Zborník z konferencie

MEDICÍNSKE VYUŽITIE VČELÍCH PRODUKTOV

Ústav zoológie SAV
2015

ÚSTAV ZOOLÓGIE SAV

MEDICÍNSKE VYUŽITIE VČELÍCH PRODUKTOV

Zborník príspevkov z konferencie

2015

Editor

Ing. Juraj Majtán, PhD.

Recenzenti

RNDr. Jaroslav Klaudíny, CSc.

Chemický ústav SAV, Bratislava

RNDr. Tatiana Čermáková

Ústav včelárstva, Liptovský Hrádok

Graficky a technicky upravil

Mgr. Marcela Bučeková

Fotografie na obálke

RNDr. Ivana Valachová, PhD.

Rozsah 58 strán C5

Náklad 100 kusov

Monotematická publikácia bola vydaná ako súčasť konferencie *Medicínske využitie včelích produktov*, konanej v Bratislave dňa 3.10.2015 za úzkej spolupráce Ústavu zoológie SAV a Slovenskej apiterapeutickej spoločnosti. Táto publikácia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0115-11.

ISBN 978-80-970326-7-8

Tlač

Štatistické a evidenčné vydavateľstvo tlačív, a.s., Bratislava

Vydavateľ

© 2015 Ústav zoológie SAV, Dubravská cesta 9, 845 06 Bratislava

Obsah

Úvod	4
Priaznivé účinky včelieho peľu pri niektorých ochoreniach	5
Nové možnosti hodnotenia pravosti a kvality medu	9
Lokálny vplyv včelieho medu pri hojení rán	21
Použitie medicínskeho medu a včelích produktov v podologickej praxi	38
Použitie včelieho medu v oftalmológii	49
Možnosti eliminácie biofilmu v chronických ranách manuka medom	56

ÚVOD

Vážené kolegyne, vážení kolegovia, milí priatelia včelári,
v mene Ústavu zoológie SAV a Slovenskej apiterapeutickej spoločnosti Vám ďakujem za účasť na konferencii venovanej včelím produktom a ich medicínskemu využitiu. Už aj na Slovensku môžeme pozorovať rastúci záujem pacientov a lekárskej komunity o apiterapiu. S veľkým potešením sme privítali záujem lekárskej obce prezentovať svoje výsledky z dlhoročnej praxe využitia včelích produktov v modernej medicíne na tejto konferencii. Príspevky sa dotýkajú rôznych aspektov využitia včelích produktov, najmä včelieho medu a ich vplyv na liečbu niektorých ochorení ako aj kvality včelích produktov, ktoré sú používané na terapeutické účely.
Ďakujeme Agentúre na podporu výskumu a vývoja (APVV) za finančnú podporu klinického výskumu v oblasti apiterapie.
Sme presvedčení, že prednášky prezentované na konferencii zaujali jej účastníkov a zaujmú aj čitateľov tohto zborníka a obohatia každého o nové informácie z oblasti využitia včelích produktov v medicíne.

Ing. Juraj Majtán, PhD.
Editor

PRIAZNIVÉ ÚČINKY VČELIEHO PEĽU PRI NIEKTORÝCH OCHORENIACH

Beneficial effects of bee pollen in treatment at some diseases

Štefan Košlík, natmed@unlp.sk, *Ambulancia naturálnej medicíny Univerzitnej nemocnice L. Pasteura, Košice*

Všetky problémy, ktoré človek má vo väčšej, či menšej miere súvisia s tým, že nedodržuje zákony prírody. Základným zmyslom prírodných zákonov je udržiavanie prirodzenej rovnováhy, či harmónie. Žiaľ, musíme priznať, že túto rovnováhu na úrovni ľudského organizmu narušujeme aj neprimeraným, nadmerným užívaním niektorých liekov - najmä tých umelo, chemicky vyrobených. Tieto obyčajne majú silné a rýchlo nastupujúce účinky a preto sú v akútnych prípadoch veľmi užitočné. Pri ich dlhodobom užívaní, teda v chronických prípadoch, ktoré dnes tvoria v rozvinutých krajinách 90 %, však často prevažujú ich negatívne vedľajšie účinky. A v týchto prípadoch majú veľký význam prirodzené, prírodné látky a to hlavne liečivé rastliny a včelie produkty. Ich účinok je v porovnaní s modernými, chemicky vyrobeným i liekmi síce obyčajne miernejší a nastupuje pomalšie, ale zato je trvalejší a komplexnejší a pritom ich negatívne vedľajšie účinky sú oveľa zriedkavejšie a miernejšie.

Jedným z mimoriadnych darov prírody aj z hľadiska zdravia je včelí peľ (v.p.). Ide o hrudky – obnôžky o veľkosti 1,5 až 2,5 mm, ktoré včely pomocou výlučkov svojich žliaz a nektáru formujú zo zrniečok rastlinného (kvetného) peľu, ktorých veľkosť je desaťtisíciny až tisíciny mm. V.p. je ideálnou potravou nielen pre včely, ale ako to dokazujú dokumenty zo starého Egypta, Babylonu a Číny, aj pre ľudí. Táto biologicky nesmierne cenná látka totiž obsahuje všetky látky potrebné k výžive človeka. Konkrétne okrem vody obsahuje bielkoviny, amidy, aminokyseliny, jednoduché a zložité cukry, tuky, mastné kyseliny, enzýmy, hormóny, vitamíny a minerálne látky. Z hľadiska zdravia je významná skutočnosť, že tuky pozostávajú v 43 % z tzv. esenciálnych mastných kyselín - linolovej,

linolénovej a arachidónovej. Mimoriadne bohato sú vo v.p. zastúpené esenciálne aminokyseliny, pričom 100 g zmesného v.p. prakticky u všetkých z nich pokrýva ich dennú potrebu. Preto v.p. možno nazvať ideálnou potravou. A pokiaľ sa týka možnosti použitia v.p. pri chorobných stavoch, tento môže teoreticky pomôcť dvojakým spôsobom: (i) jednak dodá organizmu určité potrebné látky, ktoré mu chýbajú, (ii) jednak prispieva k zneškodneniu škodlivých látok, ktoré v organizme vznikli, alebo sa do neho dostali zvonka. Pre posledne menovanú schopnosť sa v.p. zvykne označovať aj ako generálny detoxikátor, čiže zneškodňovač jedov. O konkrétnych pozitívnych účinkoch v.p. pri rôznych chorobách sa možno dočítať v rôznych včelárskych časopisoch, ale aj v odbornej medicínskej literatúre. Vymenovanie chorôb, pri ktorých v.p. pomohol, by prekročilo rámec tejto prednášky, preto sa stručne zmienim iba o niektorých vlastných skúsenostiach. Skúmaním priaznivých účinkov v.p. som sa začal zaoberať pred takmer 40 rokmi. V.p. sme podávali v prirodzenom stave v dennej dávke 2x1 mokka lyžička (t.j. cca 2x2,5 g) a to intermitentne, pričom po období užívania (najčastejšie 2 týždne) nasledovala vždy prestávka (najčastejšie 1 týždeň). Zmeny hodnôt vyšetrovaných parametrov boli vyhodnotené Studentovým t-testom. Nakoľko som predpokladal najmä pozitívny zásah v.p. do látkovej premeny, už v r.1977 som začal skúmať účinky v.p. u pacientov s chronickou obličkovou nedostatočnosťou zaradených do dlhodobého hemo-dialyzačného programu (DHP).U nich sú totiž laboratórne známky poruchy evidentné. V prvej časti tejto štúdie bolo najnápadnejším nálezom zistenie, že pri užívaní v.p. progresívne a štatisticky významne klesala plazmatická hladina triglyceridov a kyseliny močovej. Ako vieme, vysoké plazmatické hodnoty týchto látok okrem iného významne prispievajú k rozvoju artériosklerózy a tá je jedným z významných faktorov prežívania aj pacientov v DHP. O pozitívnom účinku v.p. na obličkové funkcie svedčí zistenie, že pri troch rôznych dávkovacích schémach došlo k štatisticky významnému poklesu plazmatickej hladiny močoviny, kreatinínu a fosforu a že u malej skupiny pacientov sa po jednom týždni užívania v.p. zvýšila diuréza, kreatinúria a glomerulárna filtrácia. Pre

pozitívny zásah do imunity pacientov v DHP môže svedčiť zistenie, že pri užívaní v.p. došlo k štatisticky významnému zvýšeniu plazmatickej koncentrácie celkových bielkovín, albumínu a imunoglobulínu G. Nepriamo môžeme za pozitívny účinok v.p. na endokrinné funkcie pokladať zistenie, že u 6 pacientov v DHP došlo pri užívaní v.p. k štatisticky významnému zvýšeniu subnormálnej plazmatickej hodnoty tyroxínu.

V rámci riešenia rezortnej výskumnej úlohy Ministerstva zdravotníctva (v rokoch1985-1990) sme zistili pozitívne účinky v.p. pri chronickom poškodení pečene. Popri subjektívnom zlepšení vo zmysle zlepšenia kondície, chuti do jedla a pod. sme zistili aj zlepšenie niektorých laboratórnych nálezov, z ktorých štatisticky významné bolo zvýšenie subnormálnej albuminémie a zníženie patologicky vysokej gamaglobulinémie. Väčšina týchto pacientov mala iba ľahšie poškodenie pečene (často v dôsledku nadmerného užívania alkoholu), iba u jednej pacientky s chronickou agresívnou hepatitídou bol zdravotný stav tak závažný, že sa predpokladalo prežitie maximálne 1 až 2 roky. Zrejme aj vďaka užívaniu v.p. pacientky prežila v dobrej kvalite života ešte 15 rokov. Neskôr, v čase epidémie akútnej vírusovej hepatitídy typu A sme porovnali zmeny klinického stavu a dvadsiatich laboratórnych parametrov u dvoch skupín s porovnateľnými východiskovým stavom, pričom jedna dostávala bežnú konvenčnú liečbu (infúzie, hepato-protektíva, vitamíny) a druhá iba v.p. Všetky subjektívne a fyzikálne príznaky ochorenia (slabosť, nechutenstvo, bolesti žalúdka, bolesti pod pravým rebrovým oblúkom, palpačná citlivosť pečene, zväčšenie pečene) ustupovali skôr u pacientov užívajúcich iba v.p. Aj zmeny laboratórnych parametrov boli priaznivejšie u pacientov užívajúcich v.p. Z nich snáď najvýznamnejším zistením bolo, že pokles plazmatickej hladiny ALT, AST a celkového bilirubínu prebiehal štatisticky významnejšie u skupiny užívajúcej v.p. V rámci vyššie uvedenej výskumnej úlohy Ministerstva zdravotníctva sme sledovali aj účinky cez ústa podávaného v.p. u pacientov s diagnózou Dermatitis herpetiformis Duhring, Erythematodes, Pemfigus a Purpura. Okrem zmien kožného nálezu sme sledovali aj zmeny 20 laboratórnych parametrov. Zistili sme niektoré

zaujímavé pozitívne laboratórne zmeny, ale za podstatnejšie pokladám to, že pri užívaní v.p. došlo k zlepšeniu až vymiznutiu chorobného kožného nálezu a pritom bolo možné znížiť až vynechať užívanie sulfónov a glukokortikoidov, ktoré síce mávajú pozitívny efekt na kožný nález, ale pri dlhodobom užívaní mávajú závažné negatívne vedľajšie účinky. Všetky uvedené výsledky boli i okrem vyššie uvedenej výskumnej úlohy aj predmetom veľkého množstva prednášok na rôznych (väčšinou zahraničných) odborných fórach a boli publikované v našej aj zahraničnej odbornej tlači. Okrem týchto výsledkov sme však pozitívne skúsenosti získali aj pri podávaní v.p. pacientom s inými ochoreniami (napr. pri mozgovo-cievnych ochoreniach, cukrovke, ťažkej arteriálnej hypertenzii, ischemickej chorobe srdca atď.). Tieto účinky však neboli štatisticky vyhodnotené, preto ich zatiaľ môžem uvádzať iba ako kazuistiky. Záverom si na základe literárnych údajov aj vlastných skúseností dovolím konštatovať, že v.p. je mimoriadnym darom prírody, ktorý možno použiť v prevencii aj liečbe mnohých ochorení.

NOVÉ MOŽNOSTI HODNOTENIA PRAVOSTI A KVALITY MEDU

New approach in evaluation of honey authenticity and quality control

Ivana Valachová, valachova@fns.uniba.sk, *Prírodovedecká fakulta, UK, Bratislava*

Marcela Bučeková, marcela.bucekova@savba.sk, *Ústav Zoológie, SAV, Bratislava*

Juraj Majtán, juraj.majtan@savba.sk, *Ústav Zoológie, SAV, Bratislava*

ABSTRAKT

Včela medonosná, *Apis mellifera*, významným spôsobom ovplyvňuje zdravie človeka, či už prostredníctvom produkcie včelích produktov úspešne využívaných v klinickej medicíne, alebo svojím prínosom k opeľovaniu poľnohospodárskych plodín. Najviac využívaným včelím produktom je med, ktorý účinne potláča rast širokého spektra baktérií, včítane baktérií rezistentných na antibiotiká, vďaka čomu sa využíva na liečbu chronických aj pooperačných rán, preležanín ale aj popálenín a rôznych ekzémov. Kontrola kvality a pravosti medu je nevyhnutným predpokladom pre využitie týchto pozitívnych účinkov. V tejto práci sa venujeme hodnoteniu pravosti a kvality bežne dostupných medov ako aj medicínskych medov. Pri hodnotení kvality a pravosti medov sme využili nami novo vyvinutý citlivý ELISA (z angl. enzyme-linked immunosorbent assays) test na presné kvantitatívne stanovenie včelstvom produkovaného defenzínu-1 v mede. Defenzín-1 predstavuje jednu z hlavných antibakteriálnych zložiek každého medu, pričom sme preukázali štatisticky významnú koncentračnú závislosť medzi obsahom defenzínu-1 v mede a antibakteriálnym účinkom daného medu. Stanovenie hladín defenzínu-1 v medoch predstavuje vhodný prístup pre účely kontroly pravosti a kvality medov ako aj pre selekciu medov s potenciálnym vysokým antibakteriálnym účinkom vhodným pre klinické využitie.

ÚVOD

V súčasnosti sa v rámci EU kvalita medu hodnotí na základe biochemických a fyzikálnych analýz. Aby mohol byť med uvedený na trh, musí spĺňať presne dané parametre (napr. určitý obsah cukru, vody, voľných kyselín, diastatickú aktivitu, atď.) a zároveň nesmie obsahovať cudzorodé prímesy, nesmie kvasiť, mať upravenú kyslosť a nemal by byť ani tepelne a inak spracovávaný (1,2). Na Slovensku presné požiadavky na získavanie, výrobu a dovoz medu, na manipuláciu s ním a jeho uvádzanie na trh upravujú Vyhláška Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka Slovenskej republiky č. 41/2012, č. 106/2012 a č. 17/2015 o mede. Napriek tomu je, nielen na slovenskom trhu, veľké množstvo falšovaného medu. Dnes máme k dispozícií viacero metód, ako odhaliť falšovanie medu, pričom vedci prinášajú ďalšie ešte lepšie a rýchlejšie analýzy. Je však nevyhnutné uviesť tieto nové postupy do praxe a zahrnúť takéto analýzy a testy do štandardov a smerníc.

Jedným z nových prístupov pri hodnotení kvality a pravosti medu, je zameranie sa na detekciu špecifických látok v mede, ktoré sú výhradne včelieho pôvodu. Pri spracovaní nektáru a medovice na med, včely pridávajú do zmesi špecifické enzýmy, ktoré štiepia zložité cukry na jednoduché. Zároveň nektár obohacujú aj o ďalšie bielkoviny, vďaka ktorým med získava mnohé svoje unikátne vlastnosti. Všetky hlavné bielkoviny, ktoré sa nachádzajú v mede sú teda včelieho pôvodu (3). Práve túto skutočnosť môžeme využiť pre potvrdenie pravosti a hodnotenie kvality medu.

Prvotné analýzy medov pomocou proteínovej elektroforézy (4) a neskôr s využitím kvapalnej chromatografie (5) ukázali, že obsah bielkovín v rôznych druhoch kvetových a medovicových medov značne kolíše.

Nedávno bola vyvinutá enzýmová imunoanalýza (z angl. enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA), pomocou ktorej je možné presne zmerať obsah konkrétnej bielkoviny v mede (6) aj materskej kašičke (7). Jedná sa o bielkovinu zvanú hlavný proteín materskej kašičky 1 (z angl. major royal jelly protein 1, MRJP1). MRJP1 je najhojnejšie sa vyskytujúcou bielkovinou

v mede aj materskej kašičke (8), pričom jej obsah predstavuje asi 23% zo všetkých bielkovín (6). Práve tento vysoký podiel MRJP1 však predstavuje nevýhodu, pre ktorú táto bielkovina nie je ideálnym ukazovateľom pri stanovení pravosti a kvality medu. Vhodnejšie je zvoliť takú bielkovinu, ktorá je stabilnou súčasťou každého pravého medu, ale jej obsah je pomerne nízky. Vtedy sa aj malé sfalšovanie, teda nariedenie pravého medu napr. cukrovým sirupom, prejaví ako výrazný pokles danej látky v mede. Ako ideálny kandidát sa nám v našom laboratóriu javí bielkovina zvaná defenzín-1.

Defenzín-1 bol prvýkrát izolovaný na základe antibakteriálnej aktivity z materskej kašičky (9) a neskôr bol nájdený aj v mede (10). Ide o bielkovinu patriacu do skupiny hmyzích defenzínov, zloženú z 51 aminokyselín s molekulovou hmotnosťou 5,52 kDa. Hmyzie defenzíny vykazujú antibakteriálne účinky voči Gram-pozitívnym baktériám akou je napr. aj *Paenibacillus larvae*, pôvodca moru včelieho plodu (11,12). Včelí defenzín-1 spolu s peroxidom vodíka predstavujú hlavné antibakteriálne zložky medicínskeho medu (13).

Včelí antibakteriálny defenzín-1 tvoria dospelé včely vo svojich hypofaryngeálnych žľazách, pričom tak robia všetky kasty včiel, od mladušky po lietavku (nepublikované výsledky). Larvy včiel tiež produkujú defenzín-1 v menších množstvách do hemolymfy.

Prostredníctvom potravy produkovanej v hypofaryngálnych a tiež mandibulárnych žľazách prijímajú larvy defenzín-1 a iné potrebné obranné látky, ktoré si sami vytvoriť nedokážu. Schopnosť včelstva produkovať defenzín-1 by mohla ovplyvňovať imunitu celej kolónie. Domnievame sa, že čím viac defenzínu-1 dokážu včely vytvoriť, tým lepšie je celá kolónia chránená voči rôznym baktériám a patogénom. Nedávno bolo dokázané, že defenzín-1 sa nachádza vo všetkých skúmaných typoch larválnej kašičky a medu, vrátane manukového, avšak jeho množstvo značne varíruje (14,15). Teda miera produkcie defenzínu-1 u jednotlivých včelích rodín a jeho obsah v jednotlivých medoch sa značne líši. Aby sme vedeli presne zmerať

množstvo defenzínu-1 v mede, vyvinuli sme v našom laboratóriu špecifický a citlivý ELISA test (nepublikované výsledky).

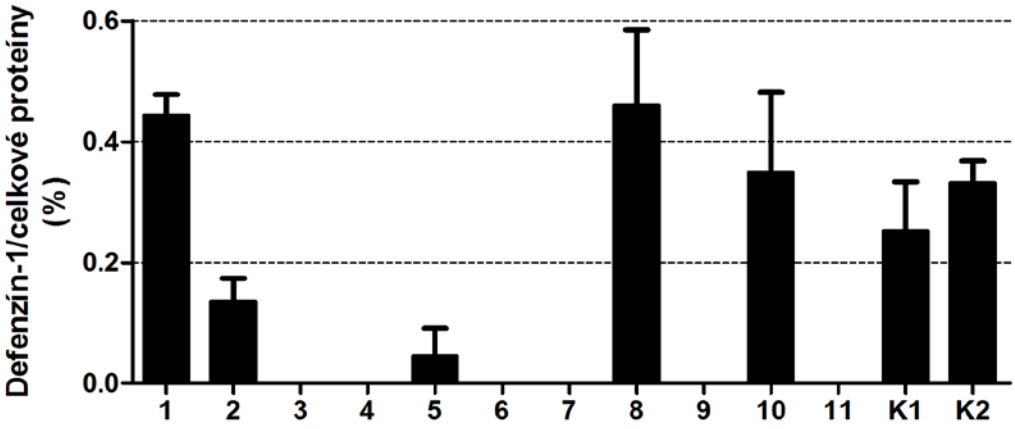
Defenzín-1 v komerčných medoch

Pomocou novo vytvoreného ELISA testu na kvantifikáciu defenzínu-1 sme analyzovali spolu 11 vzoriek medov zakúpených v slovenských hypermarketoch a na porovnanie sme použili aj dva medy od včelárov (Tab. 1).

Tab. 1 Zoznam zakúpených medov v slovenských hypermarketoch

	Druh medu	Výrobca	Obchod	Hmotnosť	Cena
1	Lesný	Lidl Stiftung & Co. KG (Nemecko)	LIDL	500g	3,49
2	Kvetový	Lidl Stiftung & Co. KG (Nemecko)	LIDL	500g	3,49
3	Agátový	Natur Products Németh s.r.o. (SR)	TESCO	250g	2,79
4	Lipový	Natur Products Németh s.r.o. (SR)	TESCO	250g	2,39
5	Lesný	Medokomerc (ČR)	TESCO	250g	1,99
6	Kvetový	JSG med a.s. (ČR)	TESCO	250g	1,29
7	Lesný	JSG med a.s. (ČR)	TESCO	250g	1,49
8	Agátový	Medas, s.r.o. (SR)	TESCO	250g	2,39
9	Kvetový	Medas, s.r.o. (SR)	TESCO	250g	1,69
10	Lesný	Medas, s.r.o. (SR)	TESCO	250g	2,29
11	Lúčny	Medokomerc (ČR)	TESCO	500g	3,19
K1	Krémový	Včelárstvo Dedinský (SR)	-	900g	9
K2	Jedľová medovica	Medar, Volanský (SR)	-	950g	10,90

Z testovaných vzoriek 6 komerčných medov vôbec neobsahovalo defenzín-1, čo naznačuje, že predstavovali falšovaný alebo znehodnotený med (Obr.1).



Obr. 1 Obsah defenzínu-1 vo vzorkách medu zakúpených v slovenských hypermarketoch

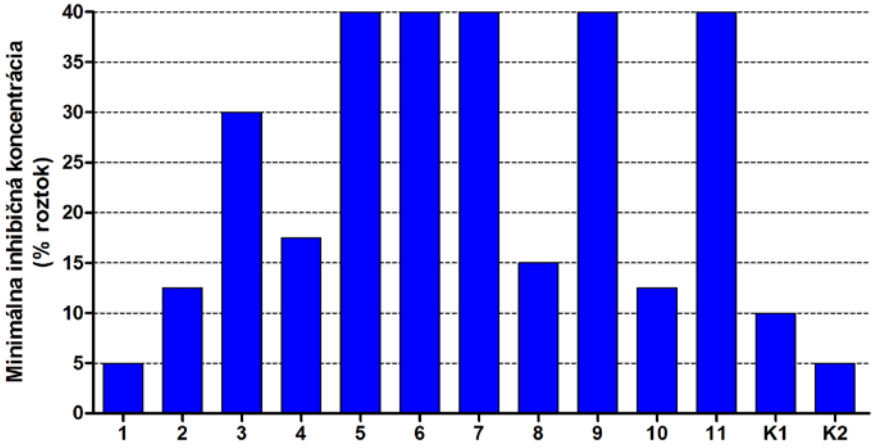
Vo vzorkách medu od slovenského výrobcu Natur Products Németh s.r.o. (vzorka č. 3 a 4) a českého výrobcu JSG med a.s. (vzorka č. 6 a 7) sme nedokázali vôbec detegovať defenzín-1. U ďalšieho českého výrobcu, Medokomerc s. r. o., jedna vzorka obsahovala veľmi malé množstvo defenzínu-1 (vzorka č. 5) pričom v druhej vzorke medu od tohoto výrobcu sa defenzín-1 nenachádzal (vzorka č. 11). Druhým slovenským producentom v našom teste bola firma Medas s.r.o., od ktorej sme mali k dispozícii tri vzorky medu. Dva medy, agátový (vzorka č. 8) a lesný (vzorka č. 10) obsahovali najvyššiu hladinu defenzínu-1 zo všetkých analyzovaných medov, dokonca viac ako kontrolné medy od overených slovenských včelárov (vzorky K1 a K2). Tretí med od firmy Medas s.r.o., kvetový med (vzorka č. 9), neobsahoval merateľnú hladinu defenzínu-1. Nedokážeme povedať, či tento med bol falšovaný alebo bol znehodnotený nesprávnym skladovaním alebo spracovaním. Poslednú skupinu testovaných medov tvorili vzorky od nemeckého dovozcu pre obchodnú sieť Lidl (vzorky č. 1 a 2). Vzorka

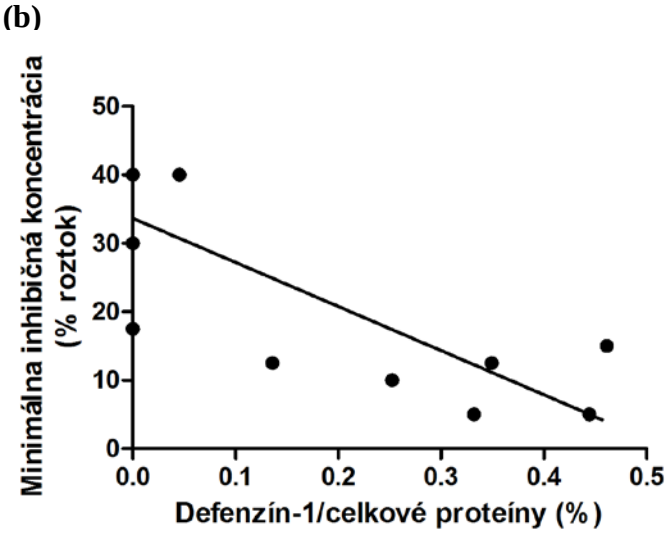
lesného medu obsahovala druhé najvyššie množstvo defenzínu-1, naopak vzorka kvetového medu mala defenzínu-1 oveľa menej. V tomto prípade tak ako aj v prípade niektorých medov je možné, že rozdiel v obsahu defenzínu-1 medzi týmito medmi je prirodzený, prípadne vznikol pri spracovaní alebo nesprávnom skladovaní.

Antibakteriálna aktivita komerčných medov

Už pri vývoji ELISA testu sme, pomocou Pearsonovho korelačného testu na vzorke 20 včelích medoch, preukázali štatisticky významnú závislosť medzi obsahom defenzínu-1 v mede a antibakteriálnym účinkom daného medu (n= 20; r=−0,6598; P= 0.0016, nepublikované výsledk y). Aj v prípade medov zakúpených v slovenských hypermarketoch sme stanovili ich antibakteriálnu aktivitu voči modelovej Gram pozitívnej baktérii a potvrdili závislosť aktivity od obsahu defenzínu-1 (n= 13; r= -0.8087; P= 0.0008) (Obr. 2b).

(a)





Obr. 2 Antibakteriálna aktivita vzoriek medu zakúpených v slovenských hypermarketoch voči *S. aureus* a jej vzťah k obsahu defenzínu-1 (a) a k obsahu defenzín-1 v celkovom proteíne (b)**.**

Naše doterajšie výsledky sa zhodujú so závermi inej štúdie, ktorá ukázala, že vysoká koncentrácia bielkovín v mede vedie k nízkym hodnotám MIC (t.j. k vysokej antibakteriálnej aktivite daného medu) a naopak nízka koncentrácia bielkovín v mede (napr. v dôsledku nečistôt, prípadne falšovania medu) sa prejaví v zníženej antibakteriálnej aktivite (t.j. vo vysokých hodnotách MIC) (16). V predošlých prácach bolo dokázané, že hladina antibakteriálneho peptidu defenzínu-1 kolíše v rôznych vzorkách larválnej kašičky a medu, pričom sa predpokladá, že táto variabilita súvisí s genetickými faktormi (14,15). Podobne aj v prípade GOX, teda enzýmu zodpovedného za produkciu H_2O_2 ako ďalšieho dôležitého antibakteriálneho faktoru v mede, sme v nedávnej práci dokázali, že jej množstvo sa v jednotlivých vzorkách medov líši, čo pravdepodobne súvisí s viacerými faktormi (17).

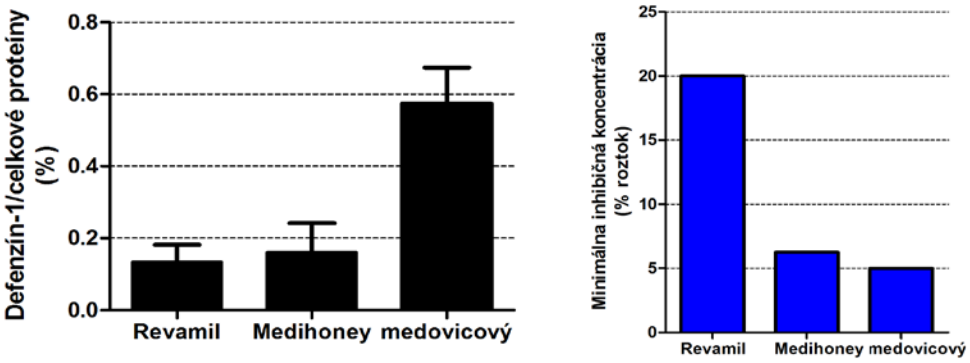
Predpokladáme, že významný vplyv na produkciu GOX a defenzínu-1, okrem genetických/epigenetických faktorov, má aj výživa včelej kolónie peľom. Usudzujeme tak na základe publikovaných zistení, že ak sa včelia kolónia živí peľom rôzneho botanického pôvodu, vykazuje lepšie imunitné vlastnosti ako kolónia, ktorá má k dispozícii len monoflorálny peľ (18). Avšak produkcia GOX nie je ovplyvnená botanickým ani geografickým pôvodom medu (19).

Naše štúdia poukazujú na to, že defenzín-1 je prirodzená a stála súčasť pravého medu. Jeho obsah v jednotlivých vzorkách medov môže kolísať, avšak určité množstvo je v mede vždy prítomné. Pokiaľ sa v určitom mede defenzín-1 nenachádza, alebo je prítomný len vo veľmi nízkych koncentráciách, je možné uvažovať s vysoku mierou pravdepodobnosti o falšovaní medu alebo jeho znehodnotení nesprávnym spracovaním (napr. prílišným zahriatím v kombinácii s obsahom neznámych látok rastlinného pôvodu). V zatiaľ nepublikovaných pokusoch sme zistili, že aj krátke zahriatie medu nad 50°C výrazne znižuje obsah defenzínu-1 a tým znižuje antibakteriálnu aktivitu daného medu. K takémuto zahriatiu môže dôjsť či už pri spracovaní medu (nesprávna teplota pri rozpúšťaní skryštalizovaného medu pred plnením) alebo pri nesprávnom skladovaní na priamom slnku.

Defenzín-1 v medicínskych medoch

Med účinne potláča rast širokého spektra baktérií, vďaka čomu sa využíva aj v klinickej medicíne (20). Viaceré klinické štúdie využivajúc med na hojenie rán preukázali zlepšenie procesu hojenia, ako aj skrátenie doby potrebnej na samotné vyliečenie rán (21-23). V práci sme porovnávali dva hlavné medicínske medy, v súčasnosti už používané v klinickej praxi, Revamil a Medihoney. Medihoney je manukový med vyrobený z nektáru manukového kríku (*Lepstospermum scoparium*), ktorý je typický pre oblasť Nového Zélandu a Austrálie. Med Revamil je vyrábaný štandardizovaným procesom v skleníkoch, ale jeho botanický pôvod predstavuje výrobné tajomstvo (24). Antibakteriálny účinok týchto medov ako aj hladinu defenzínu-1 sme

porovnali so slovenským medovicovým medom, ktorý je v súčasnosti v štádiu klinického testovania pre medicínske využitie. Najvyšší obsah defenzínu-1 a zároveň najlepšiu antibakteriálnu aktivitu vykázal práve slovenský medovicový med. Pomerne prekvapivé hodnoty dosiahol v našich testoch Revamil, ktorý obsahoval len malé množstvo defenzínu-1 a vykazoval relatívne slabú antibakteriálnu aktivitu (Obr. 3).



Obr. 3. Porovnanie obsahu defenzínu-1 a antibakteriálnej aktivity medicínskych medov a slovenského medovicového medu

Oba medicínske medy vykazujú odlišný mechanizmus účinku, založený na pôsobení chemicky rozdielnych látok. Účinok manukového medu je založený na vysokom obsahu metylglyoxálu (MGO). Manukový med obsahuje viac ako štyridsaťnásobne vyššie množstvo MGO ako Revamil. Vysoké množstvo MGO v manukovom mede však spôsobuje modifikáciu proteínov, medzi inými aj defenzínu-1 a GOX, ktorá je zodpovedná za tvorbu H_2O_2 (15,25). Preto sme v manukovom mede namerali len nízku hladinu defenzínu-1, ale aj napriek tomu mal Medihoney výrazne antibakteriálne účinky, práve vďaka prítomnosti MGO. V prípade Revamilu bol obsah defenzínu-1 aj antibakteriálna aktivita malá. Oveľa perspektívnejší sa v tomto smere javí slovenský medovicový med, ktorý mal výrazne antibakteriálne účinky a je preto vhodný kandidát na medicínske využitie.

ZÁVER

Konzumácia kvalitného medu má na zdravie človeka preukázateľné pozitívne účinky. Kontrola kvality a pravosti medu je tak nevyhnutným predpokladom pre využitie týchto pozitívnych účinkov. V našom laboratórium sme vyvinuli novú metódu na presné kvantifikovanie antibakteriálnej bielkoviny, defenzínu-1, ktorá je stabilnou súčasťou každého pravého medu. Na základe prítomnosti tejto bielkoviny a stanovenia jej hladiny, vieme povedať, či je med falšovaný alebo nie a aká je jeho kvalita. Čím viac defenzínu-1 sa v mede nachádza, tým má daný med lepšie antibakteriálne účinky. Med s vysokým obsahom defenzínu-1 je potom vhodne použiť aj na medicínske účely, liečbu rôznych rán či popálenín.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola finančne podporená vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a SAV projektom VEGA 2/0007/14.

LITERATÚRA

1. EU Council (2002). Council Directive 2001/110/EC of 20 December 2001 relating to honey. *Official Journal of the European Communities* L10, pp. 47–52. Available at: http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2002/l_010/ l_01020020112en00470052.pdf (verified on 24 May 2002).
2. Codex Alimentarius (2001). Codex Standard for Honey, Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001).
3. Girolamo, F., D'amato, A., Righetti, P.G.: Assessment of the floral origin of honey via proteomic tools. In Journal of Proteomics, č 75, 2012, s. 3688-3693.
4. Marshall, T., Williams, K.M.: Electrophoresis of honey: characterization of trace proteins from complex biological matrix by silver staining. In Analytical Biochemistry, č. 167, 1987, s. 301-303.
5. Inglesias, M.Z., Ivarez, M.P.J., Polo, C. et al.: Protein analysis of honeys by fast protein liquid chromatography: application to differentiate floral and honeydew honeys. In Journal of Agricultural and Food Chemistry, č. 54, 2006, s. 8322-8327.

6. Bílikova, K., Simuth, J.: New criterion for evaluation of honey: quantification of royal jelly protein apalbumin 1 in honey by ELISA. In Journal of Agricultural and Food Chemistry, č. 58, 2010, s. 8776-8781.
7. Yamaguchi, K., He, S., Li, Z. et al.: Quantification of Major Royal Jelly Protein 1 in Fresh Royal Jelly by Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. In Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, č. 77, 2013, s. 1310-1312.
8. Hanes., J. Simuth, J.: Identification and partial characterization of the major royal jelly protein of the honey bee (*Apis mellifera* L.). In Journal of Apicultural Research, č. 31, 1992, s. 22–26.
9. Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M. et al.: A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. In Journal of Biological Chemistry, č. 265, 1990, s. 11333-11337.
10. Kwakman, P.H., Te Velde, A.A., de Boer, L. et al.: How honey kills bacteria. In The FASEB Journal, č. 24, 2010, s. 2576–2582.
11. Bulet, P., Hetru, C., Dimarcq, J.L. et al.: Antimicrobial peptides in insects; structure and function. In Developmental & Comparative Immunology, č. 23, 1999, s. 329-344.
12. Bulet, P., Stocklin, R.: Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. In Protein & Peptide Letters, č. 12, 2005, s. 3-11.
13. Kwakman, P.H., Te Velde, A.A., de Boer, L. et al.: Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. In Plos One, č. 6, 2011, e17709 doi:10.1371/journal.pone.0017709.
14. Klaudiny, J., Bachanova, K., Kohutova, L. et al.: Expression of larval jelly antimicrobial peptide defensin1 in *Apis mellifera* colonies. In Biologia (Bratislava) č. 67, 2012, s. 200-211.
15. Majtan, J., Klaudiny, J., Bohova, J. et al.: Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: Possible therapeutic implications. In Fitoterapia, č. 83, 2012, s. 671-677.
16. Khan, F., Hill, J., Kaehler, S. et al.: Antimicrobial properties and isotope investigations of South African honey. In Journal of Applied Microbiology, č. 117, 2014, s. 366–379.
17. Bucekova, M., Valachova, I., Kohutova, J., et al.: Honeybee glucose oxidase - its expression in honeybee workers and comparative analyses of its content and H_2O_2-mediated antibacterial activity in natural honeys. In Naturwissenschaften, č. 101, 2014, s. 661-670.
18. Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D. et al.: Diet effects on honeybee immunocompetence. In Biological Letters, č. 6, 2010, s. 562-565.
19. Brudzynski, K., Abubaker, A., St-Martin, L. et al.: Re-examining the role of hydrogen peroxide in bacteriostatic and bactericidal activities of honey. In Frontiers of Microbiology, č. 2, 2011, s. 1-9.

20. Oskouei, T.E., Najaf, M.: Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review. In Iranian Journal of Basic Medical Sciences, č. 16, 2013, s. 731–742.
21. Dunford, C., Cooper, R., Molan, P. et al.: The use of honey in wound management. In Nursing standard, č.15, 2000, s. 63-68.
22. Eddy, J.J., Gideonsen, M.D.: Topical honey for diabetic foot ulcers. In Journal of Family Practice, č. 54, 2005, s. 533-535.
23. Molan, P.C.: The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. In International Journal of Lower Extremity Wounds, č. 5, 2006, s. 40-54.
24. Kwakman, P.H.S., Zaat, A.J.S.: Antibacterial components of honey. In *IUBMB Life,* r. 64, č. 1, 2012, s. 48-55.
25. Majtan, J., Bohova, J., Prochazka, E., et al.: Methylglyoxal may affect hydrogen peroxide accumulation in Manuka honey through the inhibition of glucose oxidase. In Journal of Medicinal Food, r. 17, č. 2, 2014, s. 290-293.

LOKÁLNY VPLYV MEDU PRI HOJENÍ RÁN

Topical effect of honey in treatment of wounds

Alexander Mayer, alexandermayer.ba@gmail.com, *Lekárska fakulta SZU, Bratislava*
Juraj Olejník, juraj.olejnik@szu.sk, *Lekárska fakulta SZU, Bratislava*
Viktor Majtán, viktor.majtan@szu.sk, *Lekárska fakulta SZU, Bratislava*
Juraj Majtán, juraj.majtan@savba.sk, *Ústav Zoológie, SAV, Bratislava*

ABSTRAKT

Prírodné produkty sa pre svoje pozitívne terapeutické účinky čoraz častejšie zavádzajú do klinickej praxe. Med je jedným z takýchto produktov. Používa sa na liečbu popálenín a infikovaných rán. Avšak nie všetky medy majú vysoký antibakteriálny potenciál a iba niektoré z nich sú vhodné na klinické použitie.

Cieľom našej práce bolo uskutočniť klinické testy so slovenským jedľovým medovicovým medom a manukovým medom zamerané na liečbu dlhodobo sa nehojacich infikovaných rán (diabetické vredy, preležaniny a iné) ako aj sekundárne sa hojacich rán po operačnom zákroku. U 52 pacientov (32 pacientov-medovicový med *vs.* 20 pacientov-manukový med) sme sledovali zmenu (i) bakteriálneho zaťaženia rany, (ii) proteolytickej aktivity ranového exudátu a (iii) celkového stavu rany po 4 týždňovej liečbe so sterilným medom. Dôležitým parametrom bolo aj monitorovanie subjektívnych pocitov pacientov pri liečbe s medom.

Priemerný čas potrebný na zahojenie/zlepšenie stavu rany (elimináciu ranovej infekcie) bol pri oboch testovaných medoch stanovený na 18 dní. V prípade manukového medu bola redukcia bakteriálnej záťaže štatisticky významná po 14 dňoch liečby, na rozdiel od medovicového medu, kde pozorované zníženie nebolo štatisticky významné. Molekulárna charakterizácia procesu hojenia rán s ohľadom na zápalovú fázu odhalila, že medovicový med znižuje proteolytickú aktivitu ranového exudátu a to

čiastočne cez inhibíciu matrixovej metaloproteázy 9. Nežiaducim účinkom liečby s medom je bolesť, ktorá je však len prechodná. Pacienti hodnotili liečbu s medom za uspokojivú s pozitívnym účinkom. Analýzou efektívnosti nákladov na liečbu nehojacich sa rán sme zistili, že liečba rán s manukovým a medovicovým medom je úspornejšia ako štandardná liečba.
Slovenský medovicový med vykazoval porovnateľné účinky s manukovým medom a predstavuje tak lacnejšiu alternatívu medicínskeho medu k manukovému medu.

ÚVOD

V posledných desaťročiach evidujeme starnutie populácie, stúpa výskyt civilizačných ochorení ako sú diabetes mellitus, periférne vaskulárne ochorenia, alergie a iné, ktoré zapríčiňujú zvýšený výskyt chronických rán u pacientov. Pri starostlivosti o pacienta s chronickými ranami máme k dispozícii veľké množstvo rôznych prípravkov určených na liečbu chronickej rany.
Liečenie ťažko sa hojacich prevprevažne infikovaných rán predstavuje v súčasnej dobe závažný celosvetový problém. Odhaduje sa, že približne 1 - 1,5% populácie bude mať v blízkej budúcnosti problémy s infikovanými nehojacimi sa ranami, s čím priamo súvisí aj zvyšovanie finančných nákladov na ich liečbu. Priemerná cena v Európe pri liečení vredov predkolenia je 6 650€ a pri liečení tzv. “diabetickej nohy“ je 10 000 € na jedného pacienta. V súčasnosti neexistujú všeobecné záväzné postupy pri liečení nehojacich sa rán (1) a boli navrhnuté len odporúčania s cieľom skvalitnenia liečebného procesu. Vzhľadom na nepriaznivý predpoklad o narastajúcom trende výskytu chronických rán sa javí dôležité hľadať a zavádzať do praxe nové liečebné produkty a postupy, ktoré by boli spojené s efektívnejšou a ekonomicky výhodnejšou liečbou.
Čoraz častejšie sa do pozornosti dostávajú biomedicínske stratégie, ktorých cieľom je popri antibiotickej liečbe využiť prírodnú alternatívu účinnú v

bežných aj komplikovaných prípadoch spojených s rezistenciou. Medzi takéto alternatívy patrí využívanie včelích produktov.

Med patrí medzi najviac preskúmané a zároveň vedeckými pracovníkmi najviac odporúčaný prírodný produkt a svojimi unikátnymi vlastnosťami, ľahkou dostupnosťou nabáda vedeckých ako aj klinických pracovníkov k neustálemu výskumu a klinickej aplikácie. Med ako prírodný produkt včely medonosnej *Apis mellifera* je už od nepamäti používaný nielen ako sladidlo, ale aj antimikrobiálny produkt, ktorý opäť získava popularitu a má svoje uplatnenie v hojení chronických a infikovaných rán. Podstata účinku medu je odlišná od účinku antibiotík, ktoré atakujú bakteriálnu stenu alebo inhibujú vnútrobunkový metabolizmus baktérií. Prvým faktorom podieľajúcim sa na antibakteriálnych vlastnostich medu je vysoký obsah jednoduchých cukrov. Med je vysoko hygroskopický, t.j. pohlcuje vlhkosť z okolitého prostredia a tým dehydratuje baktérie, naviac vysoký obsah cukornej zložky medu zabraňuje rastu mikroorganizmov. Avšak, samotný vysoký obsah cukru v mede nie je jediným a hlavným nositeľom jeho antibakteriálnych vlastností. Med neobsahuje len cukor a iné rastlinné zložky ale aj látky, ktoré do neho pridávajú včely ako sú proteíny a peptidy. Ich koncentrácia v mede sa pohybuje v rozmedzí 0,1 – 0,5%, pričom dominantným proteínom je hlavný proteín materskej kašičky - MRJP1 (2). Dôležité zastúpenie v mede ma enzým glukozooxidáza. Ten katalyzuje produkciu kyseliny glukónovej a malého množstva peroxidu vodíka, ktorý predstavuje ďalší antibakteriálny faktor a zložku medu. Koncentrácia peroxidu vodíka v mede nie je cytotoxická, a pravdepodobne sa uplatňuje aj ako signálna molekula pri podpore procesu hojenia a môže stimulovať fibroblasty a epiteliálne bunky (3). Množstvo vytvorené peroxidu vodíka v značnej miere závisí od koncentrácie glukozooxidázy v mede, ktorá je pravdepodobne geneticky determinovaná, tak ako aj koncentrácia ostatných včelích proteínov. Niekoľko štúdii zaoberajúcich sa antibakteriálnym účinkom včelieho medu dokázalo, že aj po zablokovaní aktivity peroxidu vodíka a osmotického účinku medu, niektoré medy, napr. manukové medy vykazovali výrazné antibakteriálne účinky (4, 5). Med z kríka manuka

(*Leptospermum scoparium*), ktorý rastie na Novom Zélande a v Austrálii, sa preto dostal do pozornosti vedcov na celom svete a stal sa prvým tzv. medicínskym medom, ktorý sa priamo využíva na terapeutické účely. Zistilo sa, že hlavnou antibakteriálnou zložkou v manukovom mede je látka metylglyoxál, ktorá je zodpovedná za výrazný antimikrobiálny účinok medu (6). Zastúpenie metylglyoxálu v manuka medoch bolo výrazne vyššie v porovnaní s medmi z iných rastlinných druhov. Avšak manukové medy nie sú univerzálne medicínsky použiteľné. Bolo dokázané, že metylglyoxál je schopný inhibovať rast baktérií *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* už pri koncentrácii 1.1 mM. Manuka med sa ukázal vysoko efektívny voči rôznym patogénom, zahrňujúc MRSA, vankomycín-rezistentné enterokoki a *Campylobacter* spp. (7, 8), ale nie je účinný voči *Candida albicans* a *Seratia mercescens* (3).

Medy vykazujú antibakteriálnu aktivitu oveľa pomalšie ako tradičné antiseptiká, ktoré sú schopné zredukovať množstvo baktérii v priebehu niekoľkých minút. Len nedávno sa podarilo identifikovať ďalší významný antibakteriálny faktor včelieho medu. Je ním včelí antibakteriálny peptid, defenzín1 (9). Defenzín1 je prirodzenou súčasťou všetkých prírodných medov a jeho koncentrácia v jednotlivých medoch je rozdielna (10). Tento včelí peptid bol prvý krát identifikovaný vo včelej materskej kašičke a jeho antibakteriálna účinnosť je namierená najmä voči Gram-pozitívnym baktériam.

Nespornou výhodou medu je skutočnosť, že patogénne baktérie nie sú rezistentné na med, resp. jeho bioaktívne zložky, čo robí med atraktívnym pre vedecký výskum v spojitosti s rastúcou rezistenciou baktérií na antibiotiká.

Okrem uvedených antibakteriálnych účinkov medu, ktoré sú nevyhnutné pri liečení chronických infikovaných rán, sa med vyznačuje aj protizápalovými, antioxidačnými, imunomodulačnými a protinádorovými účinkami (11-13). Med sa pri hojení rán podieľa na redukcii zápachu a eliminácii odumretých buniek, čo len dokazuje vysoký potenciál jeho uplatnenia v manažmente hojenia rán. Aj keď mechanizmus, ktorým med urýchľuje proces hojenia rán nie je doposiaľ úplne objasnený, existuje niekoľko štúdií, ktoré prinášajú

možné vysvetlenia medom-indukovaného procesu hojenia. Prvou opísanou možnosťou, ako med môže urýchľovať proces hojenia, je stimulácia zápalových procesov, na ktorých sa podielajú leukocyty (neutrofily a makrofágy) (11). Zápal predstavuje prvú fázu v procese normálneho hojenia rán, kedy neutrofily prenikajú do poškodeného tkaniva a kombináciou fagocytózy a proteolytického účinku odstraňujú odumreté bunky, baktérie a cudzorodý materiál. Neskôr ich funkciu nahradia makrofágy. Tie produkujú množstvo špecifických mediátorov ako reaktívne oxidačné druhy látok, cytokíny a rastové faktory, ktoré kontrolujú angiogenézu a proliferáciu fibroblastov a epitelových buniek. Bolo dokázané, že med stimuluje produkciu hlavného zápalového cytokínu TNF-α z monocytov a peritoneálnych makrofágov (11-13). Podarilo sa identifikovať molekulu, ktorá je pravdepodobne zodpovedná za indukciu zápalových cytokínov po predchádzajúcej stimulácii makrofágov/monocytov s medom. Ide o glykoproteín MRJP1, dominantný proteín včelej materskej kašičky, produkovaný mandibulo-faryngeálnymi žľazami včely medonosnej. Nedávno, Tonks so spolupracovníkmi identifikovali molekulu s molekulovou hmotnosťou 5,8 kDa z manuka medu, ktorá stimuluje produkciu TNF-α z makrofágov cez tzv.“ Toll-like“ receptor 4 (14).

Ďalšia z možností ako med urýchľuje proces hojenia je spojená s nízkou hodnotou pH medu, ktorá sa pohybuje v rozmedzí od 3,4 do 5,5. Bakteriálna kolonizácia rany je často pozorovaná pri pH hodnotách vyšších ako 7,3 v exudáte, preto acidifikácia rany vedie k eliminácii patogénov a tým k podpore procesu hojenia rán. Nižšia hodnota pH vedie tiež k redukcii pôsobenia proteolytických enzýmov, pre aktivitu ktorých je najvhodnejšie neutrálne pH. Ide najmä o redukciu aktivity proteáz typu matrixovej metaloproteázy 9 (MMP-9). Táto proteáza vystupuje ako zápalový marker v chronických ranách kde jej koncentrácia je niekoľkonásobne vyššia ako v ranách akútnych. Nižšie pH tak bráni degradácii rastových faktorov a fibronektínu. Med v procese hojenia teda vystupuje ako imunomodulátor so zápalovými ale aj protizápalovými účinkami. V prvom štádiu aktivuje

zápalový proces a neskôr po odstránení baktérii a odumretých buniek zabraňuje opätovnému zápalu, resp. tlmí chronický zápal.

Medicínske medy

Všetky spomenuté biologické účinky medu umožňjú jeho využitie v klinickej praxi, konkrétne medicínskych medov pri liečení chronických infikovaných rán. Medzi najznámejšie medicínske medy patrí manukový med a Revamil. Manukový med je zmes dvoch druhov medov z Austrálie a Nového Zélandu obsahujúce glukózooxidázu a bioaktívne zložky z kríku manuka. Med sa stal objektom niekoľkých klinických štúdii, ktoré sa snažili dokázať efektívnosť medu pri liečení chronických rán, pričom sa sledovali parametre ako dĺžka procesu hojenia a redukcia infekcií. Hlavným výsledkom všetkých klinických štúdii je skrátenie času hojenia, odstránenie infekcie, zníženie používania antibiotík a v neposlednom rade skrátenie času hospitalizácie. Navyše Simon et al. (15) analýzou 17 klinických kontrolovaných testov zahrňujúcich 1965 účastníkov, 5 klinických testov zahrňujúcich 95 účastníkov a 16 testov na 533 experimentálnych zvieratách zistili, že med podporuje proces hojenia tam, kde ostatné alternatívne liečby zlyhali.

Použitie a výmena medovej náplaste je bezbolestná, bez akéhokoľvek poškodenia zregenerovaného tkaniva. Med je zvyčajne aplikovaný na kalcium-alginátovom matrixe, ktorý predstavuje vode odolný nosič. Medová náplasť by sa mala aplikovať aspoň na 12 h, ale v praxi je to 24 h. Výmena náplaste na rane záleží od štádia samotného hojenia. V prvých štádiách sa vymieňa dvakrát denne, neskôr v stabilizovaných štádiách môže byť ponechaná v rane až do 7 dní.

CIEĽ PRÁCE

Hlavným cieľom predloženej práce bolo uskutočniť klinické testy so slovenským jedľovým medovicovým medom a manukovým medom na liečbu dlhodobo sa nehojacich infekčných rán (diabetické vredy, preležaniny a iné) ako aj sekundárne sa hojacich rán po operačnom zákroku.

Špecifické čiastkové ciele práce:

- Popis procesu hojenia kožného defektu pri použití včelieho medu (znaky infekcie, zápach, zmena veľkosti rany, čas potrebný na zahojenie a epitelizáciu/granuláciu)
- Sledovanie lokálnych reakcií na liečbu (krvácanie, dermatitída, erytém, opuch, zvýšenie produkcie exudátu)
- Kvantifikácia celkového počtu baktérii pred a počas liečby medom
- Charakterizácia subjektívnych pocitov pacientov počas liečby (bolesť, kvalita života)
- Kalkulácia finančných nákladov na hojenie rán s použitím medu, resp. použitím konvenčného prístupu (čas na liečenie, diagnostické a laboratórne testy, lieky, spotrebné materiály, operačné a rehabilitačné náklady).

METODIKA PRÁCE

Med

Medovicový med bol dodaný z včelej farmy Medar (Bardejov, Slovensko) a následne bol alikvotne rozdelený do sterilných plastikových kontajnerov po 20 a 50 g. Kontajnery s medom sa sterilizovali pomocou γ-žiarenia (25 kGy) prostredníctvom lineárneho urýchľovača v Univerzitnom vedecko-výskumnom pracovisku (SZU, Trenčín, Slovensko). Sterilita jednotlivých šarží sa overila na prítomnosť bakteriálnej kontaminácie (Oddelenie mikrobiológie SZU, Bratislava) a bakteriálnych spór (Štátny veterinárny a potravinový ústav, Bratislava). Manukový med vo forme sterilného krytia (Actilite^{TM}) bol zakúpený z firmy Advancis Medical (UK).

Pacienti

Nábor pacientov, ako aj samotná štúdia prebiehala na chirurgickej klinike SZU a UNB nemocnica akad. L. Dérera. Plánoval sa nábor približne 30-70 pacientov počas štúdia. Pacienti boli informovaní o význame a cieľoch

projektu, ako aj o jeho protokole. Súhlas so svojou účasťou potvrdili pacienti podpísaním informovaného súhlasu.

METÓDY:

Aplikácia sterilného medu

U každého pacienta sa zistila prípadná alergická reakcia na med a to potretím časti predlaktia medom. Po 24 hodinách sa buď potvrdila alebo vyvrátila alergická reakcia a rozhodlo sa, či pacient bude zaradený do klinickej štúdie. Po vyčistení rany, sa na postihnutý defekt aplikoval sterilný med, pričom množstvo použitého medu záviselo od veľkosti rany. Po aplikácii medového krytia bola rana prekrytá sterilným krytím. Preväzy defektov - rán sa uskutočnili denne, raz za dva dni alebo každý tretí deň v závislosti od typu rany a jej stupňa secernácie. V závislosti od charakteru, stavu rany a schopností pacienta mohol lekár prenechať ošetrovanie rany na pacienta v domácom prostredí pod jeho pravidelnou kontrolou (minimálne raz za týždeň). V takom prípade bol pacientovi poskytnutý med v plastových kontajneroch a pacient alebo jeho ošetrovateľ bol poučený v akých časových intervaloch je treba ranu previazať a akým spôsobom je potrebné medovicový med na ňu nanášať. Aplikácia sterilného medu prebiehala počas 4 týždňového obdobia a stery z rán a klinické vzorky boli odoberané v týždňových intervaloch. Raz za týždeň sa vykonala aj fotodokumentácia rany.

Ster z rany a odber materiálu na mikrobiologické a fyziologické testy

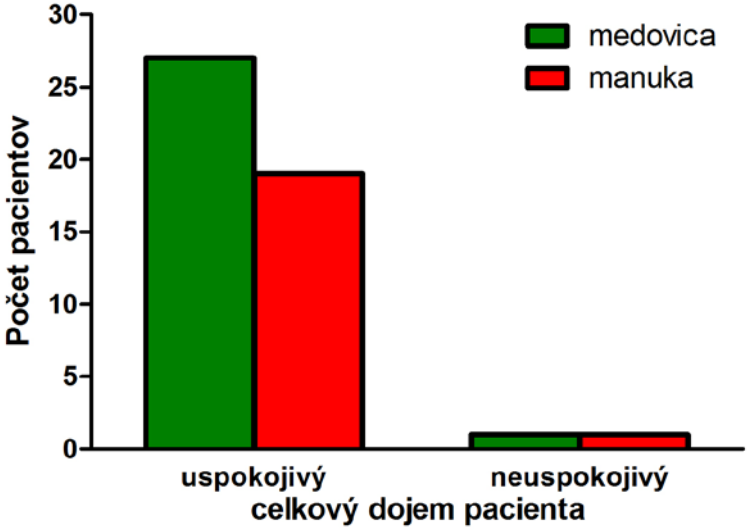
Pred a počas aplikácie medu na postihnuté miesta sa urobili stery z rany sterilným vatovým tampónom (v celkom počte 4 v týždňových intervaloch), ktoré slúžili na identifikáciu a kvantifikáciu infekčného agens a časové hodnoteniebakteriálneho zaťaženia rany.

Subjektivné pocity pacienta a efektívnosť liečby s medom

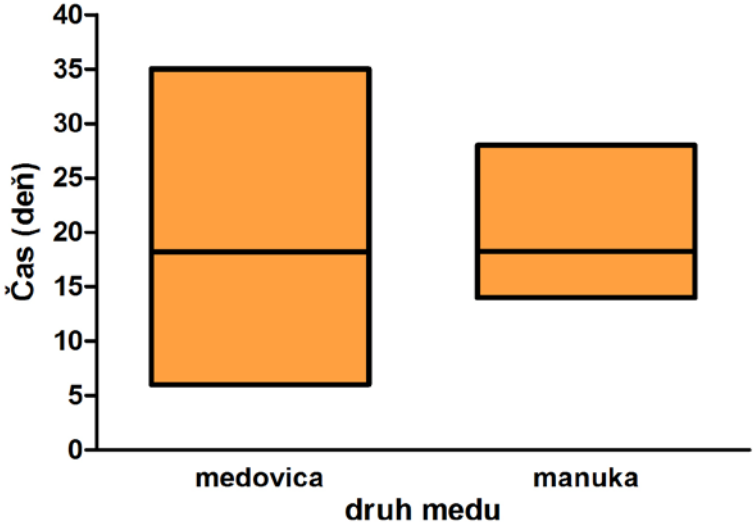
Počas liečby v rámci pravidelného odberu materiálu sa zaznamenávali aj subjektívne pocity pacientov formou dotazníkov, ako sú pocit bolesti a jej intenzita, svrbenie, nežiadúce účinky a iné.

SÚHRN DOSIAHNUTÝCH VÝSLEDKOV

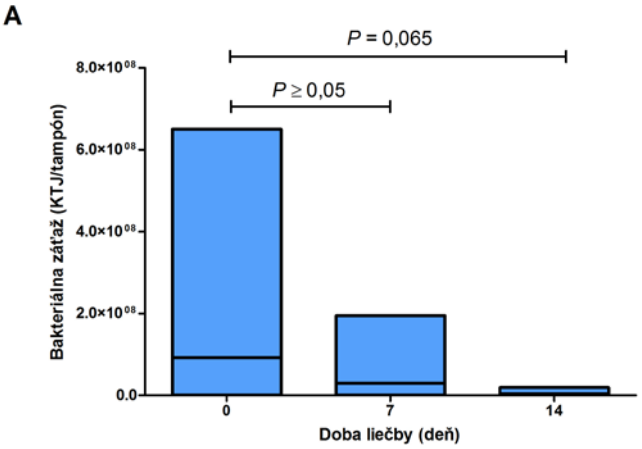
- Zistili sme, že sterilný medovicový med predstavuje bezpečnú zdravotnícku pomôcku bez vedľajších nežiadúcich účinkov s možnosťou aplikácie na rôzne druhy infikovaných rán. Počas klinických testov sme zaznamenali 2 pacientov, ktorí prerušili testovanie z dôvodu zhoršeného subjektívneho pocitu – zvýšenej bolesti.

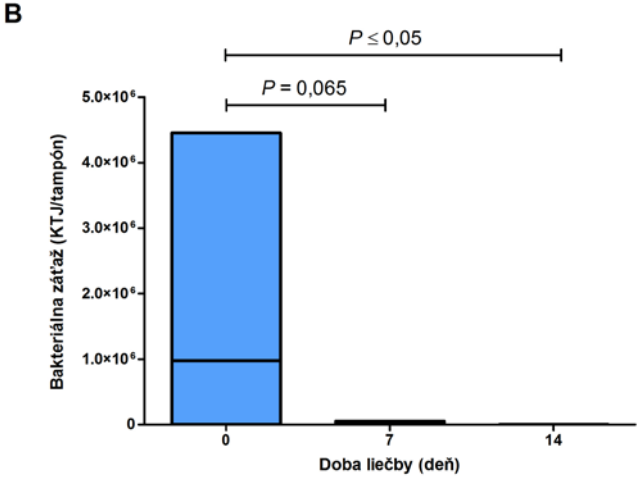


- Priemerný čas potrebný na zahojenie/zlepšenie stavu rany (elimináciu ranovej infekcie) bol pri dvoch testovaných medoch stanovený na 18 dní.



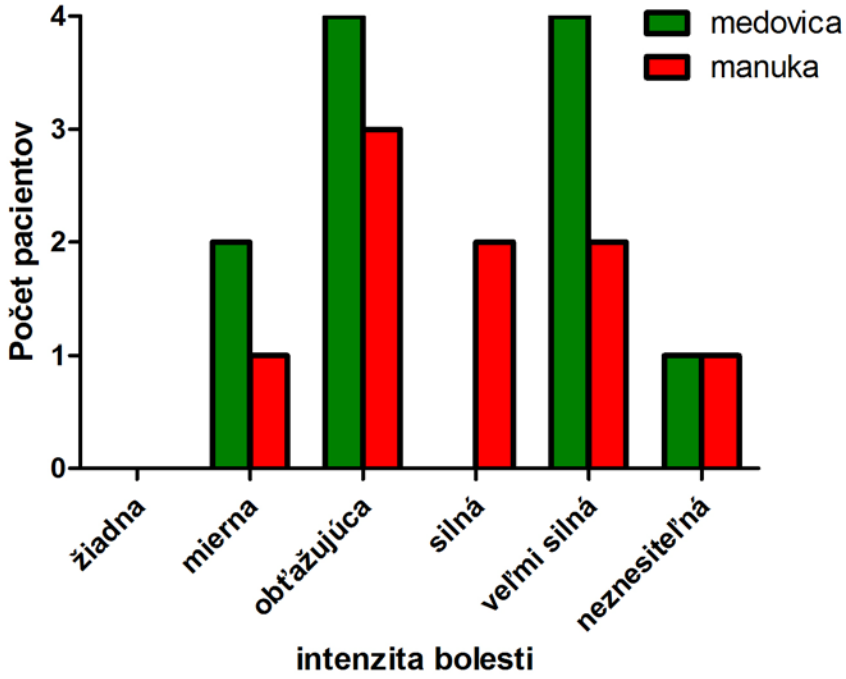
- Antibakteriálny účinok medovicového a manukového medu bol hodnotený ako schopnosť redukovať celkovú bakteriálnu záťaž rany. V prípade manukového medu bola redukcia bakteriálnej záťaže štatisticky významná po 14 dňoch liečby (Obr. A) na rozdiel od medovicového medu (Obr. B), kde pozorované zníženie nebolo štatisticky významné (P = 0,065).





- Molekulárna charakterizácia procesu hojenia rán s ohľadom na zápalovú fázu odhalila, že medovicový med znižuje proteolytickú aktivitu ranového exudátu a to čiastočne cez inhibíciu MMP-9. Podobne sme sledovali čiastočnú redukciu zápalových cytokínov (IL-6 a IL-1β) v ranových exudátoch po 14 dňoch liečby s medovicovým medom, avšak pozorovaná redukcia nebola štatisticky významná.

- Až 40% pacientov pri liečbe s medovicovým a 45% pacientov pri liečbe s manukovým medom sa sťažovali na pocit bolesti/pálenia ihneď po aplikácii sterilného medu, resp. počas 20-30 min po aplikácii medu na ranu. Išlo však iba o prechodnú bolesť. Tí pacienti, ktorí dokončili klinické testovanie hodnotili liečbu ako uspokojivú s pozitívnym výsledkom.



- Analýzou efektívnosti nákladov na liečbu nehojacich sa rán sme zistili, že liečba rán s manukovým medom je úspornejšia ako štandardná liečba. Pri predpokladanom medicínskom využití slovenského medovicového medu sa vzhľadom na jeho cenu dajú predpokladať nižšie náklady na liečbu v porovnaní s liečbou manukovým medom pri jej porovnateľnej účinnosti.

DISKUSIA

Doposiaľ získané poznatky o klinickom využití manukového medu ako zdravotnej pomôcky v lokálnej liečbe kožných defektov a popálenín nás priviedli k záveru, že pravdepodobne aj iné druhy medov môžu pozitívne vplývať na hojenie rán a popálenín. Výsledky z *in vitro* a *in vivo* laboratórnych analýz naznačili, že Slovenský medovicový med z oblasti pohoria Čergov má výrazne antibakteriálne (16, 17), anti-biofilmové (18) ako aj proti-zápalové účinky (19).

V našom výskume sme sa venovali klinickému skúšaniu medovicového medu u pacientov s nehojacimi sa ranami, resp. u pacientov s infikovanými po-operačnými ranami. Schopnosť eradikácie bakteriálnych ranových patogénov medovicovým medom bola porovnaná s antibakteriálnou účinnosťou manukového medu vo forme náplastí (Actillite^{TM}). U malej skupiny pacientov (n=8) sme sa zamerali na objasnenie mechanizmu účinku medovicového medu s ohľadom na potláčanie proteolytických a zápalových faktorov.

Väčšina klinických štúdií zaoberajúcich sa liečbou nehojacich sa rán pomocou medu rôzneho botanického pôvodu sa zameriava na klinické prejavy a vplyv terapie na stav rany, pripadne na eradikáciu bakteriálnych patogénov z rán. Medom-indukované hojenie rán je pripisované takmer výhradne antibakteriálnym vlastnostiam medu. Avšak vo svetle nedávnych zistení (20), je vysoko pravdepodobné, že med okrem svojich antibakteriálnych vlastností, vykazuje aj imunomodulačné a protizápalové účinky, ktoré by mohli pozitívne vplývať na proces hojenia rán. Podľa dvoch štúdií (21, 22), med znižuje hladinu TNF-α v rane a tiež potláča expresiu zápalových cytokínov v tkanive rany. Na základe záverov týchto štúdií sme sa zamerali na detailnú charakterizáciu dysregulácie zápalových faktorov počas lokálnej liečby rany medovicovým medom u 8 pacientov. Analýza hladín zápalových mediátorov vrátane zápalových cytokínov TNF-α, IL-1β a IL-6 počas 14 dňovej lokálnej liečby medovicovým medom neodhalila

štatisticky významnú redukciu hladín sledovaných mediátorov. Dôvody, prečo redukcia hladín nebola štatisticky významná, môžu byť: nízky počet pacientov, rôzna etiológia nehojacej sa rany a krátke monitorovacie obdobie. Len nedávno, Goss a kol. (2014) (22) študovali u 20 pacientov s chronickým vredom predkolenia vplyv medicínskeho manukového medu na hladinu TNF-α. Cytokín bol stanovovaný v ranovom exudáte v týždňových intervaloch pomocou ELISA testu po dobu 4 týždňoch. Autori štúdie zistili 15% redukciu koncentrácie TNF-α po 1 týždni lokálnej liečby s medom. Naviac ak sa v priebehu týždňa vykonal súbežne aj mechanický debridement, hladina TNF-α sa znížila až o 69%. Po 4 týždňovej liečbe bez mechanického debridementu sa koncentrácia TNF-α zredukovala o 32% voči pôvodnej hladiny TNF-α.

Z hľadiska účinnosti liečby rán dvoma druhmi medu, sme sledovali čas potrebný na zahojenie/zlepšenie stavu rany. Priemerná doba na zahojenie/zlepšenie stavu rany u oboch skupín liečených pacientov bola stanovená na 18 deň. Pri porovnaní len infikovaných pooperačných rán, ktoré tvorili najväčšiu skupiny rán u pacientov, doba zahojenia/eradikácie infekcie bola rovnaká, t.j. 18 dní u oboch medov. Avšak, u časti pacientov liečených s medovicovým medom, sa nám podarilo zlepšiť stav rany už po 6 dňoch lokálnej liečby, pričom u pacientov liečených s manukovým medom to bolo až na 14 deň.

Monitorovanie hladiny proteáz v rane odhalilo, že chronická rana na rozdiel od akútnej rany obsahuje permanentne zvýšenú hladinu proteáz, predovšetkým MMP-9. MMP-9 je považovaná za hlavnú proteázu zodpovednú za degradáciu rastových a matrix-podporujúcich faktorov v ranovom exudáte, čo vedie k zastaveniu procesu hojenia (23). Z tohto dôvodu inhibícia MMP-9 v rane by mohla viesť k obnove procesu hojenia chronických rán. Bolo publikované, že manukový med znižoval hladinu MMP-9 a MMP-2 v chronických ranách po 14-dňoch liečby o 30 a 8,5% (24). V našej práci sme monitorovali aktivitu ranových proteáz a analyzovali obsah MMP-9 v ranových exudátoch/preplachoch u 8 pacientov

s infekčnými/chronickými ranami pred a po 14 dňovej lokálnej liečbe s medovicovým medom. Zistili sme čiastočnú redukciu proteolytickej aktivity, ako aj obsahu MMP-9 u niektorých pacientov.
Zamerali sme sa aj na monitorovanie bolesti u pacientov formou dotazníka, v ktorom zaznamenávali svoje subjektívne pocity vrátane intenzity bolesti. Takmer polovica pacientov sa sťažovala na pocit bolesti/pálenia po aplikácii medu na ranu. Išlo však len o prechodnú bolesť trvajúcu 20-30 min, ktorá bola pravdepodobne spôsobená kyslosťou medu a faktom, že ide o supersaturovaný cukrový roztok. Dvaja pacienti vnímali bolesť ako neznesiteľnú a boli vyradení z klinického testovania. Napriek zaznamenanej prechodnej bolesti, tí pacienti ktorí dokončili klinické testovanie medom označili liečbu za uspokojivú s dobrým výsledokom. Zároveň u pacientov so silným zápachom z rán med účinne eliminoval tento zápach čo tiež vplývalo na ich celkové pozitívne hodnotenie liečby.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0115-11.

LITERATÚRA

1. Gottrup, F., Apelqvist, J., Price, P., 2010. Outcomes in controlled and comparative studies on non-healing wounds: recommendations to improve the auality of evidence in wound management. In *Journal of wound care* roč. 19, s. 239-268.
2. Simuth, J., Bílikova, K., Kováčova, E., Kuzmova, Z., Schroder, W., 2004. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating tnf-alpha is a regular component of honey. In *Journal of agricultural and food chemistry* roč. 52, s. 2154-2158.
3. Lusby, P.E., Coombes, A.L., Wilkinson, J.M., 2005. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. In *Archives of medical research* roč. 36, s. 464-467.
4. Allen, K.L., Molan, P.C., Reid, G.M., 1991. A survey of the antibacterial activity of some new zealand honeys. In *Journal of pharmacy and pharmacology* roč. 43, s. 817-822.

5. Russell, K.M., Molan, P.C., Wilkins, A.L., Holland, P.T., 1990. Identification of some antibacterial constituents of new zealand manuka honey. In *Journal of agricultural and food chemistry* roč. 38, s. 10-13.
6. Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G., Henle, T., 2008. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of manuka (*leptospermum scoparium*) honeys from new zealand. In *Molecular nutrition & food research* roč. 52, s. 483-489.
7. Cooper, R.A., Molan, P.C., Harding, K.G., 2002. The sensitivity to honey of gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. In *Journal of applied microbiology* roč. 93, s. 857-863.
8. Lin, S.M., Molan, P.C., Cursons, R.T., 2009. The in vitro susceptibility of *campylobacter spp*. To the antibacterial effect of manuka honey. In *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* roč. 28, s. 339-344.
9. Kwakman, P.H., te Velde, A.A., de Boer, L., Speijer, D., van den Broucke-Grauls, C.M., Zaat, S.A., 2010. How honey kills bacteria. In *Faseb journal* roč. 24, s. 2576-2582.
10. Majtan, J., Klaudiny, J., Bohova, J., Kohutova, L., Dzurova, M., Sediva, M., Bartosova, M., Majtan, V., 2012. Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: possible therapeutic implications. In *Fitoterapia* roč. 83, s. 671-677.
11. Tonks, A.J., Cooper, R.A., Jones, K.P., Blair, S., Parton, J., Tonks, A., 2003. Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. In *Cytokine* roč. 21, s. 242-247.
12. Fukuda, M., Kobayashi, K., Hirono, Y., Miyagawa, M., Ishida, T., Ejiogu, E.C., Sawai, M., Pinkerton, K.E., Takeuchi, M., 2011. Jungle honey enhances immune function and antitumor activity. In *Evidence-based complementary and alternative medicine* 2011, article id 908743.
13. Majtan, J., Kovacova, E., Bilikova, K., Simuth, J., 2006. The immunostimulatory effect of the recombinant apalbumin 1-major honeybee royal jelly protein-on tnfα release. In *International immunopharmacology* roč. 6, s. 269-278.
14. Tonks, A.J., Dudley, E., Porter, N.G., Parton, J., Brazier, J., Smith, E.L., Tonks, A., 2007. A 5.8-kda component of manuka honey stimulates immune cells via tlr4. In *Journal of leukocyte biology* roč. 82, s. 1147-1155.
15. Simon, A., Traynor, K., Santos, K., Blaser, G., Bode, U., Molan, P., 2009. Medical honey for wound care - still the 'latest resort'? In *Evidence-based complementary and alternative medicine* roč. 6, s. 165-173.
16. Majtan, J., Majtan, V., 2010. Is manuka honey the best type of honey for wound care? In *Journal of hospital infection* roč. 73, s. 305-306.

17. Majtan, J., Majtanova, L., Bohova, J., Majtan, V., 2011. Honeydew honey as a potent antibacterial agent in eradication of multi-drug resistant stenotrophomonas maltophilia isolates from cancer patients. In *Phytotherapy research* roč. 25, s. 584-587.
18. Majtan, J., Bohova, J., horniackova, m., majtan, v., 2012 anti-biofilm activity of natural honey against wound bacteria. In majtán j (ed.): honey: current research and clinical applications. *Nova science publisher*, new york, usa, isbn 978-61942-656-6. Pp. 83-106.
19. Majtan, J., Bohova, J., Garcia-Villalba, R., Tomas-Barberan, F.A., Madakova, Z., Majtan, T., Majtan, V., Klaudiny, J., 2013. Fir honeydew honey flavonoids inhibit tnf-α-induced mmp-9 expression in human keratinocytes: a new action of honey in wound healing. In *Archives of dermatological research* roč. 305, s. 619-627.
20. Majtan, J., 2014. Honey: an immunomodulator in wound healing. In *Wound repair regeneration* roč. 22, s. 187-192.
21. Hussein, S.Z., Mohd Yusoff, K., Makpol, S., Mohd Yusof, Y.A., 2012. Gelam koney inhibits the production of proinflammatory, mediators no, pge(2), tnf-α, and il-6 in carrageenan-induced acute paw edema in rats. In *Evidence-based complementary and alternative medicine* roč. 2012, 109636.
22. Goss, S.G., Alcantara, S.D., Gendics, S., Yang, Q., Schultz, G., Lantis, J.C., 2014. Medical honey may decrease pro-inflammatory cytokine production in chronically infected venous leg ulcers. In *Wound repair regeneration* roč. 22, s. A42.
23. Moor, A.N., Vachon, D.J., Gould, L.J., 2009. Proteolytic activity in wound fluids and tissues derived from chronic venous leg ulcers. In *Wound repair regeneration* roč. 17, 832-839.
24. Gethin, G., Cowman, S., 2008. Changes in mmp-2 and mmp-9 activity; surface ph and size of chronic wounds when manuka honey dressings used. In *Abstract book of european wound management association 2008*, abstrakt č. 117.

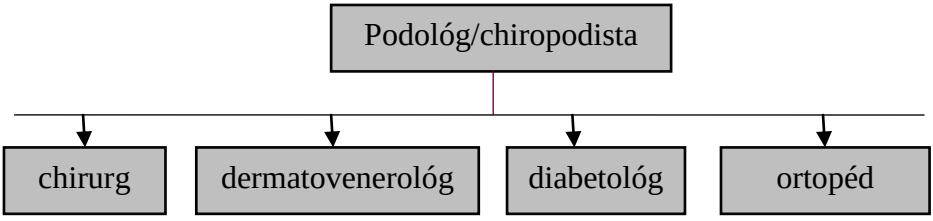
VYUŽITIE VČELÍCH PRODUKTOV V PODOLOGICKEJ A PEDIKÉRSKEJ PRAXI

Use of honeybee products in podiatry and pedicure practices

Zuzana Myšiková Černá, apiterapia@podiater.sk, *Dr. Foot, s.r.o, Dubník*

ÚVOD

Podológia je nelekársky odbor a pojem na našom území ešte nie veľmi známy. V dnešnej dobe sa za podológa/chiropodistu označuje odborný pedikér s vyšším vzdelaním, ktoré je možné získať v okolitých krajinách.
Podologické stredisko je vybavené profesionálnym podologickým prístrojom so zdravotníckym atestom, sterilizátorom, ultrazvukovou čističkou, germicídnym žiarením, sadami tvrdokovových diamantových fréz a inými nástrojmi. V podologickej praxi sa používajú iba jednorázové papierové materiály.
Podológ/chiropodista ako nelekár nemá oprávnenie stanovovať presné diagnózy a ani predpisovať lieky. Preto je nutné mať úzku medziodborovú spoluprácu s lekárskym personálom alebo pracovať pod jeho dohľadom. Podológ/chiropodista nelieči ale napomáha k úspešnej liečbe.



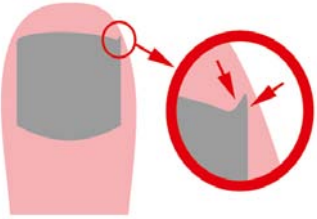
Ku každému klientovi je nutný individuálny prístup. Aj napriek spoločnému menovateľovi „ zarastený necht“, ktorý je dôvodom vzniku problému, sú problémy klientov rôzne, lebo spôsob zarastenia je odlišný. Faktormi pri zarastení je vek, pohlavie, hygienické návyky, životný štýl. Zarastenie nechtu môže vzniknúť vyvíjaním tlaku na nechtovú platničku – pri turistike,

športoch ako je tenis, squash, volejbal – zvýšená nárazovosť. Ďalším častý dôvodom je nesprávne strihanie do oblúku (ten preferujú aj pracovníci v odbore mokrej pedikúry), časté nosenie vysokej a úzkej obuvi.
Z vyššie uvedených dôvodov pri prvej návšteve zakladám kartu klienta, kde zapisujem všetky získané informácie udávané klientom. Okrem spôsobu a dôvodu zarastenia nechtu sú pre mňa nosné informácie:
- aktivity klienta vo voľnom čase,
- pracovná pozícia/zaradenie (z dôvodu výberu vhodnej obuvi),
- ochorenia klienta: diabetes mellitus, cievne a metabolické poruchy, užívanie liekov na riedenie krvi, či liečenie sa na vysoký krvný tlak.
Pri výskyte akútnej rany so súhlasom klienta vyhotovujem fotodokumentáciu o priebehu liečby. U klientov s diabetes mellitus zahájim v prípade potreby úzku spoluprácu s ošetrujúcim lekárom – diabetológom, prípadne chirurgom.
Pri ošetrení zarasteného nechtu aplikujem individuálnu šponu Ross fraser, ktorú vyrábam z dentálneho drôtu. V praxi používam dentálny drôt dvoch hrúbok a to 0,4 a 0,5 mm. Voľba hrúbky dentálneho drôtu a jeho použitie je závislé od miery poškodenia nechtovej platničky a jej hrúbky. Preferujem jedno-omegové slučky, ktoré mi zabezpečujú ťah. V prípade nutnosti aplikujem aj dvoj-omegovú prípadne až troj-omegovú kombinovanú šponu.

1-omegová špona | 2-omegová špona | 3-omegová špona | 3-omegová kombinovaná špona

Možnosti/spôsoby zarastenia nechtov:

Zarastenie nechtu môže vzniknúť už v detskom veku, kedy je nechtová platnička širšia a tvarovo nie je prispôsobivá nechtovému valu. Najčastejšie sa so zarastením nechtov stretávame v dospievajúcom veku, kedy zodpovednosť za strihanie nechtov prechádza z rodiča na dospievajúce dieťa.



Rodič vyhľadáva pomoc odborného pedikéra/chiropodistu až keď ide o akútny stav a v mieste zarastenia nechtov vzniká akútna rana s výskytom granulózneho tkaniva, prípadne tzv. divokého mäsa. Vo väčšine prípadov je v rane prítomná baktéria *Staphylococcus aureus*.

V prípadoch vyobrazených vyššie som doposiaľ volila vyšetrenie u kožného lekára z dôvodu možného výskytu *Staphylococcus aureus*. Pri potvrdení jeho výskytu a nasadení ATB liečby som až po uplynutí 7 dní osádzala individuálnu šponu Ross fraser a pokračovala v spolupráci s kožným lekárom na čistení a ošetrení rany.

Celková liečba sa v týchto prípadoch predlžuje práve o nutnosť urobiť ster a užívať ATB. Okrem pravidelného čistenia je nutná aj vzájomná spolupráca

medzi klientom a ošetrujúcim personálom. Faktory, na ktoré je nutné prihliadať sú: športové aktivity dospievajúceho klienta, hygienické návyky, voľba vhodnej priedušnej obuvi a prednosť nosenia bavlnených ponožiek. Počas liečby sa neodporúča nosiť kompletné kompresné podkolienky.
Jednoduchšia liečba zarastenia nechtu, ktoré bolo spôsobené nesprávnym strihaním, je u dospelého človeka a to hlavne z dôvodu väčšej disciplíny a vzájomnej spolupráce pri ambulantnom a domácom ošetrení.

Kazuistika 1:
Po prvom ošetrení, vyčistení nechtového valu a aplikácií individuálnej špony Ross fraser bola začatá terapia propolisovou tinktúrou. Tinktúra bola aplikovaná na kopolínovú tamponádu, ktorá je uložená do medzipriestoru nechtového valu a nechtovej platničky.
Celková úľava sa prejavila už v prvý deň po ošetrení. Liečba bola ukončená až po odrastení kompletnej šírky celej nechtovej platničky.

Kazuistika 2:
Nechtová platnička niekoľkokrát po čiastočnej ablácií. Konečné rozhodnutie chirurga – plastická úprava nechtového lôžka.
Tri dni po chirurgickom zákroku a odstránení stehov, bol aplikovaný slovenský sterilný medovicový med poskytnutý Ústavom Zoológie SAV v 5 hodinových intervaloch. Po troch dňoch je viditeľný výsledok.

Pre porovnanie uvádzam prípad klienta, ktorý rovnako absolvoval plastiku nechtového lôžka. Na miesto po chirurgickom zákroku nebol aplikovaný žiadny preparát ani neboli vykonané čistenia. Tento proces trval 9 dní.

Kazuistika 3:

Klientka udávala bolesť po popálenine spôsobenej v domácom prostredí horúcou bravčovou masťou. Na miesto výskytu popáleniny a blízkeho okolia bol aplikovaný slovenský sterilný medovicový med poskytnutý Ústavom Zoológie SAV. Za pomoci neadherentného krytia a medu bolo vytvorené vlhké prostredie pre hojenie rany. Miesto bolo odľahčené samolepiacou haplou a prekryté priedušnou fixačnou náplasťou z netkanej textílie vhodnou pre použitie u diabetického pacienta.

Kazuistika 4:

Klient pod dohľadom chirurga, diabetický pacient, fajčiar. Denné čistenie praskliny roztokom s obsahom koloidného striebra o koncentrácii 20 ppm a aplikáciou propolisového balzamu na hyperkeratotické miesta v okolí rany a medicínskeho medu na ranu s aplikáciou neadherentného krytia pre vytvorenie vlhkého prostredia. Miesto zvýšeného tlaku bolo odľahčené upravenou haplou a prekryté priedušnou fixačnou náplasťou z netkanej textílie určenou pre diabetických pacientov. Z dôvodu miesta výskytu (odrazová časť chodidla) odľahčenie aj úpravou vložky do topánky

Kazuistika 5:

Klient pod dohľadom chirurga po čiastočnej obojstrannej ablácií nechtovej platničky. Výskyt rany na oboch stranách nechtového valu. Potvrdená prítomnosť *Staphylococcus aureus*. Ošetrenie aplikáciou individuálnej špony Ross fraser, kopolínovej tamponády do medzipriestoru nechtového valu a nechtovej platničky. Prečistenie propolisovou tinktúrou. Aplikácia slovenského sterilného medovicového medu poskytnutého Ústavom Zoológie SAV v 5 hodinových intervaloch.

Prvá kontrola po 24 hodinách – eliminácia zápachu, zníženie zápalového prejavu, zníženie opuchu nechtových valov čo vytvorilo automaticky väčší priestor pre zdvihnutie nechtovej platničky z rany.

Kazuistika 6:

Klient s diagnózou tzv. „starecká mykóza“. Spôsob ošetrenia: zníženie hrúbky nechtovej platničky,vyčistenie nechtových valov a uvoľnenie časti zarastenej nechtovej platničky vo vnútornej oblasti palca.

Z dôvodu narušenia integrity kože, aplikácia slovenského sterilného medovicového medu. Kontrola po 24 hodinách. Miesto porušenia integrity kože bez známok zápalu.

Kazuistika 7:

Obdobný prípad ako vyššie. Rovnaký postup – individuálna spona s dvomi omegami pre rýchlejšiu účinnosť zmeny tvaru nechtovej platničky. Aplikácia slovenského sterilného medovicového medu do miesta odstránenia zarastenej časti nechtovej platničky. Kontrola po 18 hodinách.

Kazuistika 8:

Zarastenie nechtu spôsobené nesprávnym strihaním klienta na oboch stranách. Prvé ošetrenie: aplikácia individuálnej spony Ross fraser, zvolená bola jedno omegová spona s hrúbkou 0,5 mm. Aplikácia slovenského sterilného medovicového medu v domácom prostredí. Prvá kontrola po 5 dňoch. Miesto bez výskytu hnisu a zápachu, zníženie opuchu. Uvoľnenie časti nechtu, ktorý ležal voľne v nechtovom vale. Po jeho odstránení pokračovanie v terapii medom, solného kúpeľa a propolisovej tinktúry.

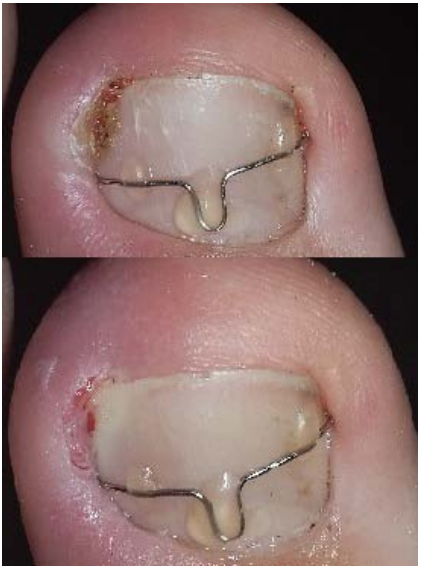
Kazuistika 9

Dospievajúci klient po niekoľkých čiastočných abláciach nechtovej platničky dôvodom čoho je výskyt tenkých tŕňov v nechtovom vale obalených do kožného tkaniva. Pnutie v nechtových valoch vyvolávalo tlak, bolesť a pulzovanie. Po aplikácií spony bolo vykonané čistenie valov postupným jemným odstraňovaním zostatkov nechtovej platničky z minulosti. Aplikácia slovenského sterilného medovicového medu v domácom prostredí. Rýchly nástup účinku.

Kazuistika 10

Aplikácia špony Ross fraser a slovenského sterilného medovicového medu poskytnutého Ústavom Zoológie SAV u dospievajúceho chlapca s potivou nohou. Účinky terapie medom viditeľné po 3 hodinách.

Aj napriek rýchlemu účinku u tohto klienta nie je dodržaná disciplína. Odmieta nosiť vzdušnú obuv. Aktivitou vo voľnom čase je rybárčenie. Z tohto dôvodu liečba trvá dlhšie, čím je možné poukázať, že každá terapia je závislá aj na prístupe samotného klienta.



Kazuistika 11

Rovnako chlapec v dospievajúcom veku. Zarastenie spôsobené nesprávnym strihaním nechtov. V prvotnom štádiu po nasadení Ross fraser špony a aplikácií kopolinovej tamponády bola počas terapie aplikovaná len propolisová tinktúra. Neskôr bola terapia doplnená o medovicový med.

ZÁVER

Pri zarastajúcich nechtoch je sprievodným javom narušenie kožného krytu, čím dochádza k zníženiu ochrannej bariéry. Výsledkom môže byť vznik infekcie.
Primárne hojenie rán býva po aplikácií medovicového medu efektívne, bez komplikácií s minimálnym výskytom granulačného tkaniva – pokiaľ je odstránená príčina.
Možnosť aplikácie medu výrazne skracuje dobu liečby, eliminuje zápach, potláča zápal. Jeho antibakteriálne účinky majú rýchly nástup pri výskyte *Staphylococcus aureus*. Pri ambulantnom ošetrení je ale nutná spolupráca medzi klientom a ošetrujúcim personálom. Preto po každej aplikácií individuálnej špony Ross frases a zahájení terapie alternatívnou cestou - použitím včelích produktov, obdrží klient presný popis a inštrukcie k ošetreniu v domácom prostredí.
Po úspešne ukončenej terapii prejde klient záverečnou edukačnou fázou, prípadne si pred ošetrujúcim personálom sám vykoná správne skrátenie a úpravu nechtov a aplikáciu tamponády ako výstelky nechtovej platničky. Jazvy, ktoré ostávajú v nechtovom vale sú i naďalej veľmi citlivé a ľahko môže dôjsť k ich narušeniu z dôvodu ostrých krajov nechtovej platničky.
V mojej praxi okrem slovenského sterilného medovicového medu používam aj propolisový balzam pri šupinatých ploskách s možným výskytom lupienky /psoriázy. Propolisový balzam eliminuje tvorbu šupín a dodáva pokožke elasticitu. U diabetických pacientov tak predchádzame poraneniam, ktorých príčinou môžu byť zatrhnutia kože.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0115-11.

POUŽITIE MEDU V OFTALMOLÓGII

Usage of honey in ophthalmology

Nora Majtánová, nora.majtanova@gmail.com, *Očné oddelenie SZU a UNB, Bratislava*
Erika Vodrážková, erika.vodrazkova@yahoo.com , *Očné oddelenie SZU a UNB, Bratislava*
Andrej Černák, andrej.cernak@szu.sk, *Očné oddelenie SZU a UNB, Bratislava*
Juraj Majtán, juraj.majtan@savba.sk, *Ústav Zoológie, SAV, Bratislava*

Pozitívne výsledky z aplikácií medu na chronické rany mali za následok, že med sa začal testovať a používať aj v ostatných odvetviach medicíny, t.j. všade tam, kde je nevyhnutné eliminovať infekcie častokrát spôsobené multirezistentnými baktériami. Oftalmológia sa stala jednou zoblastí s možnosťou lokálnej aplikácie medu. Existuje viacero dôkazov o úspešnosti liečby medom pri niektorých očných ochoreniach - syndróm suchého oka (1, 2), bulózna keratopatia (3), liečba zákalov rohovky u pacientov po prekonaní herpetickej keratitídy (4) a podporná liečba pri vernálnej keratokonjuktivitíde (5). Ďalej sa ukázalo, že med redukuje začervenanie, opuchnutie a čas potrebný k eradikácii bakteriálnej infekcie pri zápale spojoviek (6).

So stúpajúcim počtom invazívnych chirurgických výkonov v oftalmológii sa vytvára klinické prostredie, v ktorom majú mikroorganizmy možnosť infikovať oko. S cieľom zabrániť komplikáciám, ktoré sa môžu vyskytnúť po chirurgickom výkone, sa vo väčšine prípadov používa lokálna aplikácia preparátov fluorochinolónov. Pooperačne zabraňujú výsevu infekcií v prednom segmente oka. Predovšetkým po operácii katarakty je najčastejšie popisované riziko vzniku pooperačnej endoftalmitídy (7). Rozsiahla časť prípadov pooperačných endoftalmitíd (48-70%) je spôsobená s koagulázanegatívnym stafylokokom.

Hoci široké spektrum antibiotík má účinnú antimikrobiálnu aktivitu a preniká očnými štruktúrami, rapídny vývoj fluorochinolónovej rezistencie môže

zamedziť ich používaniu v bežnej praxi (8-11). Vzhľadom na dlhodobé používanie antibiotík sa stáva vážnym celosvetovým problémom objavujúca sa antibiotická rezistencia pri očných zápaloch.

Zistilo sa, že pacienti so suchým okom sú voči bakteriálnym konjunktivitídam liečeným fluorochinolónom rezistentnejší (12). Dominantným aeróbnym mikroorganizmom izolovaným u pacientov liečených na syndróm suchého oka zo spojovkového vaku je koaguláza-negatívny *S. aureus* (12, 13). Albietz and Lenton (2) popísali , že med signifikantne znížil formovanie celkových koloniálnych jednotiek v mihalniciach a spojovkách u pacientov so suchým okom po jednom a po troch mesiacoch terapie.

V našej nedávnej štúdii (14) bol medovicový med použitý ako potenciálny profylaktický antimikrobiálny agent u 49 pacientov, u ktorých bol plánovaný chirurgický výkon - operácia katarakty alebo vitrektómia. Boli zaznamenané porovnateľné antibakteriálne potenciál ako má ofloxacín a fluorochinolón druhej generácie v eradikácií očných patogénov v perioperačnom období. Med v 25% (w/v) koncentrácii výrazne redukoval výskyt Gram-pozitívnych baktérií vrátane koaguláza-negatívneho *S. aureus*, ako aj Gram-negatívnych baktérií identifikovaných v oku. Nebol zaznamenaný rozdiel v profylaktickej antimikrobiálnej účinnosti medzi lokálnou aplikáciou 0,3% ofloxacínu a 25% roztoku medu u pacientov plánovaných na chirurgický výkon. Teda, med môže poskytnúť efektívnu ochranu voči očným patogénom rezistentným na antibiotiká, ktoré môžu ohroziť oko a následne zrakovú ostrosť a kvalitu života pacienta.

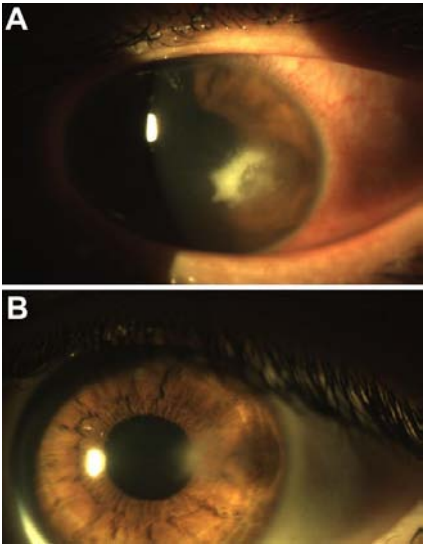
Jednou z nežiadúcich komplikácií vyskytujúcich sa pri operácii predného segmentu oka, prípadne aj zadného segmentu (tamponáda), je bulózna keratopatia. Bulózna keratopatia je charakterizovaná stromálnym edémom rohovky s epiteliálnymi alebo subepiteliálnymi bulami spôsobenými stratou buniek a endoteliálnou dekompenzáciou. Táto komplikácia sa po operácii katarakty vyskytuje pod 1%, ale vzhľadom na pokroky v chirurgii katarakty možno očakávať ďalšie znižovanie výskytu tejto komplikácie (15). Poškodenie endotelu môže byť dôsledkom mechanického kontaktu

s inštrumentmi alebo šošovkou počas operácie, toxickou reakciou na roztoky používané peroperačne, neskúsenosťou operatéra alebo predĺženým a intenzívnym zápalovým procesom v pooperačnom období. U pacientov dochádza k vývoju bulóznej keratopatie, keď sa hrúbka strómy zväčší približne o 30%. Pri epiteliálnom edéme epitel rohovky stráca svoju homogenitu a jeho povrch sa stáva nepravidelným. Táto nepravidelnosť povrchu spôsobuje zníženie zrakovej ostrosti spolu so symptómami ako haló okolo svetiel, glare, fotofóbie spôsobené rozptylom svetla. V minulosti bola perforačná keratoplastika najefektívnejším spôsobom liečby symptomatického štádia ochorenia, v súčasnosti sa indikuje aj hlboká zadná lamelárna keratoplastika. Medikamentózna liečba bulóznej keratopatie s využitím 5% roztoku NaCl bola užitočná vzhľadom na relatívne nízky osmotický efekt (16). Užitočná sa ukázala aj aplikácia hypertonického soľného roztoku v skorých štádiách ochorenia, keď je postihnutá edémom len stróma, výrazne sa zlepšila zrakovú ostrosť (16). Ďalšou možnosťou terapie je dočasné krytie kontaktnou šošovkou.

Štúdiá ukázali, že ako alternatívna medikamentózna liečba bulóznej keratopatie môže byť využitý med. Osmotický tlak medu je extrémne vysoký, prekračuje 2000 milliosmol/kg (17). Mansour a kolegovia (17) uskutočnilii klinickú štúdiu, pri ktorej 16 pacientov s edémom epitelu rohovky, ktorí neboli indikovaní na chirurgický výkon, podstúpilo lokálnu terapiu s medom. Kvapka medu bola aplikovaná na rohovku 4-5-krát denne. Na všetkých rohovkách zistili okamžitý ústup edému rohovky. Buly epitelu zmizli v dvoch očiach. Všetci pacienti pri lokálnej aplikácii cítili štípanie, ktoré však pri opakovanej aplikácii ustúpilo a diskomfort sa znížil na minimum. Lokálna aplikácia medu zlepšila centrálnu zrakovú ostrosť, znížila bolesť z bulóznej keratopatie a umožnila vizualizáciu štruktúr predného a zadného segmentu. Aj v inej štúdii bol med aplikovaný na rohovky u 24 pacientov s bulóznou keratopatiou (18). Zlepšenie zrakovej ostrosti a vyčírenie rohovky do 1 hodiny po lokálnej aplikácii medu bolo zaznamenané u všetkých pacientov.

Med má dve dôležité terapeutické vlastnosti - antimikrobiálnu a protizápalovú. Z toho dôvodu sa javí ako vhodný kandidát na terapiu ochorení suchého oka. Keďže využívanie medu v klinickej praxi narastá a výrazne sa rozvíja aj vývoj nových medicínskych produktov na báze medu, možno očakávať, že ochorenie suchého oka sa stane jedným z cieľových ochorení na alternatívnu terapiu medom. Bohužiaľ, doposiaľ bola publikovaná len 1 štúdia o liečbe syndrómu suchého oka instiláciou kvapiek roztoku medu (1), kde sa dokázal pozitívny vplyv 20% roztoku medových očných kvapiek na stav rohovky a spojovky u pacientov so syndrómom suchého oka. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté u pacientov, u ktorých bola terapia zahájená včas, pokiaľ bola centrálna zraková ostrosť v norme a epitel rohovky nebol poškodený. Okrem lokálneho štípania u niektorých pacientov neboli zdokumentované iné nežiaduce reakcie. Predpokladáme, že štípanie môže byť spôsobené aciditou medu.

Bakteriálna keratitída predstavuje ďalší druh ochorenia vhodný pre priamu aplikáciu medu. Ide o závažne ochorenie, pričom *Pseudomonas aeruginosa* je hlavný očný patogén, ktorý spôsobuje bakteriálnu keratitídu, častokrát spojenú s používaním kontaktných šošoviek (19). Nevhodne zvolená liečba, resp. podcenenie bakteriálnej keratitídy môže viesť až k tvorbe vredov na rohovke. V našej nedávnej vedeckej práci sme uviedli kazuistiku, ktorá dokresľuje pozitívny účinok medu v kombinácii s lokálnymi antibiotikami na priebeh a liečbu vredu rohovky (Obr. 1) (20, 21). Liečenie ochorení oka založené na medikamentóznej alebo operačnej terapii. V komplikovaných prípadoch, po zlyhaní konvenčnej liečby, sa často využíva alternatívny spôsob liečby. Liečba medom predstavuje nádejný spôsob alternatívnej, resp. komplementárnej liečby. Med môže byť úspešne použitý na redukciu symptómov syndrómu suchého oka, ako aj pri liečbe bulóznej keratopatie. Med vykazuje výrazné antibakteriálne, protizápalové a anti-kataraktové účinky pri terapii oka.



Obr. 1. Paracentrálny vred rohovky pred komplementárnou liečbou a po nej s 25% sterilným roztokom medovicového medu (Majtanova et al, 2015).

Doposiaľ získané klinické výsledky pri aplikácii medu v oftalmológii sú však malé a je nevyhnutné vykonať ďalšie robustnejšie randomizované klinické skúšky s cieľom overiť bezpečnosť a účinnosť medu pri liečbe rôznych ochorení oka. Overenie bezpečnosti využívania medu v oftalmológii súvisí s včasnou diagnostikou možných alergických reakcií na med u pacientov.

POĎAKOVANIE

Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0115-11.

LITERATÚRA

1. Jankauskiene J, Jarushaitiene D, Cheksteryte V, Rachys J. Using 20% honey solution eye drops in patients with dry eye syndrome. J Apic Res. 2007;46:232-5.
2. Albietz JM, Lenton LM. Effect of antibacterial honey on the ocular flora in tear deficiency and meibomian gland disease. Cornea. 2006;25:1012-9.

3. Sethi HS, Rai HK. Bullous keratopathy treated with honey. Acta Ophthalmol Scand. 2005;83:263-.
4. Mozherenkov VP, Prokofjeva GL. Apiterpiia glaznykh zabolevanii. [Apitherapy of eye diseases]. Vestn Oftalmol. 1991;107:73-5.
5. Salehi A, Jabarzare S, Neurmohamadi M, Kheiri S, Rafieian-Kopaei M. A double blind clinical trial on the efficacy of honey drop in vernal keratoconjunctivitis. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:287540.
6. Al-Waili NS. Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. J Med Food. 2004;7:210-22.
7. West ESB, A, McDonnell PJ, Tielsch JM, Schein OD. The increase of endophtalmitis after catarct surgery among the U.S. Medicare population increased between 1994 and 2001. Ophthalmology. 2005;112:1388-94.
8. Benz MS, Scott IU, Flynn Jr HW, Unonius N, Miller D. Endophthalmitis isolates and antibiotic sensitives: a 6 year review of culture-proven cases. Am J Ophthalmol. 2004;137:38-42.
9. Miller D, Flynn PM, Scott IU, Alfonso EC, Flynn Jr HW. In vitro fluoroquinolone resistance in staphylococcal endophthalmitis isolates. Arch Ophthalmol. 2006;124:479-83.
10. Miyanaga M, Nejima R, Miyai T, Miyata K, Ohashi Y, Inoue Y, et al. Changes in drug susceptibility and the quinolone-resitance determining region of *Staphylococcus epidermidis* after administration of fluoroquinolones. J Cataract Refract Surg. 2009;35:1970-8.
11. Park SH, Lim JA, Choi JS, Kim KA, Joo CK. The resistance patterns of normal ocular bacterial flora to 4 fluoroquinolone antibiotics. Cornea. 2009;28:68-72.
12. Hori Y, Maeda N, Sakamoto M, Koh S, Inoue T, Tano Y. Bacteriologic profile of the conjuctiva in the patients with dry eye. Am J Ophthalmol. 2008;146:729-34.
13. Hori Y, Maeda N, Sakamoto M, Inoue T, Tano Y. Fluoroquinolone-resistant bacteria and methicillin-resistant Staphylococci from normal preoperative conjuctiva. J Cataract Refract Surg. 2008;34:711-2.
14. Cernak M, Majtanova N, Cernak A, Majtan J. Honey prophylaxis reduces the risk of endophthalmitis during perioperative period of eye surgery. Phytother Res. 2012;26:613-6.
15. Crandall AS, Raber I, Teske MP, White GL. Ophthalmology: Diseases of the eye. In: Lawrence PF, editor. Essentials of surgical specialties. Third ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p. 467.

16. Knezovic I, Dekaris I, Gabric N, Cerovski J, Barisic A, Bosnar D, et al. Therapeutic efficacy of 5% NaCl hypertonic solution in patients with bullous keratopathy. Coll Antropol. 2006;30:405-8.
17. Mansour AM. Epithelial corneal oedema treated with honey. Clin Experiment Ophthalmol. 2002;30:149-50.
18. Mansour AM, Zein W, Haddad R, Khoury J. Bullous keratopathy treated with honey. Acta Ophthalmol Scand. 2004;82:312-3.
19. Hazlett LD. Bacterial infections of the cornea (*Pseudomonas aeruginosa*). Chem Immunol Allergy. 2007;92:185-94.
20. Majtan J. Honey: Current Research and Clinical Applications. New York: Nova Science Pub Incorporated, 2012.
21. Majtanova N, Vodrazkova E, Kurilova V, Horniackova M, Cernak M, Cernak A, et al. Complementary treatment of contact lens-induced corneal ulcer using honey: a case report. Contact Lens Anterior Eye. 2015;38:61-3.

MOŽNOSTI ELIMINÁCIE BIOFILMU V CHRONICKÝCH RANÁCH MANUKOVÝM MEDOM

Manuka honey eradicates biofilm in non-healing wounds

Gabriela Bellová, bellova@bellamed.sk, *BELLAMED,s.r.o., Brezno*

V ambulantnej dermatovenerologickej praxi sa stretávame denne s chronickými ranami rôznej etiológie. Z etiologického hľadiska sú najčastejšie zmiešané typy rán - približne 59%, varikózne 26%, diabetické 5%, posttromboflebitické 4,6%, ischemické 3%, posttraumatické 1,8%, menšie percentá iné typy rán.

Z hľadiska osídlenia mikrobiálnymi kmeňmi sa vyskytujú hlavne *Staphylococcus aureus* (rezistentné formy), *Proteus mirabilis*, Enterobaktérie, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* sp., Streptokoky, *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp.

Častým terapeutickým problémom pri liečbe chronických rán je alergia kontaktného typu na zložky liečivých extern, ktoré pacienti dlhodobe používajú. Najčastejšie sa stretávame s kontaktným typom precitlivenosti na peruánsky balsam, parfémy (fragrance mix), lanolín, parabény, kolofóniu a cliquinol.

Z pohľadu klinického dermatológa je zaujímavá stagnácia chronických rán z dôvodu vytvorenia „biofilmu“. Biofilm je spoločenstvo mikroorganizmov žijúcich na určitom mieste organizmu v symbióze. Tenká vrstva mikroorganizmov je zapuzdrených v extracelulárnej hmote na povrchu akútnych a chronických rán. Fyziologicky a morfologicky sú odlišné od voľne žijúcich baktérií.

Následkom opakovaných neúspešných pokusov organizmu o elimináciu infekcie je rozširujúca infekcia, pretrvávanie chronického zápalového stavu a nehojenie rán.

V tejto fáze hojenia zohráva kľúčovú úlohu manukový med, s ktorým pracujeme pri liečbe chronických rán už 7 rokov. Jeho kľúčové účinky účinky sú: debridement- narušenie biofilmu a následné vyčistenie rany,

osmotický efekt, protizápalové, antibakteriálne, imunostimulačné účinky. Jedná sa o biologický obväz na rany s viacerými bioaktívnymi zložkami, ktoré synergicky pôsobia v procese hojenia rán. Z klinickej praxe vyplýva, že: (i) koncentrácia manukového medu nad 10% (hmotnostných) je schopná zabrániť vytvoreniu biofilmu u všetkých testovaných organizmov *in vitro* a (ii) inhibícia už vytvoreného biofilmu manukovým medom je závislá na koncentrácii medu a na čase - 40% manukový med je schopný inhibovať rast už vytvoreného biofilmu z testovaných organizmov až na 24 hodín.

V dnešnej ére rezistencie bakterií, neúčinnosti antibiotickej liečby a existencie biofilmu zohráva MED kľúčovú a nezastupiteľnú úlohu pri liečbe rán rôzneho pôvodu.

Príklady použitia manukového medu v klinickej praxi:

FINANČNE PODPORILI

MEDAR

VČELIA FARMA

LAMBDA LIFE

ISBN 978-80-970326-7-8

9 788097 032678