z propolisu (EEP) w postaci maści przeprowadził Czarnecki (11). Badania polegały na wywołaniu u szczurów oparzenia skóry o powierzchni 2 cm² za pomocą ogrzanego do 100°C pręta miedzianego w ciągu 12 s. Następnie część zwierząt leczono za pomocą 3% EEP w postaci maści, nakładając ją raz dziennie na rany, a część zwierząt pozostawiono bez leczenia (kontrola). Po 15 dniach pobierano od zwierząt wycinki skóry ze strefy oparzenia.

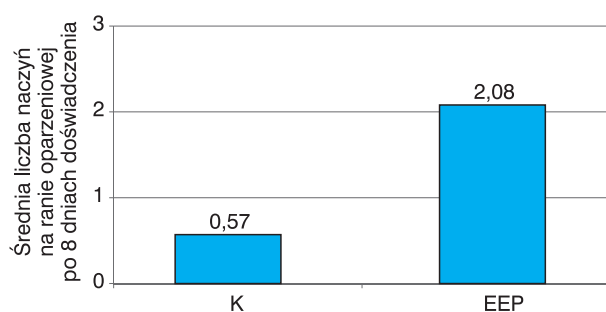
Wyniki badań zebrane w tabeli 3 wskazują na wyraźnie lepsze parametry cytomorfologiczne u zwierząt leczonych przez 15 dni 3% EEP w postaci maści. Szczególną uwagę zwraca szerokość rany u zwierząt leczonych (mniejsza o 49,4%), szerokość ziarniny (mniejsza o 42,9%), głębokość ziarniny (mniejsza o 27,1%) oraz pokrycie nabłonkiem (większe o 88,7%) w porównaniu do zwierząt kontrolnych. Pozostałe parametry cytomorfologiczne (nacieki leukocytarne, wysięki zewnętrzne, rozwój fibroblastów ziarniny, rozwój

Tab. 3. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na parametry cytomorfologiczne ran oparzeniowych u szczurów (wg 11)

Parametry morfologiczne	Grupy zwierząt po 15-dniowym eksperymencie	
	kontrolna	leczone 3% EEP (maść)
Szerokość rany (mm)	5,49	2,78
Szerokość ziarniny (mm)	6,41	3,66
Głębokość ziarniny (mm)	2,92	2,13
Pokrycie rany nabłonkiem (%)	44,2	83,4
Nacieki leukocytarne	silne	brak
Wysięki zewnętrzne	słabe	brak
Rozwój fibroblastów ziarniny	słaby	zaawansowany
Rozwój włókien kolagenowych	średni	zaawansowany
Rozwój naczyń krwionośnych w ziarninie	b. słaby	średni
Warstwa mięśniowa	częściowa odnowa	prawie pełna odnowa
Młody naskórek	ledwie widoczny	obfity
Młoda skóra właściwa	zaczątki	obfita

włókien kolagenowych, rozwój naczyń krwionośnych w ziarninie, warstwa mięśniowa, młody naskórek i młoda skóra właściwa) także wskazywały na większą odnowę tkanek zwierząt leczonych w odniesieniu do zwierząt nieleczonych.

Wpływ 3% EEP w postaci maści na angiogenezę w ranie oparzeniowej oceniano u myszy. Z ryciny 3 można zorientować się, że średnia liczba naczyń w ranie oparzeniowej po 8 dniach doświadczenia u zwierząt leczonych wynosi średnio 2,08, a u nieleczonych zaledwie 0,57. Świadczy to o prawie 3,7-krotnym wzroście sieci naczyń krwionośnych w ranie po leczeniu EEP w porównaniu do zwierząt nieleczonych.



Ryc. 3. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na angiogenezę w ranie oparzeniowej u myszy (wg 11): K – zwierzęta kontrolne (nieleczone), EEP – zwierzęta traktowane 3% EEP w postaci maści

Późniejsze badania Czarneckiego (12) wykonywane były na świnkach morskich, u których wywoływano doświadczalnie rany oparzeniowe w sposób opisany powyżej. Badania dotyczyły aktywności enzymatycznej i reakcji na RNA tkanek rany oparzeniowej, naskórka odnawiającego oraz obrazu histologicznego rany oparzeniowej.

Badania wykazały, że aktywność dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej, dehydrogenazy NADH, oksydazy cytochromu C i reakcji na RNA w nabłonku i włóknach mięśniowych rany oparzeniowej po 21-dniowym leczeniu 3% EEP w postaci maści są odpowiednio większe o 43,4 oraz 77,9% w porównaniu do tych samych fragmentów tkanek w ranie kontrolnej (tab. 4).

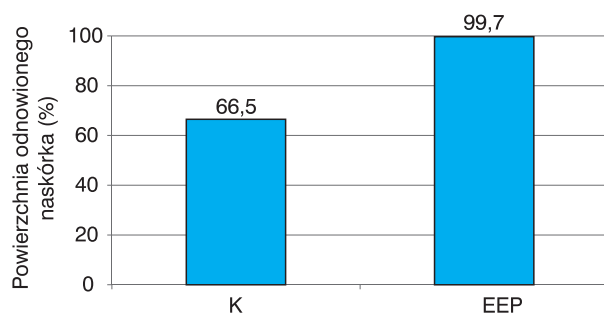
Leczenie ran oparzeniowych u świnek morskich za pomocą 3% EEP w postaci maści spowodowało wzrost o ok. 33% powierzchni naskórka odnawiającego w ranie oparzeniowej w odniesieniu do zwierząt kontrolnych (ryc. 4).

O korzystnym odnawiającym wpływie 3% EEP w postaci maści świadczy także obraz histologiczny rany oparzeniowej po 15 dniach doświadczenia (ryc. 5), w porównaniu do obrazu histologicznego rany oparzeniowej nieleczonej (ryc. 6).

Przytoczone powyżej badania na zwierzętach doświadczalnych wskazują na wyraźne odnawiające działanie ekstraktów propolisowych na uszkodzone

Tab. 4. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na aktywność enzymów utleniających i obecność RNA w wybranych elementach rany oparzeniowej u świnek morskich (wg 12)

Aktywność enzymatyczna i reakcja na RNA w tkankach rany oparzeniowej	Grupy zwierząt po 21-dniowym eksperymencie	
	kontrolna	leczone 3% EEP (maść)
Dehydrogenaza glukozy-6-fosforanowa		
– nabłonek	85,9	102,6
– włókna mięśniowe	81,4	103,7
Dehydrogenaza NADH		
– nabłonek	45,7	85,0
– włókna mięśniowe	21,5	76,8
Oksydaza cytochromu C		
– nabłonek	84,0	105,5
– włókna mięśniowe	69,7	119,9
Reakcja na RNA		
– nabłonek	101,9	146,1
– włókna mięśniowe	33,8	52,4

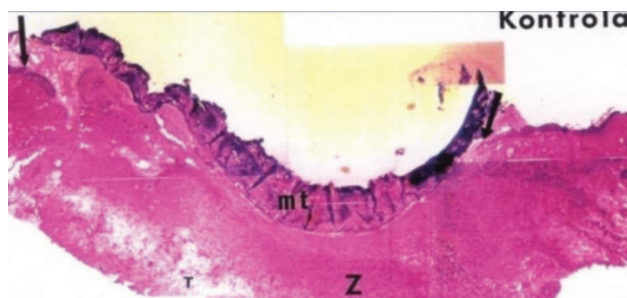


Ryc. 4. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na naskórek odnawiający w ranie oparzeniowej u świnek morskich (wg 12): K – zwierzęta kontrolne (nieleczone), EEP – zwierzęta traktowane 3% EEP w postaci maści

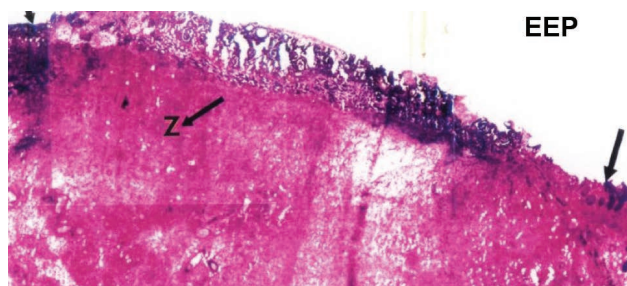
tkanki. Powodują one znacznie szybsze gojenie się ran doświadczalnych, nawet dwukrotnie w porównaniu do ran nieleczonych.

Działanie odnawiające tkankę kostną

Badania dotyczące wpływu ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na odnowę tkanki kostnej wykonane zostały przez Stojko i wsp. (4). Jako zwierząt doświadczalnych użyto psów nierasowych, u których



Ryc. 5. Obraz histologiczny skóry świnki morskiej oparzonej termicznie po 15 dniach doświadczenia (zwierzę kontrolne, nieleczone) (wg 12): widoczna głębokość rany, mierny rozwój ziarniny (Z) oraz resztki martwych tkanek (mt)



Ryc. 6. Obraz histologiczny skóry świnki morskiej oparzonej termicznie, leczonej maścią zawierającą 3% EEP po 15 dniach doświadczenia (wg 12): zwracają uwagę zamknięcie rany, zaawansowany rozwój ziarniny (Z) oraz powierzchnia rany pokryta nowym nabłonkiem

w głębokiej narkozie odślaniano trzon kości promieniowej prawej przedniej kończyny i po delikatnym odwarstwieniu okostnej, w ośrodkowej części kości nawiercano otwory o średnicy 0,5 cm leżące wzdłuż kości. Odległość pomiędzy otworami wynosiła 1 cm. Następnie jeden otwór wypełniano maścią eucerynową zawierającą 3% EEP, a drugi podłożem maściowym (kontrola). W celu przesłedzenia procesów odnowy tkanki kostnej u zwierząt nie stosowano żadnych zabiegów kinezyterapeutycznych, a także nie podawano im żadnych leków.

Efekt działania maści zawierającej 3% EEP obserwowano przez 4 tygodnie na drodze klinicznej, radiologicznej i histologicznej. Badania radiologiczne (tab. 5) wykazały, że po 2 tygodniach od założenia opatrunku z EEP ubytek kostny został prawie całkowicie wypełniony odbudowującą się tkanką kostną. Ubytek kostny był jeszcze po tym okresie czasu wyraźnie zarysowany, z widocznym odczynem ze strony okostnej zewnętrznej i wewnętrznej spowodowanym urazem mechanicznym.

Po 4 tygodniach doświadczenia ubytek kostny leczony za pomocą maści zawierającej 3% EEP został całkowicie wygojony i radiologicznie nie stwierdzono

Tab. 5. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na odnowę tkanki kostnej u psów (wg 4)

Czas leczenia (tygodnie)	Ocena procesu osteogennego metodą radiograficzną	
	kontrolna	3% EEP (maść)
2	+	++
4	++	++++

żadnej różnicy pomiędzy tkanką kostną właściwą a nowo powstałą. W tym czasie kontrolny ubytek kostny był jeszcze wyraźnie zaznaczony.

Badania histologiczne potwierdziły obserwacje radiologiczne. Preparaty wykonane z miejsc sztucznie uformowanych ubytków zwierząt doświadczalnych wykazały intensywne procesy kostnienia. Stwierdzono istnienie stadium kostniny kostnej z wyraźnymi tendencjami wapnienia. Natomiast w ubytkach kontrolnych obserwowano dopiero stadium kostniny włóknisto-chrzęstnej, poprzedzającej stadium kostniny kostnej.

Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy sugerują, że maść zawierająca EEP mogłaby służyć jako preparat przyspieszający odbudowę tkanki kostnej, jak również przeciwdziałający chorobom tej tkanki.

Działanie odnawiające tkankę chrzęstną

Badania nad wpływem ekstraktu wodnego z propolisu (WEP) na odnowę tkanki chrzęstnej u psów przeprowadzili Stojko i wsp. (5). Do eksperymentu wzięto psy nierasowe, u których dokonano ubytków tkanki chrzęstnej stawu biodrowego. Po przecięciu torebki stawowej i oddzieleniu główki kości udowej od panewki stawu biodrowego, z ich powierzchni pobrano tkankę chrzęstną o łącznej objętości 1 cm³. Zarówno ubytki, jak i staw biodrowy zaopatrywano maścią eucerynową zawierającą 3% WEP. Po zszyciu torebki stawowej i części miękkich pola operacyjnego kończynę unieruchamiano za pomocą opatrunku gipsowego obejmującego staw kolanowy i biodrowy. Zwierzęta grupy kontrolnej po pobraniu tkanki chrzęstnej nie były zaopatrywane żadną substancją. Po zabiegach zwierzęta obu grup nie były dodatkowo leczone.

Od momentu wykonania zabiegu obserwacje zwierząt prowadzono przez okres 6 tygodni. Dotyczyły one zachowania się zwierząt, procesu gojenia się ran pooperacyjnych, ustępowania kulawizny, a także kontroli radiologicznej operowanych stawów. Na koniec przeprowadzono selekcję zwierząt i wykonano badania histologiczne miejsc operacyjnych.

Na podstawie obserwacji ustalono, że kulawizna u zwierząt leczonych dostawowo maścią zawierającą 3% WEP ustępowała po 2-3 tygodniach (tab. 6), w porównaniu do zwierząt nieleczonych, u których ustępowała ona dopiero po 6 tygodniach od operacji. U zwierząt badanych znacznie szybciej przebiegło również gojenie się ran.

W obrazie sekcyjnym po 6 tygodniach doświadczenia w okolicy stawów biodrowych nie stwierdzono istotnych różnic w obu grupach. Tkanki miękkie przylegające do torebek stawowych w miejscu ich otwarcia wykazywały cechy bliznowacenia. W grupie leczonej maścią zawierającą 3% WEP powierzchnie stawowe makroskopowo nie wykazywały żadnych zmian, natomiast w grupie kontrolnej powierzchnie chrząstki stawowej były chropowate.

W preparatach histologicznych pochodzących od zwierząt leczonych WEP obserwowano zawiązki ochrzęstnej, w której różnicowały się włókna kolagenowe i sprężyste. Analogiczne wycinki pobrane ze stawów biodrowych grupy kontrolnej wykazywały obecność chrząstki włóknistej pozbawionej chondrocytów oraz unaczynionej tkanki łącznej, co wskazywało na znacznie wolniejszy przebieg odnowy tkanki chrzęstnej.

Obserwowany przebieg zdrowienia zwierząt leczonych WEP oraz wyniki badań histologicznych wskazują na utkanie tkanki chrzęstnej u tych zwierząt zbliżone do fizjologicznego. Dla porównania u zwierząt kontrolnych utkanie tkanki chrzęstnej dalekie było od takiego stanu. Fakt ten wskazuje na wyraźne działanie stymulujące ekstraktu wodnego z propolisu w odniesieniu do tkanki chrzęstnej, a także na jej odnowę.

Na podstawie powyższych badań autorzy sugerują, że ekstrakty propolisowe mogą z powodzeniem znaleźć także zastosowanie w leczeniu ubytków tkanki chrzęstnej u ludzi.

Cardile i wsp. (13) przeprowadzili badania mające na celu ocenę wpływu ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) i estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na odnowę hodowli komórek

Tab. 6. Wpływ ekstraktu wodnego z propolisu (WEP) na odnowę tkanki chrzęstnej u psów (wg 5)

Badane grupy zwierząt	Ustępowanie kulawizny u psów po odnowie tkanki chrzęstnej stawu biodrowego (tygodnie)
Kontrola (nieleczona)	6
Badana (leczona dostawowo maścią zawierającą 3% WEP)	2-3

ludzkiej chrząstki i ludzkich chondrocytów poddanych szkodliwemu działaniu interleukiny IL-1 β .

W zapalnym i deformującym zapaleniu stawów zaburzenia metabolizmu chrząstki stawowej są głównym źródłem tej choroby. Pod wpływem mediatorów zapalnych, głównie interleukiny IL-1 β , dochodzi do zaburzenia metabolizmu tkanki chrzęstnej, w tym chondrocytów, komórek tworzących tę tkankę. Wskaźnikami tych zaburzeń są m.in. tlenek azotu (NO) i glukozoaminoglukany (GAGs).

Przeprowadzone badania wskazują, że zarówno EEP, jak i CAPE wyraźnie korygują metabolizm tkanki chrzęstnej i chondrocytów (tab. 7 i 8). W przypadku tkanki chrzęstnej EEP obniżał poziom NO o 31,8% oraz poziom GAGs o 65,8%, a CAPE obniżał poziom NO o 16,5% i poziom GAGs o 66,8%. Natomiast w przypadku chondrocytów EEP obniżał poziom NO o 82,8% i podwyższał poziom GAGs o 82,9%, a CAPE obniżał poziom NO o 45,6% i podwyższał poziom GAGs o 97,9%.

Badania dowiodły, że zarówno EEP, jak i jeden z ważniejszych składników tego produktu, tj. CAPE, przeciwdziałają destrukcyjnemu działaniu interleukiny

IL-1 β i przywracają normalny metabolizm tkanki chrzęstnej. Warto zaznaczyć, że działanie odnawiające EEP i CAPE było znacznie silniejsze w porównaniu do indometacyny.

Na podstawie omówionych publikacji można przyjąć, że ekstrakty propolisowe oraz ester fenyloetylowy kwasu kawowego odznaczają się silnym działaniem odnawiającym tkankę chrzęstną.

Działanie odnawiające tkankę zębową

Badania nad odnową tkanki zębowej pod wpływem ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) przeprowadzili Ilewicz i wsp. (6). Doświadczenia wykonywano *in vivo* na psach nierasowych. W zębach szczęki i żuchwy (od 3 do 9), po stronie lewej i prawej, dokonywano ubytków o średniej i dużej głębokości, powodujących powierzchniowe i znaczne ubytki miazgi zębowej. Następnie zaopatrywano je 5% roztworem etanolowym EEP i zamykano tlenkiem cynku z olejkim bergamotowym. Oceny działania odnawiającego EEP dokonywano po 7 i 28 dniach, wykonując preparaty histologiczne z leczonych zębów.

Tab. 7. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) oraz estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na odnowę hodowli komórek ludzkiej chrząstki poddanej działaniu interleukiny IL-1 β (wg 13)

Badane substancje	Wskaźniki zaburzenia metabolizmu komórek chrząstki ludzkiej	
	NO ¹ (μ mol/l)	GAGs ² (μ mol/l)
Kontrola	6,0	17,0
Interleukina IL-1 β (10 ng/ml)	8,5	130,0
Indometacyna (10 μ mol/l) + IL-1 β	7,5	98,1
EEP (100 μ g/ml) + IL-1 β	5,8	44,5
CAPE (35 μ mol/l) + IL-1 β	7,1	43,2

¹Tlenek azotu, ²glukozoaminoglukany

Tab. 8. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) oraz estru fenyloetylowego kwasu kawowego (CAPE) na odnowę hodowli tkankowej ludzkich chondrocytów poddanej działaniu interleukiny IL-1 β (wg 13)

Badane substancje	Wskaźniki zaburzenia metabolizmu komórek chondrocytów ludzkich	
	NO ¹ (μ mol/l)	GAGs ² (μ mol/l)
Kontrola	6,5	50,9
Interleukina IL-1 β (10 ng/ml)	65,5	28,0
Indometacyna (10 μ mol/l) + IL-1 β	50,2	36,3
EEP (100 μ g/ml) + IL-1 β	11,3	51,2
CAPE (35 μ mol/l) + IL-1 β	35,6	55,4

¹Tlenek azotu, ²glukozoaminoglukany

Tab. 9. Działanie odnawiające ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) na miążgę zębową u psów (wg 6)

Obraz histologiczny miążgi zębowej u psów	Intensywność zmian miążgi zębowej po leczeniu jej 5% roztworem etanolowym (EEP)	
	7 dni	28 dni
Nacieki zapalne	+++	+
Wylewy krwawe	++	-
Odontoblasty	+++	+
Zębina wtórna	++	-
Włókna kolagenowe	-	+++
Zębina włóknista	-	+
Mineralizacja włókien kolagenowych	-	+
Nowe naczynia włosowate	-	++

Wyniki badań zebrane w tabeli 9 wskazują, że po 7 dniach leczenia w miążdze zębowej wokół ubytków stwierdzono obfite nacieki zapalne, w których występowały głównie granulocyty obojętnochłonne. W sąsiedztwie ubytków stwierdzono rozległe wylewy krwi, a także naczynia krwionośne wypełnione krwią. Odontoblasty (komórki zębinotwórcze) oraz preodontoblasty (młode komórki zębinotwórcze) ułożone były w 2-3 szeregach, niektóre z nich miały cechy zwyrodnienia wodniczkowego. Obserwowano występowanie poszerzonych pasm zębiny wtórnej. Nie znajdowano wyraźnych włókien (mostów) kolagenowych, zębiny włóknistej, mineralizacji włókien kolagenowych oraz nowych naczyń włosowatych.

Po 28 dniach od momentu wykonania ubytków i zaopatrzenia ich 5% roztworem etanolowym EEP w miążdze zębowej obserwowano tylko nieliczne nacieki drobnokomórkowe w okolicy ubytków. Nie stwierdzono wylewów krwawych i tylko nieliczne odontoblasty. Nie zauważono również obecności zębiny wtórnej. Natomiast w obrazach histologicznych zwracała uwagę duża liczba włókien kolagenowych, tworzących ciągłe mosty kolagenowe. W niektórych włóknach kolagenowych obserwowano mineralizację oraz tworzenie się bezkomórkowej zębiny włóknistej. W mostkach kolagenowych występowały fragmenty zębiny. Stwierdzono także liczne, nowe naczynia włosowate.

Pojawienie się w uszkodzonej miążdze zębowej włókien kolagenowych, ich mineralizacja i powstawanie zębiny odtwórczej świadczą o odnawiającym działaniu ekstraktu etanolowego z propolisu na tkankę zębową.

Potwierdzają to inne badania, wykonane przez Schellera i wsp. (7), Hajdaragic-Ibričević (14) oraz Bretza i wsp (15). W tej ostatniej publikacji (15) stwierdzono, że odnowa uszkodzonej miążgi zębowej pod wpływem ekstraktu etanolowego z propolisu (EEP) po 14 dniach leczenia była o 25% szybsza niż w przypadku stosowanego do tego celu wodorotlenku wapnia.

W kontekście powyższych danych można przyjąć, że ekstrakty propolisowe odznaczają się wyraźnym działaniem odnawiającym tkankę zębową u zwierząt doświadczalnych, co może być z powodzeniem wykorzystane w leczeniu chorób miążgi zębowej u ludzi.

Podsumowanie

Dokonano przeglądu badań dotyczących wpływu propolisu na odnowę tkanki skórnej, kostnej, chrzęstnej i zębowej. Badania przeprowadzone na zwierzętach doświadczalnych wskazują, że zarówno ekstrakty etanolowe (EEP), jak i wodne (WEP) z propolisu odznaczają się wyraźnym działaniem odnawiającym na wymienione rodzaje tkanek. Stwierdzono wyraźne przyspieszenie pod wpływem EEP i WEP gojenia się ran doświadczalnych, wyraźną odbudowę tkanki kostnej, a także szybkie odtwarzanie tkanki chrzęstnej i zębowej. W kontekście powyższych danych można przyjąć, że zarówno EEP, jak i WEP odznaczają się wyraźnym działaniem odnawiającym tkankę skórą, kostną, chrzęstną i zębową. Może to być z powodzeniem wykorzystane w leczeniu zaburzeń chorobowych tych tkanek u ludzi.

Piśmiennictwo

1. Zaleski W, Stojko A, Ilewicz L. Propolis pri lečenii ran u żywotnych. Weterinarija (Moskwa) 1965; 2:110-1.
2. Brodzicki S. Wpływ propolisu na gojenie ubytków skóry u świnki morskiej. V Sympozjum Apiterapii. Zagadnienia wybrane. Wyd. Polsk Zw Pszczel, Kraków-Kamianna 1986; 14-8.
3. Stojko A, Szaflarska-Stojko E, Uniejewska B i wsp. Wpływ wodnego ekstraktu z propolisu na regenerację skóry. V Symp. Apiterapii. Zagadnienia wybrane. Wyd. Polsk Zw Pszczel, Kraków-Kamianna 1986; 120-2.
4. Stojko A, Szaflarska-Stojko E, Juszko-Jasińska M i wsp. Regenerujący wpływ alkoholowego i wodnego roztworu propolisu na tkankę kostną u zwierząt. V Symp Apiterapii. Zagadnienia wybrane. Wyd. Polsk Zw Pszczel, Kraków-Kamianna 1986; 141-4.
5. Stojko A, Szaflarska-Stojko E, Juszko-Jasińska M i wsp. Wpływ wodnego ekstraktu propolisu na regenerację tkanki chrzęstnej. V Symp. Apiterapii. Zagadnienia wybrane. Wyd. Polsk Zw Pszczel, Kraków-Kamianna 1986; 145-7.
6. Ilewicz L, Luciak M, Skrobidurska D i wsp. Działanie etanolowych ekstraktów propolisu na miazgę zębową u psów. Czas Stomat 1979; 32:322-9.
7. Scheller S, Ilewicz L, Luciak M i wsp. Biological properties and clinical application of propolis. IX Experimental observation on the ethanol extract of propolis (EEP) on dental pulp regeneration. Arzheim-Forsch 1978; 28:280-91.
8. Šutta J, Hanko J, Janda J i wsp. Experimentálne a klinické skúsenosti s liečbou rán v domácich zvierat likálnou aplikáciou alkoholického roztoku propolisu. Folia Veter 1974; 18:143-7.
9. Brodzicki S, Srebro Z. Autoradiograficzne oznaczanie aktywności mitotycznej skóry myszy poddanych leczeniu propolisem. Inf Regionaln Zrzesz Pszczel Apipol 1987; 7:9-11.
10. Arvouet-Grand A, Lejewne B, Bestide P i wsp. Extrait de propolis: II Etude de la cicartisation de plaies chez le lapin et chez le rat. J Pharm Belg 1993; 48:171-8.
11. Czarnecki R. Farmakologia propolisu. Ocena dermatologiczna, histologiczna, cytomorfologiczna i histoenzymatyczna. Opracowanie dla firmy Apipol-Farma w Myślenicach, Kraków 1992.
12. Czarnecki R. Badania farmakologiczne. W: Dokumentacja badań technologicznych, analitycznych i farmakologicznych preparatu Scaldex. Inst Rośl i Przetw Ziel, Poznań 1998.
13. Cardile V, Panico A, Gentile B i wsp. Effect of propolis on human cartilage and chondrocytes. Life Sci 2003; 73:1027-35.
14. Hajdaragic-Ibričević H. Efekti propolisa na reparacione procese pulpe i histološka analiza pulpe 28 dana nakon njenog artefijelnog otvaranja i prekrivanja propolisom. Stomatol Vjesn 1983; 3-4:111-4.
15. Bretz WA, Chiego DJ, Marcucci MC i wsp. Preliminary report on the effects of propolis on wound healing in the dental pulp. Z Naturforsch 1998; 53C:1045-8.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 17.01.2018

zaakceptowano/accepted: 12.03.2018

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) 845-58-67
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl