

## SUPLEMENTACJA PROPOLISEM A ZMIANY W METABOLIZMIE TLENOWYM KRWINEK PŁYTKOWYCH EKSPONOWANYCH NA PROMIENIOWANIE ELEKTROMAGNETYCZNE

Gabriela Henrykowska <sup>1)</sup>, Maria Dziedziczak-Buczyńska <sup>1)</sup>, Jacek Buczyński <sup>1)</sup>, Włodzimierz Ziółkowski <sup>2)</sup>,  
Andrzej Buczyński <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Zakład Epidemiologii i Zdrowia Publicznego, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

<sup>2)</sup> Wyższa Szkoła Informatyki i Umiejętności w Łodzi

### STRESZCZENIE

**Wstęp.** Promieniowanie elektromagnetyczne (PEM) działające na organizmy żywe może być źródłem stresu oksydacyjnego. Brak odpowiedniej kompensacji przez białka obrony antyoksydacyjnej prowadzi do niekontrolowanego wzrostu reaktywnych form tlenu, co może być przyczyną wielu chorób. Liczne badania naukowe wykazały, że propolis posiada wiele cennych leczniczo właściwości: działa przeciwbakteryjnie, przeciwzapalnie, antyutleniająco, ochronnie na mięsz ą wątroby i przeciwnowotworowo. Jednak wyniki badań dotyczące zdolności antyoksydacyjnych nie są jednoznaczne i wymagają dalszych badań i analiz.

**Cel pracy.** Określenie wpływu suplementacji propolisem na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w krwinkach płytkowych eksponowanych na promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez monitory LCD.

**Materiał i metody.** Materiał stanowiła zawiesina ludzkich płytek krwi. 7% roztwór propolisu dodawany był do preparatu krwinkowego przed ekspozycją na PEM o częstotliwości 1 kHz i natężeniu składowej elektrycznej 220 V/m (odpowiadającemu odległości 15 cm od monitora) przez 60 min. Przed ekspozycją jak i bezpośrednio po niej, określano aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oraz stężenie dialdehydu malonowego i oceniano względem próby kontrolnej, którą stanowił materiał nie poddany ekspozycji PEM.

**Wyniki.** Promieniowanie elektromagnetyczne powodowało istotny statystycznie spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w stosunku do grupy odniesienia niezależnie od suplementacji propolisem. We wszystkich grupach badanych odnotowano minimalny wzrost stężenia dialdehydu malonowego w porównaniu do wartości wyjściowych, jednak nie były to różnice istotne statystycznie.

**Wnioski.** Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że analizowane promieniowanie elektromagnetyczne powoduje niekorzystne zmiany w zakresie aktywności jednego z enzymów obrony antyoksydacyjnej – dysmutazy ponadtlenkowej (SOD – 1) oraz niewielkie nasilenie peroksydacji lipidów, czego wyrazem jest wzrost stężenia dialdehydu malonowego (MDA). Suplementacja 7% roztworem propolisu nie jest wystarczającą ochroną przed negatywnym działaniem PEM. Istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku oraz określenie zachowania się innych enzymów antyoksydacyjnych.

**Słowa kluczowe:** promieniowanie elektromagnetyczne, monitory LCD, propolis, układ antyoksydacyjny wewnątrzkomórkowy, krwinki płytkowe.

### ARTICLE INFO

PolHypRes 2015 Vol. 50 Issue 1 pp. 61 – 68

ISSN: 1734-7009 eISSN: 2084-0535

DOI: 10.1515/phr-2015-0006

Strony: 8, rysunki: 2, tabele: 0

page www of the periodical: www.phr.net.pl

Typ artykułu: oryginalny

Termin nadesłania: 14.12.2014r.

Termin zatwierdzenia do druku: 15.01.2015r

### Publisher

Polish Hyperbaric Medicine and Technology Society

## WSTĘP

Człowiek od zarania dziejów wykorzystywał produkty będące wynikiem pracy pszczół. Propolis, zwany także kitem pszczelim, jest kleistym, żywicznym, termoplastycznym materiałem.

Surowiec kitu pszczelego przynoszony jest do ula w postaci kropli żywicy umieszczonej w koszykach odnóży pszczół lotnych, a następnie przeżuwany przez pszczoły stacjonarne, które modyfikują jego skład wydzieliną gruczołów ślinowych i woskowych zwiększając w ten sposób jego aktywność farmakologiczną [1].

Skład propolisu jest niezwykle złożony. Zawiera on około 300 różnych substancji chemicznych. Głównymi jego składnikami są: związki fenolowe - ok. 58%, wosk pszczeli - ok. 24%, flawonoidy - ok. 6%, olejki eteryczne, substancje lipidowo-woskowe, biopierwiastki, witaminy (A, B2, B6, C, D, E, kwas nikotynowy, kwas pantotenowy), białka, enzymy, aminokwasy [1, 2].

Propolis wykazuje wiele cech farmaceutycznych, takich jak właściwości przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwzapalne, hepatoprotekcyjne, immunostymulujące, przeciwnowo-tworowe, cytostatyczne oraz antyutleniające [3,4,5].

Promieniowanie elektromagnetyczne (PEM) jest obecne w środowisku człowieka od wielu lat. Jako czynnik środowiskowy może zarówno pozytywnie jak i negatywnie wpływać na organizm ludzki, dlatego też jest wciąż aktualnym przedmiotem badań. PEM działające na organizmy żywe może być źródłem stresu oksydacyjnego [6].

Brak odpowiedniej kompensacji przez białka obrony antyoksydacyjnej prowadzi do nie kontrolowanego wzrostu reaktywnych form tlenu i może być przyczyną wielu chorób uznanych jako wolnorodnikowe (jak choroby układu krążenia, miażdżyca, cukrzyca, nowotwory)[7,8].

Środkami wspomagającymi i chroniącymi przed szkodliwymi zmianami wolnorodnikowymi mogą być żywność i preparaty pochodzenia roślinnego, będące bogatym źródłem zarówno substancji odżywczych jak i związków o działaniu przeciwutleniającym oraz zmiatającym wolne rodniki.

Właściwości antyoksydacyjne propolisu badane były wielokrotnie przez różnych autorów, jednak wyniki tych badań nie są jednoznaczne [4,5,9]. Jest niewiele doniesień o wzajemnym oddziaływaniu propolisu i promieniowania elektromagnetycznego, w aspekcie działań profilaktyczno-leczniczych.

## CEL

Celem pracy było określenie wpływu suplementacji propolisem na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w krwinkach płytkowych ekspozowanych na promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez monitory LCD.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiła zawiesina ludzkich krwinek płytkowych w stężeniu  $10^9/\text{cm}^3$ . Pozyskana została na drodze manualnej aferezy z krwi pełnej od honorowych dawców krwi, którym przeprowadzono badania internistyczne, a krew poddano stosownym badaniom laboratoryjnym.

Preparat bogato krwinkowy transportowano do laboratorium w pojemniku wykonanym z blachy transformatorowej, która ekranowała materiał badawczy przed polem elektromagnetycznym z otoczenia.

Materiał badawczy został poddany działaniu promieniowania elektromagnetycznego o częstotliwości 1 kHz i natężeniu składowej elektrycznej 220 V/m, co odpowiadało 15 cm odległości od monitora. Czas ekspozycji wynosił 60 min.

Źródłem pola elektromagnetycznego był kondensator płaski utworzony przez dwie koliste płyty miedziane umieszczone nad i pod wspornikiem z tworzywa sztucznego.

Na elektrody kondensatora, pomiędzy którymi umieszczono próbówki z materiałem badawczym podano napięcie ze wzmacniacza separującego. Do wejścia wzmacniacza dołączono natomiast generator sygnałów arbitralnych typu 8010 firmy HAMEG wytwarzający sygnał napięciowy o przebiegu zgodnym z przebiegiem składowej elektrycznej pola emitowanego przez monitor LCD.

Pomiaru wartości natężenia składowej elektrycznej pola dokonano elektrometrem typu EF100 firmy TRACER.

W obrocie farmakopealnym wykorzystuje się etanolowe roztwory propolisu o stężeniach 3%, 7% i 10%. Do badań własnych użyto 7% etanolowy roztwór propolisu, który był dodawany do preparatu płytek krwi zgodnie z poniższym schematem:

Grupa odniesienia: zawiesina krwinek płytkowych-grupy badane:

- zawiesina krwinek płytkowych + roztwór propolisu,
- zawiesina krwinek płytkowych + 60- minutowa ekspozycja na PEM
- zawiesina krwinek płytkowych + roztwór propolisu + 60-minutowa ekspozycja na PEM

Na  $1\text{ cm}^3$  preparatu krwinkowego przypadają 1,365  $\mu\text{l}$  etanolowego roztworu propolisu (0,079 mg propolisu). Ilość została wyliczona na podstawie farmakopealnego roztworu propolisu o stężeniu 7%, który przyjmuje się doustnie w jednorazowej dawce równej 7,5 ml na dobę (tj. 58 mg propolisu/ml).

Przyjęto, że po ustrojowym wchłonięciu wartość ta będzie się odnosić do objętości 5,5 litra krwi.

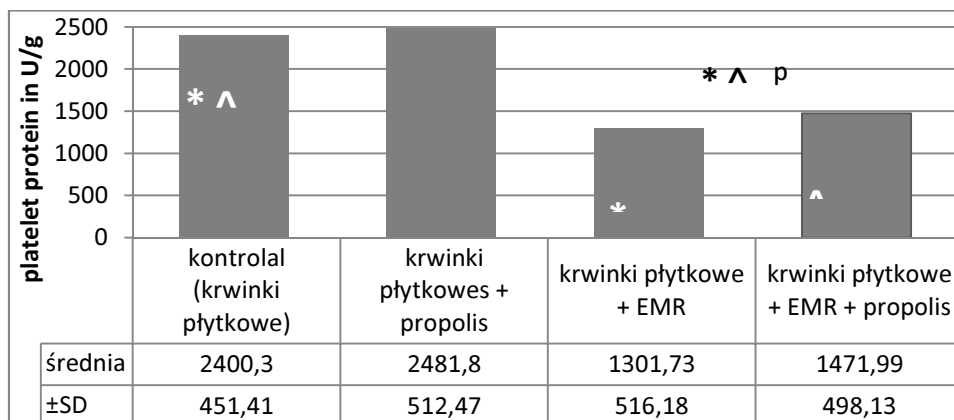
Przed ekspozycją na PEM jak i bezpośrednio po niej, określano aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD-1) oraz stężenie dialdehydu malonowego (MDA), a uzyskane wyniki oceniano względem próby odniesienia, którą stanowił materiał nie poddany ekspozycji PEM ani działaniu propolisu.

Aktywność SOD-1 oraz stężenie MDA oznaczano także w grupie nie ekspozowanej na PEM, ale podanej działaniu propolisu. Pomiaru dokonano przy pomocy spektrofotometru typu CARY 100 BIO firmy VARIAN. Każde oznaczenie wykonywano na 24 próbkach. Całość uzyskanych badań poddano analizie statystycznej.

## WYNIKI

Promieniowanie elektromagnetyczne o natężeniu 1 kHz i składowej elektrycznej 220 V/m powodowało w eksponowanych krwinkach płytkowych istotny statystycznie spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w stosunku do grupy kontrolnej z wartości  $x=2400,3$  do  $x=1301,73$  U/g białka płytkowego.

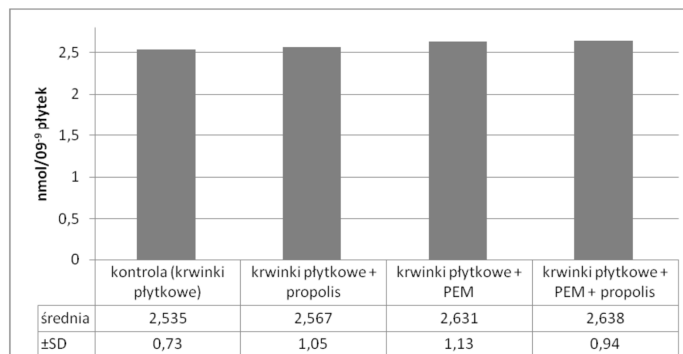
Zastosowanie roztworu propolisu przed ekspozycją na promieniowanie elektromagnetyczne nie zahamowało spadku aktywności tego enzymu. Zaobserwowano jednak zmiany pomiędzy grupą eksponowaną na PEM a grupą suplementowaną propolisem i eksponowaną na promieniowanie elektromagnetyczne. W pierwszej z nich odnotowano spadek aktywności SOD-1 o 45,77%, natomiast w drugiej tylko o 38,68% w stosunku do grupy kontrolnej. (ryc. 1).



Rys 1. Aktywność enzymatyczna dysmutazy ponadtlenkowej w krwinkach płytkowych eksponowanych na działanie promieniowania elektromagnetycznego i propolisu.

We wszystkich grupach badanych odnotowano nie istotny statystycznie wzrost stężenia dialdehydu malonowego w porównaniu do wartości wyjściowych. Zarówno sama ekspozycja na promieniowanie elektromagnetyczne jak i suplementacja propolisem powodowały zwiększenie stężenia MDA.

Najwyższe wartości stężenia dialdehydu malonowego, w porównaniu do wartości wyjściowych, odnotowano w grupie suplementowanej propolisem, którą poddano działaniu PEM (ryc. 2).



Rys. 2. Stężenie dialdehydu malonowego w krwinkach płytkowych eksponowanych na działanie promieniowania elektromagnetycznego i propolisu.

## DYSKUSJA

Dynamiczny rozwój nauk farmakologicznych umożliwił dokładniejsze poznanie właściwości i składu chemicznego kitu pszczelego, będącego naturalnym produktem pochodzącym z roślin i zbieranym przez pszczoły miodne.

Propolis podawany jest w celach profilaktyczno-leczniczych w formie roztworu etanolowego lub tabletek. Dawkowanie nie jest jednoznacznie określone. Również metabolizm w organizmie człowieka nie jest dokładnie poznany i opisany. Jednak cały czas trwają prace nad standaryzacją substancji biologicznie czynnych zawartych w propolisie.

Wiadomym jest, że jego ekstrakty posiadają właściwości: przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe, przeciwzapalne oraz przeciwnowotworowe [2,10]. Ponadto wykazano, że w skład kitu pszczelego wchodzi polifenolowe substancje zawierające między innymi flawonoidy oraz kwas cynamonowy [10].

Działanie antyoksydacyjne propolisu związane są z obecnością w jego składzie właśnie licznych związków fenolowych. Jeden z nich - ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE) jest naturalnym inhibitorem NF-kappaB posiadającym właściwości przeciwnowotworowe [10,11].

Stwierdzono liniową zależność pomiędzy całkowitą zawartością polifenoli i flawonoidów w badanych próbkach propolisu a aktywnością antyoksydacyjną [12,13].

Inni autorzy donoszą, że propolis posiada zdolności zmiatania wolnych rodników w reakcji ze stabilnym rodnikiem 1,1-difenylo-2-pikrylohydra-zylowym (DPPH) [14,15] Serra Bonvehi i Ventura Coll wykazali aktywność propolisu wobec nadtlenu alkilowego, który posiada działanie bakteriobójcze.

Dodanie propolisu do mieszaniny reakcyjnej powodowało w konsekwencji wzrost bakterii na płytkach [16]. Mika i Tynka zaobserwowały, że etanolowy wyciąg propolisowy ma działanie bakteriobójcze na bakterie gramujemne i gramodatnie, zarówno po 24- jak i po 48- godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C. eliminowania z organizmu metali szkodliwych dla zdrowia, szczególnie metali ciężkich.

Za działanie to odpowiedzialne są przede wszystkim związki flawonoidowe występujące w tych produktach, które tworzą z metalami połączenia rozpuszczalne w wodzie (chelaty) i w ten sposób usuwają je z organizmu [18].

Badano również wpływ propolisu na peroksydację lipidów w mikrosomach wątrobowych szczura. Propolis w sposób zależny od dawki hamował utlenianie kwasów tłuszczowych [19]. Propolis wpływa również na powstawanie wolnych rodników. Wykazano jego działanie hamujące na oksydazę ksantynową, która utlenia ksantyny do kwasu moczowego [20] co powoduje powstanie anionorodnika ponadtlenkowego.

W badaniach własnych obserwowano minimalny wzrost stężenia dialdehydu malonowego, będącego markerem peroksydacji błon komórkowych, w krwinkach płytkowych ekspozowanych na promieniowanie elektromagnetyczne. Dodanie propolisu do materiału badawczego powodowało dalszy wzrost stężenia MDA.

Lewicka i wsp. zaobserwowali, że pod wpływem promieniowania elektromagnetycznego generowanego przez monitory LCD, w krwinkach płytkowych zachodzi proces niekontrolowanego wytwarzania reaktywnych form tlenu z równoczesnym spadkiem aktywności dysmutazy ponadtlenkowej [21].

Koyu i wsp. wykazali, że ester fenyletoylowy kwasu kawowego (CAPE) indukował zmiany w wątrobach szczurów, ekspozowanych na promieniowanie elektromagnetyczne o natężeniu 900 MHz, poprzez wzmocnienie obrony antyoksydacyjnej przejawiającej się redukcją reaktywnych form tlenu oraz wzrostem aktywności SOD-1 [22]. W badaniach własnych PEM intensywnie obniżało aktywność enzymatyczną dysmutazy ponadtlenkowej w krwinkach płytkowych. Dodanie propolisu w niewielkim zakresie modyfikowało aktywność układu antyoksydacyjnego ale nie zapobiegało indukowanemu zmianom wolnorodnikowym.

Liczne badania dowiodły, że zmiany spowodowane działaniem pola elektromagnetycznego na poziomie komórkowym mogą powodować problemy zdrowotne organizmu jako całości. Najbardziej na działanie tego czynnika narażone są: układ krążenia, układ nerwowy, układ wydzielania wewnętrznego i układ limfatyczny [7,23].

Wykazanie właściwości antyoksydacyjnych propolisu w organizmie człowieka umożliwiłoby ewentualne wykorzystanie go w celach profilaktycznych, np.: do zmniejszenia wpływu stresu oksydacyjnego wywołanego promieniowaniem elektromagnetycznym działającym na organizm ludzki. Istotnym zatem wydaje się prowadzenie dalszych badań i poszukiwanie skutecznych antyoksydantów wspierających organizm ludzki.

## WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają na stwierdzenie, że analizowane promieniowanie elektromagnetyczne powoduje niekorzystne zmiany w aktywności jednego z enzymów obrony antyoksydacyjnej – dysmutazy ponadtlenkowej. Natomiast propolis w formie stałej, nieoczyszczonej, nie wykazuje takich właściwości [17].

Zaobserwowano także niewielkie nasilenie peroksydacji lipidów, czego wyrazem jest wzrost stężenia dialdehydu malonowego. Jednak między otrzymanymi wartościami nie było zależności istotnych statystycznie.

Suplementacja 7% roztworem propolisu nie jest wystarczającą ochroną przed negatywnym działaniem promieniowania elektromagnetycznego emitowanego z odległości 15 cm przez monitory ekranowe.

Istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań w tym kierunku oraz określenie zachowania się innych enzymów antyoksydacyjnych.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tichonov A. I. i wsp. Teoria i praktyka wytwarzania leczniczych preparatów propolisowych. Apipol-Farma, Myślenice, 2004.
2. Kędzia B., Hołoderna-Kędzia E.: Skład chemiczny propolisu w świetle dotychczasowych badań. *Herba Pol.*, 1991, XXXVIII, 2, 95-110
3. Kwakman PHS. i wsp: How honey kills bacteria, *The FASEB Journal*, 2010, 24, 2576-2582
4. Castaldo S., Capasso F.: Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 2002, 73, Suppl.1, S1-S6
5. Ozguner F, Bardak Y, Comlekci S. Protective effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester against retinal oxidative stress in long-term use of mobile phone: a comparative study. *Mol Cell Biochem*. 2006 Jan;282(1-2):83-8.
6. Balci M, Namuslu M, Devrim E, Durak I. Effects of computer monitor-emitted radiation on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens from rats. *Molecular Vision* 2009; 15: 2521-2525.
7. Canseven A.G., Coskun S., Seyhan N., Effects of various extremely low frequency magnetic fields on the free radical processes, natural antioxidant system and respiratory burst system activities in the heart and liver tissues. *Indian. J. Biochem. Biophys.* 2008, Oct. 45(5): 326-31
8. Röööli M, Egger M, Pfluger D, Minder C. Cardiovascular mortality and exposure to extremely low frequency magnetic fields: a cohort study of Swiss railway workers. *Environ. Health.* 2008; Jul 1;7: 35
9. Bankowa V.: Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *J Ethnopharmacol.*, 2005, 100, 114-117
10. Nakajima Y., Shimazawa M., Mishima S., Hara H. Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions. *Life Sci*. 2007; 80: 370-377.
11. Demestre M i wsp. CAPE (caffeic acid phenethyl ester)-based propolis extract (Bio 30) suppresses the growth of human neurofibromatosis (NF) tumor xenografts in mice. *Phytother Res* 2009; 23: 226-230.
12. Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T.: Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem*, 2004, 84, 329-339.
13. Li-Chang Lu, Yue-Wen Chen, Cheng-Chun Chou. Antibacterial and DPPH free radical scavenging activities of the ethanol extract of propolis collected in Taiwan. *J. Food Drug Anal.*, 2003, Vol. 11, no 4, 277-282 J.
14. Shimizu K., Ashida H., Matsuura Y., Kanazawa K.: Antioxidative bioavailability of artemisin C in Brazilian propolis. *Arch. Biochem. Biophys.* 2004, 424, 181-188
15. Capucho C, Sette R, de Souza Predes F, de Castro Monteiro J, Pigoso AA, Barbieri R, Dolder MA, Severi-Aguiar GD. Green Brazilian propolis effects on sperm count and epididymis morphology and oxidative stress. *Food Chem Toxicol.* 2012 Nov;50(11):3956-62.
16. Serra Bonvehi J., Ventura Coll F.: Study on Propolis Quality from China and Uruguay. *Z. Naturforsch.* 2000, 55c, 778-784
17. Mika B. Tynka B. Porównanie bakteriobójczego działania różnych typów miodów i propolisu na bakterie gramodatnie i gramujemne. Źródło internetowe: [https://kbs.ise.polsl.pl/skn/wp-content/.../Mika\\_Tynka-artykuł.pdf](https://kbs.ise.polsl.pl/skn/wp-content/.../Mika_Tynka-artykuł.pdf)
18. Kędzia B, Hołoderna-Kędzia E. Uzuwanie metali szkodliwych dla zdrowia z organizmu za pomocą produktów pszczelich. *Herba polonica*, 2009, 55,1: 95-108
19. Shinohara R., Ohta Y., Hayashi T., Ikeno T.: Evaluation of antilipid peroxidative action of propolis ethanol extract. *Phytother. Res.*, 2002, 16, 340-347

20. Russo A., Longo R., Vanella A.: Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*, 2002, 73, Suppl 1, 21- 29
21. Lewicka M. i wsp. Zmiany aktywności dysmutazy ponadtlenkowej w krwinkach płytkowych ekspozowanych na promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez monitory LCD – badania in vitro. *Kwart. Ortop.* 2011, 1, 31-37
22. Koyu A. Ozguner F, Yilmaz H. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health.* 2009 Jul;25(6):429-34
23. Buczyński A., Pacholski K., Dziedziczak-Buczyńska M., Lewicka M., Henrykowska G.; Zmiany generacji wolnych rodników w krwinkach płytkowych ekspozowanych na promieniowanie elektromagnetyczne emitowane przez monitory ekranowe, *Polish Hyperbaric Research* Nr 1 (30), 2010, 35-41.

**dr n. med. Gabriela Henrykowska**  
Zakład Epidemiologii i Zdrowia Publicznego,  
Uniwersytet Medyczny w Łodzi  
gabriela.henrykowska@umed.lodz.pl