МЕД КАО ЛОКАЛНО АНТИБАКТЕРИЈСКО СРЕДСТВО

Љубомир Панајотовић¹, Раде Панајотовић², Марко Панајотовић³

HONEY AS A LOCAL ANTIBACTERIAL AGENT

Ljubomir Panajotović, Rade Panajotović, Marko Panajotović

Сажетак

Мед је древни лек за лечење инфицираних рана, који је недавно медицинска струка „поново открила“, нарочито за случајеве где су се модерна терапијска средства показала неуспешним. Антибактеријска својства меда и његови ефекти на зарастање рана су предмет детаљних истраживања. Лабораторијске студије и клиничка испитивања су показала да је мед ефикасан антибактеријски агенс широког спектра. Многи до сада објављени радови описују ефикасност меда у брзом санирању инфекције ране, без штетних ефеката и успорења процеса оздрављења. Ови ефекти су приписани киселости меда, садржају водоник-пероксида, осмотском ефекту, антиоксидативним материјама, стимулацији имунитета и додатним једињењима. Мед из различитих географских подручја има значајне терапијске ефекте у лечењу хроничних рана. Мед одабран за клиничку употребу треба евалуирати у погледу антибактеријске активности. Досадашња искуства и резултати подржавају употребу меда у клиничкој пракси као природног и сигурног локалног антибактеријског средства у лечењу инфицираних рана.

Кључне речи: мед, инфициране ране, лечење.

Summary

Honey is an ancient remedy for the treatment of infected wounds, which has recently been „rediscovered“ by the medical profession, particularly where conventional modern therapeutic agents are failing. Honey's antibacterial properties and its effects on wound healing are the subject of detailed research. Laboratory studies and clinical trials have shown that honey is an effective broad-spectrum antibacterial agent. There are now many published reports describing the effectiveness of honey in rapidly clearing infection from wounds, with no adverse effects to slow the healing process. These effects are ascribed to honey's acidity, hydrogen peroxide content, osmotic effect, antioxidant substances, stimulation of immunity, and to additional compounds. Honeys from different geographic regions present significant therapeutic effects in treating of chronic wounds. Honey selected for clinical use should be evaluated in terms of antibacterial activity. Previous experiences and results support the use of honey in clinical practice as a natural and safe local antibacterial agent in the treatment of infected wounds.

Keywords: honey, infected wounds, treatment.

¹ Љубомир Панајотовић, Европски универзитет, Београд (European University Belgrade).

² Раде Панајотовић, Медицински факултет Универзитета у Београду (School of medicine, University of Belgrade).

³ Марко Панајотовић, Медицински факултет Универзитета у Београду (School of medicine, University of Belgrade).

УВОД

Много радова је написано о биоактивности меда. Докази изнети у њима указују да мед има здравствено-корисна дејства: гастропротективно, хепатопротективно, репродуктивно, хипогликемичко, антиоксидантно, антихипертензивно, антибактеријско, антигљивично и антиинфламаторно.⁽¹⁾

Мед има повољно антибактеријско деловање због својих хемијских и физичких својстава: високог садржаја шећера (осмотски фактор), садржаја ензима глюкоза-оксидазе, који омогућује ослобађање водоник-пероксида, киселог рН, садржаја противбактеријских, фенолних материја које потичу из биљака, способности да створи физичку запреку између ране и спољног окружења. Поред директног антибактеријског, мед има и антиинфламаторно, дебридирајуће, дезодорантно и антиоксидантно дејство, што му повећава ефикасност у лечењу инфицираних рана. Због свега овог, мед се може сматрати као антимикуробни агенс са локалним дејством и способношћу да промовише зарастање рана.⁽²⁾

АНТИМИКРОБНЕ КОМПОНЕНТЕ МЕДА

Мед се користио за лечење заражених рана много пре него што је откривено да су микроорганизми узрок инфекције. Мед је можда први забележени лек, документован у папирусима старог Египта, који датирају између 2600–2200. године пре нове ере.⁽³⁾ Староримски лекар грчког порекла Педаниус Диоскоридес у свом делу „*De Materia Medica*“, насталом између 50. и 70. године нове ере, писао је да је мед „добар за све труле и шупље ране“.⁽⁴⁾ Много касније објављено је да мед има инхибиторни ефекат на око 60 врста бактерија, укључујући аеробе и анаеробе, грам-позитивне и грам-негативне.⁽⁵⁾ Регистрована је и антифунгална активност, одн. способност за уништавање неких квасаца и врста гљива *Aspergillus* и *Penicillium*, као и све честе дерматофите.⁽⁶⁾

Са појавом антибиотика клиничка примена меда је потпуно престала у модерној западној медицини, док се у неким културама и даље задржала.⁽⁷⁾ Масовном неконтролисаној примени антибиотика, међутим, дошло је до пораста развоја резистенције бактерија на њихово дејство широм света. Потентна антибактеријска активност меда против антибиотик-резистентних бактерија и непостојање микробне резистенције на мед обновила је интерес за његову примену.^(8–10) Широки спектар рана се третирао широм света природним непрерађеним медом из различитих извора.⁽¹⁰⁾ У медицинску употребу се све више уводи тестирани сертификовани мед. *Medihoney™* је била једна од првих медицински сертификованих врста меда лиценцираних као медицински производ за професионалну негу ране (састоји се од стандардне смеше различитих *Leptospermum* spp. врста меда).^(10, 11)

Мед поседује више антимикуробних својстава и може деловати преко различитих механизма. Велики број различитих врста меда широм света, чије су порекло разне биљке, има и различите механизме антимикуробног дејства. У хемијском смислу, мед је сложена супстанца чији су антимикуробни састојци добро дефинисани.⁽¹¹⁾ Међутим, све врсте меда нису једнаке,^(12–13) а нове биоактивне компоненте се још увек откривају.

Зрео мед се састоји од 80% шећера, углавном глюкозе и фруктозе и нешто сукрозе и малтозе, и <18% воде. Висока концентрација шећера комбинована са ниским процентом влажности узрокује осмотски стрес који превенира загађење меда микроорганизмима. Само мала дилуција меда може резултирати порастом гљивица. Садржај шећера у меду је довољан да задржи антибактеријску активност када се дилуира и до приближно 30–40%. При већој дилуцији шећера антибактеријску активност преузимају други састојци меда.^(7–8)

Шездесетих година прошлог века водоник-пероксид (H_2O_2) идентификован је као најзначајнији антибактеријски састојак меда.⁽¹⁴⁾ Ензим глукоза оксидаза, који додају пчеле прикупљеном нектару (прополису) у току продукције меда, активиран при умереној дилуцији меда претвара глукозу у H_2O_2 и глюконску киселину. Међутим, неке врсте меда имају велику антибактеријску активност и услед садржаја непероксидних антимикробних компоненти. Недавно су као антибактеријска једињења идентификовани метилглиоксал и пчелињи дефенсин-1 у две главне групе медицинског меда: манука меду и RS (Revamil® source) меду.^(5, 13, 15–17) Више студија давало је контрадикторне резултате у погледу ниског рН меда (обично између 3,2 и 4,5) и његове антибактеријске активности,^(5, 15) али је 2010. године дефинитивно доказана улогу ове рН у антибактеријској активности.^(12, 13) Поред тога, постоје јасне индикације за присуство и других антибактеријских једињења у меду.

ОСМОТСКИ ЕФЕКТ

Антибактеријска својства меда први пут су препозната 1892. године. У почетку је тумачено да је осмотски ефект високе концентрације шећера основа антибактеријског дејства меда.⁽¹⁸⁾ Мед, као и други сатурисани шећери, има довољну осмоларност да инхибира микробни раст. У контакту са раном, дилуција меда ексудатом ране смањује осмоларност до нивоа када престаје антимикробни ефект осмоларности. Међутим, показано је да су ране инфициране са *Staphylococcus aureus* и тада постале брзо стерилне. Показано је да врсте меда које имају средњи ниво антибактеријске активности спречавају раст *Staphylococcus*-а иако су разблажени 7–14 пута, до нивоа када њихова осмоларност престаје да буде инхибиторна.⁽¹⁹⁾

Вода је есенцијална за преживљавање бактерија, и са њеном ниском доступношћу микроорганизми не могу да преживљавају

и репродукују се. Раствор зрелог меда је презасићен (садржи, као што је речено, мање од 18% воде). Ниски процент воде узрокује осмотски стрес који онемогућава преживљавање и репродукцију микроорганизама. Када се мед аплицира на рану, хипертонични раствор производи осмотски ефект. Извлачећи воду из бактеријских ћелија, висока осмоларност их практично дехидрира, уништава или инхибира њихов раст. Извлачећи лимфу и друге течности из ране, мед се разређује. Смањивање осмоларности разређењем меда дренажним секретима ране његова антибиотска активност се не губи и чак се повећава обзиром на стварање H_2O_2 . Значај антибактеријске активности меда је доказан упоређивањем терапијских ефеката меда и шећера. У експерименталној студији третиране су опекотине на кожи свиња.⁽²⁰⁾ Било је мање бактеријских колонија виђених хистолошки у ранама третираних медом у поређењу са онима које су третиране шећером. Поред тога, нађено је мање микропустула у нео-епидермису, и мање бактерија у *eschara*та у ранама третирањем медом. Такође, приказан је случај излечења дубоког декубитуса који није реаговао на разне врсте третмана, укључујући лечење хиперосмоларним раствором шећера. Декубитус је потпуно саниран после шест недеља локалног третирања медом.⁽²¹⁾ Неопходна су чешћа превијања са облогом од шећера у поређењу са мањим бројем промена завоја са медом.⁽²²⁾

Физичке особине меда обезбеђују заштитну баријеру која покрива, али није залепљена за ткива ране и, осмозом, ствара влажно окружење погодно за растање ране.⁽²³⁾

КИСЕЛОСТ

Мед је кисео, са рН у распону 3,2–4,5 што је довољно ниско да инхибира раст многих патогена. Са смањењем патогена у рани, кисела средина је корисна за епителизацију. Кисела средина повећава количину кисео-

ника ослобођеног из хемоглобина у рану, што побољшава гранулирање.

Ниска вредност рН меда (3,4–5,5 просечно 4,4) још један је антимикуробни и уопште механизам у вези зарастања.^(5, 24) Код бактеријске инфекције и колонизације или код хроничне ране која упорно не зараста се често у ексудату ране среће рН вредност већа од 7,3.^(25, 26) Показано је да закишљавање рана убрзава зарастање,⁽²⁷⁾ што је приписано ниском рН који повећава количину кисеоника која се из хемоглобина пребацује у капиларе. Однедавно киселости се приписује сузбијање протеазне активности у ранама где је рН далеко од неутралног који је оптималан за њихову активност.⁽²⁵⁾ Прекомерна активност протеазе у рани може успорити или спречити зарастање уништавајући факторе раста (који су протеини) и уништавајући протеинска влакна и фибронектин у матриксу ране, чије постојање је услов активирања фибробласта и што је неопходно за њихову миграцију и миграцију епителних ћелија. Ова активност протеаза произилази из прекомерне инфламације. Антиинфламаторна активност меда би тако уклонила ову препреку исцељења, јер се антибактеријском активношћу кроз уклањање бактерија уклања стимулативни инфламаторни подстицај.

ВОДНИК-ПЕРОКСИД (ХИДРОГЕН)

Чињеница да су антибактеријска својства повећана када је мед разблажен уочена је 1919. године. Објашњење за овај парадокс дошло је када је пронађено да мед поседује ензим који, при разблажењу, иницира продукцију антимикуробног агенса који је означен као „инхибин“.⁽²⁸⁾ Термин „inhibine number“ је искован као мера релативног антибактеријског дејства различитих врста меда. Тим је бројем означавано колико мед може бити разблажен а да још задржи антибактеријска својства. Шездесетих година двадесетог века установљено је да је

инхибин заправо хидроген-пероксид (H_2O_2) и да је он најзначајнији антибактеријски састојак меда. Продукција водоник-пероксида услед ензимског ефекта глукоза-оксидазе доноси скоро континуирани додатни антимикуробни ефект после губитка засићења шећером. Глукоза-оксидаза, један од метаболичких угљенохидратних ензима који додају пчеле нектару, претвара глукозу у водоник-пероксид и глюконску киселину под аеробним условима. Глукоза-оксидаза је ензим са систематским именом *beta-D-glukoza:kiseonik 1-oksidoreduktaza*. Овај ензим је флавопротеин (FAD). Он катализује следећу хемијску реакцију: $beta-D-glukoza + O_2 \rightleftharpoons D-glukono-1,5-lakton + H_2O_2$. Глукоза-оксидаза коју лучи хипофарингеалне жлезде пчеле конвертује глукозу у глюконску киселину и водоник-пероксид, што даје меду низак (кисео) рН, а бактерицидни ефект водоник-пероксида додатно смањује број микроорганизама присутних у рани. Ослобађање водоник-пероксида је споро и континуирано. Оно обезбеђује континуирани антибактеријски ефект сукцесивно елиминишући микроорганизме, али овај H_2O_2 није цитотоксичан за околна ткива.

Водоник-пероксид (H_2O_2) је, иначе, добро познат антимикуробни агенс, у првом реду због његовог антибактеријског и својства да чисти рану.⁽²⁹⁾ У новије време је изгубио наклоност клиничара због појаве инфламације и оштећења ткива до којих његова употреба може да доведе.⁽³⁰⁾ ³¹⁾ Међутим, концентрација водоник-пероксида произведеног у меду („ензимски H_2O_2 “) и активираним дилуцијом је обично око 1 mmol / l,⁽⁵⁾ што је око 1.000 пута мање него у раствору од 3%, који се обично користи као антисептик у медицини. Штетни ефекти водоник-пероксида се додатно смањују тако што мед изолује и инактивира слободно гвожђе које катализује формирање слободних радикала кисеоника које производи водоник-пероксид, а његове антиоксидантне компоненте помажу да се очисте (одстране) слободни радикали

кисеоника.⁽³²⁾ Студије на анималним моделима су показале да мед смањује упалу (виђену хистолошки), код дубоких и површних опекотина⁽³³⁾ и рана пуне дебљине коже.⁽³⁴⁾

Претпоставља се да је функција H_2O_2 спречавање кварења незрелог меда, док концентрација шећера не достигне ниво у коме је сама у стању да спречи раст микроорганизама. Током сазревања меда глюкоза-оксидаза се инактивира, али јој се активност враћа разблаживањем меда. Акумулација H_2O_2 је највећа у распону 30–50% концентрације меда и рапидно опада испод концентрације од 30% меда због релативно ниског афинитета пчелиње глюкоза-оксидазе за тај супстрат глюкозе.

Допринос H_2O_2 антибактеријској активности меда може се потврдити ефектом неутрализације овог једињења додавањем ензима каталазе. Неутрализација H_2O_2 смањује антибактеријску активност већине тестираних узорака меда, што указује на важну улогу H_2O_2 . Знатан број тестираних узорака меда, међутим, задржавају активност и после H_2O_2 -неутрализације.⁽³⁵⁾

У литератури се наводи податак да у скринингу од 90 врста меда, средњи и максимални нивои акумулације H_2O_2 у 20% разређењу меда после 1х су били између 12 ± 19 и 72 ug/ml , респективно.⁽³⁶⁾ Неколико врста меда не акумулира никакву H_2O_2 уопште.⁽³⁷⁾

На H_2O_2 акумулацију негативно утичу инактивација ензима глюкоза-оксидазе (одговорне за продукцију H_2O_2) излагањем топлоти или светлости или деградација H_2O_2 медом. Претпоставља се да би каталаза пореклом полена, нектара, или микроорганизама могла бити одговорна за ензиматску неутралишућу активност меда у продукцији H_2O_2 .⁽³⁸⁾ Међутим, по данашњим сазнањима, каталаза никада није идентификована у меду.⁽²⁹⁾

Друго објашњење за варијације у акумулацији H_2O_2 у меду могло би бити разлика у активности глюкозе оксидазе. Нема студије

која се бавила проценом концентрације или активности глюкоза-оксидаза у различитим врстама меда.⁽¹²⁾

Иако је ниво ензиматски створеног водоник пероксида у меду веома низак, ипак има врло ефикасно антимикробно дејство. Ово дејство хидроген-пероксида је ефикасније када се обезбеђује континуираном генерацијом глюкоза-оксидазом него када се додаје сукцесивно.⁽²⁷⁾ Студија са излагањем бактерије *Escherichia coli* константном млазу водоник-пероксида показала је да је бактеријски раст инхибиран са само $0,02\text{--}0,05 \text{ mmol/l}$ хидрогена, концентрацијом која није штетна за ћелије фибробласта људске коже.^(39–41)

Износи се да H_2O_2 стимулише пролиферацију фибробласта *in vitro* и ангиогенезу *in vivo*.⁽⁴²⁾ Интересантно, мед има висок ниво антиоксиданата који могу заштитити ткиво ране од кисеоничних радикала које може створити H_2O_2 .⁽⁴³⁾

Поред тога што је важан антисептични фактор, H_2O_2 стимулише процесе зарастања ране. Резултати истраживања из 2009. године откривају нови механизам раног довођења леукоцита у рану кроз градијент концентрације H_2O_2 .⁽⁴⁴⁾ Неутрофили ослобађају бактерицидно реактивни кисеоник и H_2O_2 , који убијају бактерије и спречавају инфекцију. Макрофаги стижу у рану као одговор на стимулансе средине и ослобађају васкуларни ендотелни фактор раста (VEGF), ангиогени фактор пресудан за зарастање рана. H_2O_2 увећава VEGF макрофага преко оксидационе индукције у промотера VEGF. Ова оксидантна стимулација може бити медијатор активирања неутрофила.⁽⁴⁵⁾

НЕПЕРОКСИДНИ ЧИНИОЦИ И АНТИОКСИДАНТИ

Неке врсте меда имају значајно непероксидно антибактеријско дејство.^(5, 46) Манука мед је био највише изложен идентификацији непероксидних антимикробних компоненти. Овај мед је продукт нектара од

манука дрвета (Manuka), који је аутохтоног порекла са Новог Зеланда. Овај мед је препознатљив по својој непероксидној антибактеријској активности. Манука мед, који се добија из манука дрвета на Новом Зеланду (*Leptospermum scoparium*) садржи изузетно висок проценат (38 mg/kg) непероксидне антимикробне компоненте – Methylglyoxal-a (MGO).⁽⁴⁷⁻⁴⁸⁾ Овај мед не производи детектабилну количину водоник-пероксида и зато га неки називају и „непероксидни мед“.⁽¹⁵⁾

Метилглиоксал

То је органско једињење чија је формула: $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CHO}$. Он има две карбонилне групе, једну алдехидну и једну кетонску. Дериват је редукције пирувичне киселине. Високи нивои MGO у манука меду формирају се конверзијом дихидроксиацетона (DHA), присутног у изузетно високим концентрацијама у нектару *L. scoparium* цветова.⁽⁴⁹⁾ Ова конверзија дешава се неензиматски споро током складиштења меда. Није познато како је DHA формирана у нектару и зашто је присутна у таквим великим количинама у нектару манука дрвета. MGO је присутан у различитим намирницама у распону концентрације од 3 до 47 mg/kg, док манука мед садржи много веће концентрације (у распону од 38 mg/kg до 1,541 mg/kg (0.74–30.0 mm)).⁽⁴⁷⁻⁵¹⁾ MGO је присутан и у меду из других биљних врста, али скринингом 106 различите врсте концентрација не прелази 24 mg/kg (исте бројке референци). На основу снажне корелације између нивоа MGO и потенцијала меда да инхибира раст *S. aureus*, претпоставља се да је MGO у потпуности одговоран за непероксидну антибактеријску активности манука меда.⁽⁴⁷⁾ У студијама других аутора доказана је непероксидна антибактеријска активност манука меда против *S. aureus* и *B. subtilis*, али не и против *E. coli* и *P. aeruginosa* (која остаје и после разградње MGO у експерименту). Закључено је да MGO није у потпуности одговоран (није једини

антимикроб) за антибактеријску активност овог меда.⁽¹⁵⁾

Пчелињи дефенсин-1

Истраживања показују да пчеле синтешишу протеин, назван дефенсин-1, који је део пчелињег имуног система и које га додају меду.⁽¹⁷⁾ Овај пептид, такође познат као ројалисин (Royal Jelly – енгл. млеч, одатле назив „ројалисин“), идентификован је у хемолимфи пчела, еквиваленту крви инсеката,⁽²⁹⁾ у глави пчела и грудној жлезди⁽⁵²⁾ и у млечу, главној храни ларви матице.⁽⁵³⁾ Пчелињи дефенсин-1 луче хипофарингеалне жлезде медоносне пчеле.⁽¹⁶⁾ Пчеле, иначе, користе секрет хипофарингеалних жлезда за производњу матичног млеча и меда.^(35, 40)

Дефенсин-1 је једино катјонско бактерицидно једињење за које се тренутно зна.⁽¹⁷⁾ Скоро сви до сада откривени дефенсини су мулти-дисулфидно везани са катјонским делом у амфипатичком дизајну. Заједно са метаболичким ензимима угљених хидрата и пчелињи дефензин-1 вероватно доприноси заштити млеча и меда од микробног кварења. У разблажењу меда 20% и већем, када су неутралисани H_2O_2 и MgO , задржана је бактерицидна активност.⁽¹⁷⁾ Када се, међутим, неутрализира и пчелињи дефенсин-1, бактерицидна активност се снажно смањује при 20%, али не утиче при 30% и 40% раствора меда.⁽¹⁷⁾ Пчелињи дефенсин-1 има моћну активност против грам-позитивних бактерија, укључујући *B. subtilis*, *S. aureus*, и *Paenibacillus larvae* (раније класификован као *Bacillus larvae*), узрочник катастрофалне болести ларве пчела American Foul brood.^(48, 54) После експерименталне инфекције са *E. coli* у пчелињој хемолимфи се налазе четири врсте антимикробних пептида (AMP): hemonoptecin, пчелињи дефенсин-1, apidaecin и група абаесин пептида. Сваки од ових AMP има посебан спектар антимикробне активности, а колективно ови пептиди покривају све главне класе микроорганизама.⁽⁵⁵⁾

До сада је идентификовано више од 300 дефенсина и они су представљени у низу организама укључујући сисаре, птице, бескичмењаке, биљке и недавно у ебонош-шољастој гљиви. Дефенсин пептиди су у суштини древни природни антибиотици са антимикробном активношћу против низа микроорганизама: грам-позитивних и грам-негативних бактерија, гљивица и неких вируса.

Поред антимикробне активности, нови докази указују на њихову улогу и у урође-ном и у адаптивном имунитету.

Претпоставља се да би дефенсин-1 у будућности могао да се користи за лечење опекотина и инфекције коже и да буде основа за развој нових лекова којима би могле да се третирају антибиотик-резистентне инфекције.

Откриће дефенсина баца светло на де-ловање пчелињег имуног система, што ће можда у будућности помоћи одгајивачима да стварају здравије и отпорније пчеле.⁽¹⁷⁾

Иако је пчелињи дефенсин-1 лако дете-ктовати у меду произведеном у стакленику у контролисаној средини у Холандији (RS мед), није га било могуће открити у манука меду.⁽¹⁵⁾ Присуство пчелињег дефенсин-1 у различитим врстама меда још није систематски истражено, а још увек нису успостављени ни квантитативни подаци о његовој концентрацији у различитим врстама меда. Количина пчелињег дефен-сина-1 у млечу и у различитим врстама меда јако варира,^(9, 32) а у неким узорцима уопште нема овог пептида.

ДРУГЕ КОМПОНЕНТЕ

У многим студијама се наводи прису-ство непероксидне антибактеријске акти-вности у меду.⁽³⁵⁾ Тешко је одредити у којој мери MGO и пчелињи дефенсин-1 или још неидентификоване компоненте доприносе овој активности. Неке индикације за присуство додатних једињења могу се, међутим, добити упоређивањем непероксидних

антибактеријских својстава тих врста меда са већ описаним особинама MGO и пчелињег дефенсина-1. Мундо и сар. известили су да након неутрализације H_2O_2 и деградације протеинских једињења неке врсте меда задржавају активност против *Bacillus stearo-thermophilis*, али не и против неколико других микроорганизама, укључујући високо MGO осетљив *S. aureus*.⁽³⁵⁾ Ово наговештава да постоје додатне антимикробне компоненте у овим медовима осим H_2O_2 , пчелињег дефенсина-1 или MGO.

Фитохемикалије

Мисли се да су фитохемикалије у нектару (прополис) још један фактор који обезбеђује антибиотски ефект меда. Фитохемикалије нађене у меду се углавном састоје од комплекса фенола и органских киселина које даље врше антибактеријску функцију. Оне, такође, помажу у редуирању ризика од оксидативног оштећења ткива. Кон-центрација фитохемикалија варира зависно од биљке која је извор нектара, што чини неке врсте меда ефективнијим од других у погледу антимикробне активности. **Фенолна једињења** пореклом из прополиса су наведена као битни фактори за непе-роксидне антибактеријске активности меда. У меду је идентификовано неколико антибактеријских фенолних једињења,⁽⁵⁶⁾ али је њихов допринос укупној делатности меда остао нејасан. Активност појединих фенола изолованих из меда је сувише ниска да значајно допринесе антибактеријској активности.⁽⁵⁷⁾ Сложене фенолне фракције неколико малезијских врста меда врше антибактеријско дејство, али идентитет једињења одговорних за ове активности је непознат.⁽⁵⁸⁾ Можда комбинација различитих фенола, уместо појединачних једињења, може значајно допринети активности меда. То, међутим, остаје да се истражи при-меном пречишћених једињења уместо недефинисаних делимично пречишћених фракција.

Антиоксиданти

Мед има антиоксидантна својства, због чега је ефикасан и антибактеријски. Неки цветни извори обезбеђују додатне антибактеријске компоненте путем биљних хемикалија у нектару, као што су **флавоноиди** и **ароматичне киселине**.⁽⁵⁹⁾ Кисеонични радикали су укључени у различите аспекте инфламације. Слободни радикали изазивају упалу и оштећење ткива.^(1, 44, 60) Доказано је да примена антиоксиданата код опекотина смањује упалу.⁽⁶¹⁾ Мед деактивира слободан радикал гвожђа, што катализује формирање слободних радикала кисеоника који производе H_2O_2 , а његове антиоксидативни компоненте помажу да се очисте слободни радикали кисеоника.⁽³²⁾

Тамније врсте меда су биле више инхибиторне него мед светле боје. Пошто антимикробна активност меда тамније боје није елиминисана од стране каталазе, непероксидне компоненте, као што су антиоксиданти, могу да допринесу контролисању раста неких патогена који се преносе храном.⁽⁵⁹⁾

Стандардним тестовима за мерење нивоа антиоксидативне активности одвојена су и идентификована различита антиоксидантна полифенолна једињења. Истраживања показују да мед садржи бројне фенолне и нефенолне антиоксиданте који у великој мери зависе од цветних извора. Лековити полифеноли или антиоксиданти меда су: фенолна киселина, кафеинска киселина, п-кумарична киселина и елагинска киселина, као и многи флавоноиди.

Флавоноиди

Флавоноиди су група пигментних продуката биљака чије присуство доприноси антимикробној активности меда.⁽¹³⁾ Дејство флавоноида укључује директну антибактеријску активност, синергизам са антибиотцима, и супресију бактеријске вируленције.⁽⁶²⁾ Директна антибактеријска активност флавоноида може бити приписана следећим механизмима: оштећење

вање цитоплазматске мембране (узроковано перфорацијом и/или редукцијом флуидности мембране, посебно генерацијом водоник-пероксида), инхибицијом синтезе нуклеинских киселина (узроковане инхибицијом топоизомеразе и/или инхибицијом дихидрофолат редуктазе), инхибицијом енергетског метаболизма (узроковане инхибицијом NADH-цитохром ц-редуктазе и инхибицијом АТР синтезе), инхибицијом синтезе ћелијског зида (узроковано инхибицијом Д-аланине-Д-аланине лигазе) и инхибицијом синтезе ћелијске мембране (узроковано инхибицијом неких ензима).⁽⁶²⁾ Постоји укупно 14 класа флавоноида категорисаних према њиховој хемијској природи и структури. Будући да је велики број студија изведен на само једној или две врсте флавоноида, остаје нејасно да ли флавоноиди имају мултипне механизме функције или имају само један механизам функције који се за сад прецизно одређује.⁽⁶²⁾

Микроорганизми присутни у меду

Они су потенцијални извор антимикробних једињења у меду. Бактерије изоловане из меда могу заиста произвести антимикробна једињења када се гаје *in vitro*, али остаје нејасно да ли су таква једињења заиста присутна у меду.⁽⁶³⁾

ПОВЕЋАНА АКТИВНОСТ ЛИМФОЦИТА И ФАГОЦИТНА АКТИВНОСТ

Чишћење инфекције који се може видети када се мед примењује на рану одражава више од антибактеријских својстава. Показано је да мед редуцира инфламаторне ћелије у акутној и хроничној инфламацији. Он стимулише периферну крв да скрене Б и Т лимфоците на површину и активира фагоците чак и кад је концентрација меда мања од 0,1 %.⁽⁶⁴⁾ Он, такође стимулише моноците да ослобађају цитокине, тумор некротисис фактор 1 и IL 1 и 6, који активирају имуни одговор на инфекцију (пирогени, подижу телесну температуру).⁽⁶⁵⁾ Поред

тога, садржај глукозе меда и кисели рН (типично између рН-3 и рН-4) могу помоћи деловање макрофага у уништавању бактерија. Редукција инфламације је врло битна у зарастању ране, јер то побољшава циркулацију и дотурање више кисеоника и нутрицијента чиме поспешује репарацију ткива и оздрављење. Антиинфламаторни ефект меда, такође, редуцира хипертрофично ожиљавање током матурационе фазе зарастања, што даје мање ожиљног ткива.

ДРУГИ АНТИБАКТЕРИЈСКИ ФАКТОРИ

Значајан узрок незарастања хроничних рана је присуство више врста бактерија које живе заједно формирајући високо-организован биофилм. Биофилм штити бактерије од антибиотске терапије и пацијентовог имуног одговора. Неколико студија је показало да мед спречава формирање биофилмова у рани.⁽⁶⁶⁾ Оне, такође, потврђују бактерицидну природу терапијског меда против више врста бактерија, укључујући врсте резистентне на антибиотике.^(14, 15, 66) Мед, такође, може пореметити „кворум детекцију“, што слаби бактеријску вирулентност, чинећи бактерије подложније дејству конвенционалних антибиотика. Кворум детекција је начин како бактерије комуницирају једна са другом, а могу бити укључени у формирање биофилмова. У одређеним бактеријама овај комуникациони систем контролише ослобађање токсина, што утиче на патогеност бактерија, односно њихову способност да изазову болест.^(67, 68) Износе се закључци о неједнакој осетљивости различитих врста бактерија, па чак и сојева у оквиру исте врсте на антибактеријско дејство различитих врста меда.⁽⁶⁸⁾

За разлику од конвенционалних антибиотика који нападају ћелијски зид бактерија или инхибирају интрацелуларне метаболичке путеве, циљ антибактеријских састојака меда нису процеси раста бактерија.

Проблем са овом врстом таргетирања, што је основа дејства конвенционалних антибиотика, јесте да то доводи до тога да бактерије граде отпорност на лекове. У случају (наведених) антибактеријских компоненти меда то није могуће.

ЗАКЉУЧАК

Бројни подаци о ефикасности меда у лечењу рана јасно показују да мед има антибактеријско дејство, те да је ефикасан у лечењу инфекције рана, без стварања резистентних бактеријских сојева. Ензимски H_2O_2 , киселост и осмоларност меда играју важну улогу у антимикуробном процесу лечења. Употреба меда нема значајних споредних ефеката. Својим дејством мед рапидно елиминише неугодне мирисе ране, унапређује гранулацију и епителизацију, смањује количину ексудата. Поред својих вредних нутритивних састојака, мед има антиинфламаторне и антиоксидантне активности које чине да игра значајну улогу у зарастању ране. Мед има значајан утицај на елементе ћелијског имунитета и продукцију антитела. Мед је продукт различитих биљних извора и њихова антибактеријска својства варирају зависно од порекла и обраде. Нису сви антимикуробни фактори (једнако) присутни у свим врстама меда и ове компоненте се морају тестирати пре намеравање клиничке апликације одређене врсте меда. Мед одабран за клиничку употребу треба евалуирати у погледу антибактеријске активности. Досадашња искуства и резултати подржавају употребу меда у клиничкој пракси као природног и сигурног локалног антибактеријског средства у лечењу инфицираних рана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey. A Novel Antioxidant. *Molecules*. 2012; 17: 4400–4423.
2. Seckam A, Cooper R. Understanding how honey impacts on wounds: an update on recent research findings. Available from <http://www.woundsinternational.com/practice-development/understanding-how-honey-impacts-on-wounds-an-update-on-recent-research-findings>. Last accessed on 12/03/13
3. Zumla A, Lulat A. Honey – a remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 1989; 82(7), 384–395.
4. Gunther RT. *The Greek Herbal of Dioscorides*. New York: Hafner, 1934 (reprinted 1959).
5. Molan PC. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World* 1992; 73(1): 5–28.
6. Brady NF, Molan PC, Harfoot CG. The sensitivity of dermatophytes to the antimicrobial activity of manuka honey and other honey. *Pharm Sci* 1997; 2: 1–3.
7. Jull AB et al. Honey as a topical treatment for wounds. *Cochrane Database Syst*. 2008; Rev 4: CD005083
8. Maddocks SE, Jenkins RE. Honey: a sweet solution to the growing problem of antimicrobial resistance? *Future Microbiol*. 2013; Nov. 8(11): 1419–29.
9. Brölmann FE, Ubbink DT, Nelson EA et al. Evidence-based decisions for local and systemic wound care. *Br J Surg*. 2012; 99(9): 1172–83.
10. Molan PC. The role of honey in the management of wounds. *J Wound Care*. 1999; 8(8): 415–8.
11. Molan PC. The evidence and the rationale for the use of honey as a wound dressing. *Wound Practice and Research*. 2011; 19(4): 204–20.
12. Kwakman PH, Zaat SAJ. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*. 2012; 64(1): 48–55.
13. Nassar HM, Li M, Gregory RL. Effect of honey on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*, 2012; 78(2): 536–540.
14. Cooper RA et al. The sensitivity to honey of gram-positive cocci of clinical significance. *J Appl Microbiol*. 2002; 93(5): 857–63.
15. Kwakman PH, Te Velde AA, De Boer L, Vandenbroucke-Grauls CM, Zaat SAJ. Two major medicinal honeys have different mechanisms of bactericidal activity. *PLoS One*. 2011; Mar 4; 6(3).
16. Cooper RA, Jenkins LA. Comparison between medical grade honey and table honeys in relation to antimicrobial efficacy. *Wounds*. 2009; 21(2): 29–36.
17. Kwakman PH et al. How honey kills bacteria. *FASEB J*. 2010; 24(7): 2576–82.
18. Tovey FI. Honey and healing. *J R Soc Med* 1991; 84(7): 447–455.
19. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J R Soc Med* 1999; 92(6): 283–5.
20. Postmes TJ, Bosch MMC, Dutrieux R, van Baare J, Hoekstra MJ. Speeding up the healing of burns with honey. An experimental study with histological assessment of wound biopsies. In: Mizrahi A, Lensky Y, editors. *Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. New York: Plenum Press, 1997; 27–37.
21. Hutton DJ. Treatment of pressure sores. *Nurs Times* 1966; 62(46): 1533–4.
22. Bose B. Honey or sugar in treatment of infected wounds? *Lancet* 1982; 1(8278): 963.
23. Al-Waili NS, Salom K, Al-Ghamdi AA. Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical

- Practice. *TheScientificWorld Journal*, 2011; 11: 766–787.
24. Aureli P, Franciosa G, Fenicia L. Infant botulism and honey in Europe: a commentary. *Pediatr Infect Dis J.* 2002; 21: 866–8.
25. Rushton I. Understanding the role of proteases and pH in wound healing. *Nurs Stand.* 2007; 21: 68–72.
26. Schneider LA, Korber A, Grabbe S, Dissemmond J. Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? *Arch Dermatol Res.* 2007; 298: 413–20.
27. Rendel M, Mayer C, Weninger W, Tschachler E. Topically applied of lactic acid increases spontaneous secretion of vascular endothelial growth factor by human constructed epidermis. *Br J Dermatol.* 2001; 145:3–9.
28. White JW Jr, Sibers MH, Schepartz AI. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose oxydase system. *Biochem. Biophys. Acta.* 1963; 73: 57–70.
29. Turner FJ. *Hydrogen Peroxide and Other Oxidant Disinfectants* (3rd ed). Philadelphia: Lea and Febiger, 1983.
30. Saissy JM, Guignard B, Pats B, Guiavarch M, Rouvier B. Pulmonary edema after hydrogen peroxide irrigation of a war wound. *Intensive Care Med* 1995; 21(3): 287–8.
31. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 10: 5-12.
32. Frankel S, Robinson GE, Berenbaum MR. Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honeys. *J Apic Res* 1998; 37(1): 27–31.
33. Burlando F. Sull'azione terapeutica del miele nelle ustioni [The therapeutic effect of honey on burns]. *Minerva Dermatol* 1978; 113: 699–706.
34. Oryan A, Zaker SR. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. *Zentralbl Veterinarmed A* 1998; 45(3): 181–8.
35. Mundo MA, Padilla-Zakour OI., Worobo RW. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *Int. J. Food Microbiol.* 2004; 97: 1–8.
36. White JJr, Subers MH. Studies on honey inhibine. 2. A chemical assay. *J. Apicult. Res.* 1963; 2: 93–100.
37. Molan PC. The antibacterial activity of honey. 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World* 1992; 73: 59–76.
38. Huidobro JF, Sanchez MP, Muniategui S, Sancho MT. Precise method for the measurement of catalase activity in honey. *J. AOAC Int.* 2005; 88: 800–804.
39. Hyslop PA, Hinshaw DB, Scraufstatter IU, Cochrane CG, Kunz S, Vosbeck K. Hydrogen peroxide as a potent bacteriostatic antibiotic: implications for host defense. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(1): 31–7.
40. Bang LM, Bunting C, Molan P. The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. *J. Altern. Complement Med.* 2003; 9: 267–273.
41. Pruitt KM, Reiter B. Biochemistry of peroxidase system: antimicrobial effects. In: Pruitt KM, Tenovuo JO, editors. *The Lactoperoxidase System: Chemistry and Biological Significance*. New York: Marcel Dekker, 1985; 144–78.
42. Tur E, Bolton L, Constantine B. Topical hydrogen peroxide treatment of ischemic ulcers in the guinea pig: blood recruitment in multiple skin sites. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1995; 33(2 Pt 1): 217–221.
43. Frankel S, Robison G, Berenbaum R. Antioxidant capacity and correlated characteristic of 14 unifloral honeys. *J. Apic. Res.* 1998; 37: 27–31.

44. Yoo SK, Huttenlocher A. Innate immunity: wounds burst H_2O_2 signals to leukocytes. *Curr. Biol.* 2009; 19(14): R553–555.
45. Cho M, Hunt TK, Hussain MZ. Hydrogen peroxide stimulates macrophage vascular endothelial growth factor release. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 2001; 280: H2357–H2363.
46. Allen KL, Molan PC, Reid GM. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J Pharm. Pharmacol.* 1991; 43: 817–822.
47. Adams CJ, Boulton CH, Deadman BJ, Farr JM, Grainger MN, et al. Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr. Res.* 2008; 343: 651–659.
48. Mavric E, Wittmann S, Barth G, Henle T. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol. Nutr. Food Res.* 2008; 52: 483–489.
49. Paulus HS, Kwakman Anje A. te Velde, Leonie de Boer, Christina MJE, Vandenbroucke-Grauls, Sebastian AJ. Zaat. Two Major Medicinal Honeys Have Different Mechanisms of Bactericidal Activity. *PLoS One.* 2011; 6(3): e17709. Published online Mar 4, 2011. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3048876/>
50. Majtan J, Klaudiny J, Bohova J, Kohutova L, Dzurova M, Sediva M, Bartosova M, Majtan V. Methylglyoxal-induced modifications of significant honeybee proteinous components in manuka honey: Possible therapeutic implications. *Fitoterapia.* 2012; 83(4): 671–7.
51. Stephens JM, Schlothauer RC, Morris BD, Yang D, Fearnley L, et al. Phenolic compounds and methylglyoxal in some New Zealand manuka and kanuka honeys. *Food Chem.* 2010; 120: 78–86.
52. Klaudiny J, Albert S, Bachanova K, Kopernicky J, Simuth J. Two structurally different defensin genes, one of them encoding a novel defensin isoform, are expressed in honeybee *Apis mellifera*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2005; 35: 11–22.
53. Fujiwara S, Imai J, Fujiwara M, Yaeshima T, Kawashima T, Kobayashi K. A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 11333–11337.
54. Bachanova K, Klaudiny J, Kopernicky J, Simuth J. Identification of honeybee peptide active against *Paenibacillus* larvae through bacterial growth-inhibition assay on polyacrylamide gel. *Apidologie* 2002; 33: 259–269.
55. Casteels-Josson K, Zhang W, Capaci T, Casteels P, Tempst P. Acute transcriptional response of the honeybee peptide-antibiotics gene repertoire and required post-translational conversion of the precursor structures. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 28569–28575.
56. Isla MI, Craig A, Ordonez R, Zampini C, Sayago J, et al. Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. *LWT – Food Sci. Technol.* 2011; 44: 1922–1930.
57. Weston RJ, Brocklebank LK, Lu YR. Identification and quantitative levels of antibacterial components of some New Zealand honeys. *Food Chem.* 2000; 70: 427–435.
58. Aljadi AM, Yusoff KM. Isolation and identification of phenolic acids in Malaysian honey with antibacterial properties. *Turkish J. Med. Sci.* 2003; 33: 229–236.
59. Taormina P, Niemira B, Beuchat L. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 69: 217–225.

60. Tanaka H, Hanumadass M. Hemodynamic effects of delayed initiation of antioxidant therapy (beginning two hours after burn) in extensive third-degree burn. *J. Burn Care Rehabil.* 1995; 16: 610–615.
61. Al-Waili NS, Salom K, Al-Ghamdi AA. Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical Practice. *The Scientific World JOURNAL* 2011; 11: 766–787.
62. Cushnie TP, Andrew J. Lamb. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents* 2011; 38 2: 99-107.
63. Lee HJ, Churey JJ, Worobo RW. Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. *Int. J. Food Microbiol.* 2008; 126: 240–244.
64. Abuharfeil N, Al-Oran R, Abo-Shehada M. The effect of bee honey on the proliferative activity of human B- and T-lymphocytes and the activity of phagocytes. *Food Agric Immunol* 1999; 11: 169–77.
65. Tonks A, Cooper RA, Price AJ, Molan PC, Jones KP. Stimulation of *tnf-alpha* release in monocytes by honey. *Cytokine* 2001; 14(4): 240–2.
66. Merckoll P et al. Bacteria, biofilm and honey: a study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm-embedded chronic wound bacteria. *Scand J Infect Dis* 2009; 41(5): 341–7.
67. Jervis-Bardy J, et al. Methylglyoxal-infused honey mimics the anti-Staphylococcus aureus biofilm activity of manuka honey: potential implication in chronic rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2011; 121(5): 1104–7.
68. Maddocks SE et al. Manuka honey inhibits the development of *Streptococcus pyogenes* biofilms and causes reduced expression of two fibronectin binding proteins. *Microbiology* 2012; 158(Pt 3): 781–90.

Контакт: Љубомир Панајотовић, 11000 Београд, Милоша Поцерца 34, 063 656 238