

# ПЧЕЛИНЫЙ МЕД И ПРОПОЛИС – ПРОДУКТЫ ПЧЕЛОВОДСТВА: ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ С ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ И АНТИОКСИДАНТНЫМИ СВОЙСТВАМИ

<sup>1</sup>В.Н. Залесский, кандидат мед. наук, <sup>2</sup>Н.В. Великая, кандидат мед. наук

<sup>1</sup>Национальный научный центр «Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско» НАМН Украины, г. Киев

<sup>2</sup>Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев

**Резюме.** Віками емпіричне використання меду і прополісу незмінно було пов'язане з їх дією як імуномодулюючих агентів. В огляді представлено свідчення, що фокусують увагу на їх протизапальних, антиоксидантних і антибластомних властивостях; розглядаються впливи на клітини імунної системи, включаючи природжену і адаптивну імунну відповідь. Обговорюються питання, пов'язані з протипухлинним ефектом прополісу та його антиоксидантним і антимулагенним потенціалом. Механізм протипухлинної дії меду і прополісу включає інгібування клітинної проліферації, індукцію апоптозу та блокування клітинного циклу.

Ключові слова: бджолиний мед, прополіс, імунна система, протипухлинні властивості.

**Резюме.** Веками эмпирическое использование меда и прополиса неизменно было связано с их действием в качестве иммуномодулирующих агентов. В обзоре представлены свидетельства, фокусирующие внимание на их противовоспалительных, антиоксидантных и антибластомных свойствах; рассматриваются влияния на клетки иммунной системы, включая врожденный и адаптивный иммунный ответ. Обсуждаются вопросы, связанные с противоопухолевым эффектом прополиса и его антиоксидантным и антимулагенным потенциалом. Механизм противоопухолевого действия меда и прополиса включает ингибирование клеточной пролиферации, индукцию апоптоза и блокирование клеточного цикла.

Ключевые слова: пчелиный мед, прополис, иммунная система, противоопухолевые свойства.

**Summary.** Honey and propolis has been empirically for centuries and it was always mentioned as a immunomodulatory agents. In review compiles data focusing on inflammation, antioxidant and antitumor properties, considering effects on different cells of the immune system, involving the innate and adaptive immune response. Propolis antitumor effects and its anticarcinogenic and antimutagenic potential are discussed. The mechanism anticancer effects of honey and propolis suggest are inhibition of cell proliferation, induction apoptosis and cell cycle arrest.

Key words: honey, propolis, immune system, antitumor property.

Пчелиный мед — сложнейший по своему составу природный продукт. Проведенные лабораторные анализы выявили в нем до 400 жизненно необходимых человеку компонентов [44]. Мед обладает разными вкусовыми и целебными свойствами, зависящими от его состава, места сбора, т.е. почвы, на которой произрастают медоносные растения, погоды и климата. Однако для здоровья полезен любой натуральный мед [1, 120].

Мед образуется путем тщательной переработки нектароподобных веществ пчелиной семьей. В зобике пчел нектар насыщается ферментами, липидами и органическими кислотами. Мед содержит почти все микроэлементы и по составу напоминает плазму крови человека. Действие меда на человека связано с антиаллергической, противоопухолевой, антитоксической активностью [63, 68, 86]. Мед применялся еще перво-

бытным человеком. Греки добавляли мед к вину. О меде писали Гиппократ, Гален, Авиценна. В Аюр-Веде (древнеиндийский медицинский трактат) есть подробные описания медолечения. Использовали мед и в Древнем Египте. В XII веке было опубликовано сочинение внучки Владимира Мономаха — Евлампии «О меде». В Японии на протяжении последних 1200 лет мед рекомендуется для младенцев при малокровии, задержке роста и многих других заболеваниях [46].

Прополис — это еще один продукт пчеловодства высокой ценности. Почти листьев растений защищают зародыши побегов от различных неблагоприятных факторов и болезнетворных организмов, выделяя смолистые вещества, содержащие фитонциды, эфирные масла, бальзамоподобные и другие вещества. Пчелы, добавляя в смолу почеч секрет своих желез, усложняют химический состав

прополиса, делая его уникальным. Прополис обладает выраженной антиоксидантной и противовоспалительной активностью, замедляет рост раковых клеток, понижает артериальное давление, способствует выведению холестерина [44].

К другим не менее важным продуктам пчеловодства относится воск (продукт восковых желез пчелы, которая строит соты из восковых пластинок, содержащих пыльцу-обножку, пергу и мед); маточное молочко (сбалансированный состав которого содержит до 30% белков, 55% жиров, 17% углеводов и около 1% минеральных веществ); пчелиная обножка (пыльцевой зернопродукт питания пчел, содержащий около 50 биологически активных веществ, хорошо проникающих в клетки и активирующих процессы внутриклеточной сигнализации); перга (пчелиный хлеб — продукт, который готовится пчелой в сотах путем утрямывания своей пыльцы — обножки, ферментов, меда с последующим их закупориванием восковой крышечкой, под которой и «печется» пчелиный хлеб); пчелиный яд — иммуностимулятор и иммуномодулятор [1, 86].

### Пчелиный мед

Многие компоненты меда обладают антиоксидантными свойствами [11, 47, 139], среди которых флавоноиды и фенолы [29, 37], важнейшие энзимы (глюкозооксидаза, каталаза), аскорбиновая кислота [144], каротиноиды [133], органические кислоты [29], белки и аминокислоты [145]. Содержание полифенолов индивидуально в различных образцах пчелиного меда [10]. Терпены, бензилалкоголь, 3,5-диметокси-4-гидроксibenзойная кислота («siringic acid»), метил 3,5-диметокси-4-гидроксibenзонат («methyl syringate»), 3,4,5-триметоксибензойная кислота, 2-гидроксibenзойная кислота и некоторые другие фитоконпоненты формируют противомикробную активность меда [147]. Среди этих фитоконпонентов полифенолы обладают антипролиферативным потенциалом, более подробное рассмотрение которых представляется крайне актуальным.

Сравнительно недавно была отмечена способность пчелиного меда индуцировать апоптоз опухолевых клеток толстого кишечника с остановкой клеточного цикла в фазе G1 [64]. Авторы предположили важную роль фенольных и триптофановых молекул в процессе ингибирования пролиферации бластомных клеток при активации каспазы-3 и расщепления PARP. Оказалось, что пчелиный мед также обладает противометастатическим потенциалом *in vitro* и *in vivo* [103].

Высокая эффективность пчелиного меда в торможении опухолевого роста *in vitro* (линия T24, RT2, 253J и MBT-2) представлена в работе [134]. Другие авторы отметили умеренное торможение опухолевого роста и достоверный антиметастати-

ческий эффект пяти образцов пчелиного меда в сочетании с 5-фторурацилом и циклофосфамидом [53]. Эти данные подтверждают иммуномодулирующую эффективность полифенолов меда в антиканцерогенезе (наряду с их участием в антиинфламмагенезе, антиатерогенезе, антитромбогенезе) в качестве антиоксидантов [26, 34, 85, 121, 126, 138].

Известно, что полифенолы растительных продуктов питания включают более 8000 различных ингредиентов [24]. Многие из этих фенольных соединений содержатся в составе пчелиного меда и подразделяются на 10 основных групп: простые фенолы, фенольные кислоты, кумарины и изокумарины, нафтоквиноны, ксантоны, стильбены, антраквиноны, флавоноиды и лигнаны. Среди флавоноидов меда открыты и идентифицированы более 5000 их структурных аналогов [34], обладающих противовоспалительной, антибактериальной, антитромботической и вазодилатирующей активностью.

Многие полифенолы проявляют антипролиферативные свойства в культуре бластомных клеток. Среди них кофеиновая кислота (CA), феноловый эфир кофеиновой кислоты (CAPE), хризин (CR), галангин (GA), кверцитин (QU), акацетин (AC), кемферол (KF), пиноцембрин (PC), пинобаксин (PB) и апигенин (AP) [56, 59, 115, 116].

Молекулярные механизмы действия фенолового эфира кофеиновой кислоты описаны в работе [74]. Оказалось, что действие CAPE связано с влиянием на фактор транскрипции NF- $\kappa$ B. Когда клетки U-937 проинкубировали с CAPE (в различных концентрациях), то после инкубирования с TNF (0,1 нМ) было выявлено ингибирование феноловым эфиром кофеиновой кислоты TNF-зависимой активации NF- $\kappa$ B, с максимумом эффекта при дозе 25 мг/мл. Авторы отметили возможность CAPE-обусловленного предотвращения транслокации р65 субъединиц NF- $\kappa$ B в ядро, без участия процесса TNF-индуцированной дегградации I $\kappa$ B [74], что подтвердило роль CAPE в качестве специфического ингибитора активации NF- $\kappa$ B и его важное место в ряду иммуномодуляторов с антиинфламмагенными свойствами.

Кофеиновая кислота селективно тормозила энзиматическую активность матриксной металлопротеиназы-9 (MMP-9), что обуславливало ее существенную роль в инвазивном опухолевом росте и процессе метастазирования [31]. Она блокировала механизм инвазии путем супрессии транскрипции MMP-9 гена, на фоне торможения функционирования NF- $\kappa$ B в PMA-стимулированных клетках (линия HepG2), а также супрессировала рост HepG2 клеток, трансплантированных мышам линии «nude».

Хризин — 5,7-дигидроксифлавоноид является биологически активным компонентом экстракта пче-

линого меда и обладает выраженным противовоспалительным и антиоксидантным действием на фоне промоции гибели опухолевых клеток и остановки клеточного цикла [143]. Молекулярный механизм действия хризина на С-клетки глиомы включает ингибирование их пролиферации путем снижения уровней фосфорилирования белка Rb («Retinoblastoma») и повышения уровней ингибитора циклин-зависимой киназы (p21 Waf1/Cip1) на фоне отсутствия изменений уровня p53 белка. Хризин запускал механизмы торможения опухолевого роста путем активации p38-MAPK сигнализации, а также благодаря ингибированию процесса активации протеосом путем накопления p21 Waf1/Cip1 белка [143].

Синтез 13 производных хризина позволил осуществить их тестирование на предмет изучения противоопухолевых свойств *in vitro* на клетках аденокарциномы желудка (SGC-7901) и колоректального рака (HT-29) [146]. У трех из 13 соединений была отмечена выраженная способность к торможению роста опухолевых (SGC-7901 и HT-29) клеток (5,7-диметокси-8-иодохризин, 8-бромо-5-гидрокси-7-метоксихризин и 5,7-дигидрокси-8-нитрохризин). Эти и другие данные [152] подтверждают важную роль хризина в качестве потенциального кандидата в терапии рака шейки матки.

Представлены данные об антипролиферативном влиянии галангина на клетки лейкемии (HL-60) человека [21]. Галангин обуславливал снижение выживаемости опухолевых клеток, запуская антипролиферативный эффект через 48 часов инкубации *in vitro*, в условиях развития апоптоза клеток HL-60 на фоне активации каспазы-3. Анализ клеточного цикла выявил его блокаду галангином в фазе G1 на фоне фрагментации ДНК.

Исследование роли кверцетина в качестве противоопухолевого соединения на клетках HL-60 показало, что QU тормозил их пролиферацию в дозировке от 10 до 80 мМ [71]. QU ингибировал активность цитозольной протеинкиназы (PKC) и мембранной протеинкиназы (TPK) клеток HL-60 *in vitro*. Подобные результаты действия кверцетина были представлены в работе [35] на лейкемических K-562 клетках человека, а также A-549 клетках [119] и глиомных клетках (U138MG) [23].

Высокий, ингибирующий пролиферацию раковых клеток печени (HepG2), эффект (до 72%) был получен с помощью акацетина в концентрации 2 мг/мл [57, 58]. АС дозозависимо повышал количество апоптирующих клеток HepG2 и Fas лигандов (FasL, mFasL и sFasL) на фоне повышения индукции p53 белка. Антипролиферативный эффект акацетина был выявлен также на клетках немелкоклеточного рака легких (A-549) человека, что подтверждало роль p53 и Fas/FasL систем апоптотической сигнализации в противоопухолевой активности акацетина [57].

Достоверные изменения в индукции апоптоза клеток немелкоклеточного рака легких (линия H460) были получены при использовании кемферола [83]. KF индуцировал выход AIF («apoptosis inducing factor») из митохондрий в ядро и способствовал фрагментации ДНК. Однако уровни белков MnSOD и Cu/ZnSOD оставались повышенными на протяжении 24 часов после воздействия KF.

Апигенин относится к семейству флавоноидов и отличается антипролиферативной активностью по отношению к опухолевым клеткам разных органов и тканей (таких, как толстая кишка, молочная железа, шейка матки, головной мозг, печень и другие) [141]. AP ингибировал рост клеток рака толстого кишечника (SW480, HT29 и Caco-2) на фоне остановки клеточного цикла в G2/M фазе. Клетки рака молочных желез оказались довольно чувствительными к апигенину и гибли путем апоптоза в условиях ингибирования активности PI3K и Akt киназ. Кроме того, установлено торможение HER2/ауто- и трансфосфорилирования в результате AP воздействия на фоне снижения запасов HER2 аутобелков *in vivo*. В другом исследовании [137] развитие апоптоза опухолевых клеток авторы обосновывали повышением AP индуцированной экспрессии p21/WAF1 и p53 белков. Индукцию апоптоза апигенином также выявляли в клетках нейробластомы (линии NUB-7 и LAN-5) [137], а также в PLC/PRF/5-клетках [30].

В целом, анализ результатов многочисленных исследований, полученных в рамках программ тестирования основных полифенольных соединений пчелиного меда, позволил уточнить особенности действия его природных фитонутриентов в качестве многообещающих соединений, активно ингибирующих пролиферацию опухолевых клеток. Дальнейшие изыскания в этой области могут позволить разработать специфические фитонутрицевтики на основе продуктов пчеловодства для терапевтического лечения и профилактики рака.

В последние годы интерес к антибластомным эффектам пчелиного меда у врачей-исследователей и практикующих онкологов существенно возрос. Стало понятно, что сравнительно низкий иммунный статус организма в старости, а также наличие хронических вялотекущих воспалительных процессов и аутоиммунных заболеваний у пациентов являются факторами риска возникновения и развития злокачественных новообразований. Наряду с антипролиферативной активностью, пчелиный мед оказался еще и эффективным противовоспалительным и антимикробным средством. Так, микстуры и растирки из пчелиного меда способствовали устранению симптомов дерматита у новорожденных [8]. Мед снижал воспалительную симптоматику (кашель) при местном ингаляционном применении у детей с воспалительными процессами верхних дыхательных путей

[55]. У больных псориазом выявлено исчезновение клинической симптоматики через две недели после местного применения мазей на основе пчелиного меда [6]. Эффективность меда оказалась довольно выраженной при жевании медовых сот пациентами с гингивитом и периодонтитом [42], а также при язвенных процессах и других воспалительных реакциях на слизистой оболочке ротовой полости [97].

Антибактериальный механизм пчелиного меда подвергается интенсивным исследованиям [44, 46, 54, 86, 120]. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) меда для *Staphylococcus aureus* составила от 126.23 до 185.70 мг/мл<sup>-1</sup> [93]. Мед оказался высокоэффективным средством в ингибировании роста коагулаза-негативных стафилококков [48]. Применение свежего пчелиного меда на раневой поверхности редуцировало острое воспаление [7], снижая выраженность клинической симптоматики. Противомикробная активность меда повышалась в кислой среде (по сравнению с нейтральной и щелочной) [7]. Совместное применение пчелиного меда и антибиотиков, в частности гентамицина, повышало антистафилококковую активность на 22% [4]. В культуре клеток мед замедлял рост микобактерий [9], что подтверждало его роль в качестве антимикобактериального средства [14] в определенной концентрации.

Известны механизмы, благодаря которым патоген-зависимый инфламмагенный ответ может вызывать опухолевый процесс [33]. Во-первых, персистенция инфекционного воспаления способствует активному образованию радикальных форм кислорода и азота (ROS и RNOS). В свою очередь ROS и RNOS являются потенциальными повреждающими агентами ДНК, белков и клеточных мембран. Периодически повторяющиеся события хронического воспаления приводят к нарушениям клеточного цикла, аномальной клеточной пролиферации, а повреждение ДНК промотирует рост опухолевых клеток [33]. Во-вторых, инфекционный фактор способен непосредственно трансформировать клетки путем встраивания онкогенов в геном хозяина и препятствовать опухолевой супрессии. И, в-третьих, инфекционный фактор, в частности вирус иммунодефицита человека, может индуцировать развитие иммуносупрессии [79]. Отмечено, что антимикробная активность пчелиного меда снижается при его нагревании (до температуры 80°C), в то время как ультрафиолетовый свет повышает его противовоспалительные и противомикробные свойства в области инфицированной раневой поверхности [7]. Известно, что эффективность меда максимальна при комнатной температуре.

Выявлена способность пчелиного меда участвовать в контроле избыточной массы тела и ожире-

ния, являющихся факторами онкологического риска, в связи с наличием непосредственных связей между вялотекущим хроническим воспалением низких градаций и окислительным стрессом [32]. У больных с ожирением имеется более чем трехкратное повышение риска заболеть раком (по сравнению со здоровыми субъектами) [114, 117, 118] эндометрия [22, 91], молочных желез [3, 40] и прямой кишки [96]. Адипоциты способствуют ускоренной пролиферации клеток рака толстой кишки *in vitro* [11]. Онкологический риск повышен у пациентов с сахарным диабетом II типа, на фоне высокого индекса массы тела (выше 35 кг/м<sup>2</sup>). У женщин выявлено при этом 93-кратное повышение онкологического риска, у мужчин — 43-кратное [69]. Часто диабетический фон и ожирение связаны с возникновением колоректального рака [2, 107, 125, 131, 148]. В условиях клиники свежий пчелиный мед ежедневно назначался (70 мг) пациентам (55) с высоким индексом массы тела и 38 здоровым добровольцам в контроле. Это приводило к «мягкой» редукции массы тела (на 1,3%) и жировых масс (на 1,1%) по сравнению с контролем [149]. Однако благотворный эффект пчелиного меда требует дальнейшего изучения в многоцентровых исследованиях.

Считается, что пчелиный мед в составе вегетарианских диет может быть использован как элемент «природной противоопухолевой вакцины» [108, 129], а также в контроле (редукции) вялотекущего хронического воспаления низких градаций [25] и восстановления иммунного статуса организма. Причем, если темные сорта меда содержат большое количество фенольных компонентов с выраженными антиоксидантными свойствами, то светлые — содержат компоненты аминокислот и участвуют в иммуновоспалительной модуляции на фоне нейтрализации вредных влияний токсических радикалов [111].

Малазийский пчелиный мед отличается высокой противоопухолевой активностью на фоне индукции хемотаксиса нейтрофилов и ROS [49]. Сравнительно недавно *in vitro* в культуре клеток опухолей молочных желез [45], шейки матки [45], костной ткани [50] установлена существенная противоопухолевая активность малазийского меда. Механизм его действия обусловлен влиянием на многие сигнальные каскады [146], стимуляцией процесса высвобождения TNF- $\alpha$  [136], ингибированием пролиферации клеток, индукцией апоптоза [66], а также остановкой клеточного цикла [113] и торможением окисления липопротеинов [52]. Эти положительные эффекты связаны с хризиновой субстанцией меда и другими флавоноидами [65]. Однако при гормонозависимых опухолях молочных желез и эндометрия механизм противоопухолевого действия меда остается малоисследованным [98]. В то же время данный продукт наряду с изо-

флавонами и флавоноидами отдельные авторы стали относить к фитоэстрогенам [151].

### Прополис

На протяжении последнего тысячелетия прополис использовался эмпирическим путем в качестве иммуномодулирующего средства. В последние годы появились новые данные, полученные *in vivo* и *in vitro*, подтверждающие механизмы его действия и детализирующие особенности его химической структуры, природной распространенности и биологических свойств, а также иммуномодулирующих и противоопухолевых эффектов. Эти и другие важные вопросы применения прополиса требуют более подробного рассмотрения.

Иммуномодулирующее действие экстракта прополиса активно изучалось в начале 1990-х годов прошлого века. Dimon V. и соавт. [38] на основе использования моделей иммуносупрессии у мышей успешно предупреждали развитие побочных эффектов циклофосамида. При этом, применение водного раствора прополиса в дозировке 50 мг/кг увеличивало сроки выживания животных-опухолоносителей. Авторам удалось подтвердить, что прополис модулировал неспецифический иммунитет путем активации макрофагов. В дозе 0,2-1,0 мг/мл прополис стимулировал продукцию цитокинов (IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ) периферическими макрофагами [99]. Экстракт прополиса модулировал продукцию комплемента C1q, а также его специфического рецептора макрофагами *in vivo* и *in vitro* [39]. *In vitro* установлено, что экстракт прополиса (63-1000 мг/мл) ингибировал основные и альтернативные сигнальные каскады системы комплемента [62]. Оказалось, что комплемент C3 является основной мишенью действия экстракта прополиса, а его флавоноиды и фенольные соединения являются его нутриентами с антикомплементарной активностью [52].

Шесть изолированных компонентов прополиса, идентифицированные как производные кофеиновой кислоты, усиливали процессы подвижности и трансмиграции макрофагов [135]. Исследование влияния прополиса на активацию макрофагов показало, что прополис в дозировках 5, 10 и 20 мг/мл повышал генерацию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> этими клетками [101]. Анализ влияния комплексов кофеиновой и цинналовой кислот с лизином показал, что цинналовая кислота ингибировала генерацию H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, в то время как кофеиновая кислота индуцировала H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> продукцию [61].

Флавоны (10 или 100 ммоль/л) ингибировали люминол-зависимую хемилюминесценцию макрофагов, механизм которой был обусловлен фосфорилированием протеинкиназы C [76]. Выявлено ингибирование экстрактом прополиса (2-25 мг/мл) хемилюминесценции нейтрофилов и продукции супероксид анионов в этих клетках

[130]. Однако тонкие механизмы действия прополиса на свободнорадикальное окисление и процессы генерации радикальных форм кислорода малоизучены [36].

Прополис (50 или 100 мг/мл) ингибировал NO генерацию периферическими макрофагами [101], а в концентрации 0,2-10 мг/мл вызывал торможение генерации NO LPS-стимулированными макрофагами [99], на фоне усиления эффекта флавоноидами (10-50 ммоль/л) [77]. NO обеспечивает важный микробиоцидный механизм макрофагов, направленный на торможение синтеза ДНК, дыхательной функции митохондрий и активации транспорта через мембрану микроорганизмов [27, 87]. Известно, что NO также является важнейшим нейротрансмиттером, вазодилататором, а также клеточной медиаторной молекулой тканевой репарации [28]. Оказалось, что ингибирование NO-генерации вызывает как водный, так и этанольный экстракты прополиса у животных с моделью острого воспалительного ответа [60].

Ингибирующий эффект экстракта прополиса (5-100 мг/мл) на пролиферацию спленоцитов был установлен *in vitro* [122]. В предварительных экспериментах выявлена способность флавоноидов иммуносупрессировать лимфопролиферативный ответ [150]. С момента идентификации флавоноидов в составе прополиса вышеописанный эффект получил научное обоснование [18]. Прополис способствовал выраженной дозо-зависимой супрессии ДНК-синтеза в мононуклеарных клетках периферической крови человека и Т-лимфоцитах. Эти эффекты обуславливались влиянием фенилового эфира кофеиновой кислоты (CAPE), а также флавоноидами кверцетином и гесперидином [12]. Пролиферация спленоцитов была невыраженной, когда животные содержались в течение трех дней на рационе питания с добавкой экстракта прополиса (2,5 и 10 мг/кг). Однако конканавалин А-стимулированные клетки у мышей под влиянием прополиса достоверно ингибировали пролиферативный ответ на действие этого митогена [122]. Авторы поясняют полученные результаты продукцией цитокинов с антипролиферативной активностью Т-лимфоцитов, либо индукцией специфических медиаторных молекул макрофагами с последующим снижением пролиферативного ответа.

Воздействие экстракта прополиса на перитонеальные макрофаги модулировало продукцию оксида азота [101]. NO ответственный за торможение синтеза ДНК в клетке [41], промоцию задержки роста опухолевых клеток [112] и депрессию пролиферативного ответа Т-лимфоцитов, что показано на многих экспериментальных моделях опухолевого роста. Прополис обуславливает преактивацию макрофагов *in vivo* благодаря продукции молекул NO, которые способствуют ингибированию пролиферации Т-клеток.

Прополис тормозит продукцию IL-12, IL-2, IL-4 и IL-10, тогда как продукция TGF- $\beta$ 1 T-регуляторными клетками остается повышенной в супернатанте PBMC и T-лимфоцитах клеточной культуры после инкубации с экстрактом прополиса [12]. После повышения прополисом продукции TGF- $\beta$ 1 эти цитокины также участвуют в митозе и одновременно с этим снижают продукцию других цитокинов. IL-12 приводит к дифференцировке T-клеток, формируя Th1-тип клеточного пула. Обнаружен эффект прополиса ингибировать продукцию IL-2 и IL-4 цитокинов, что подтверждало роль прополиса и его специфических ингредиентов в ингибировании Th1- и Th2-типов клеточного ответа [12].

Уточнение особенностей функционирования молекулярных механизмов, ответственных за негативное регулирование прополисом клеточного роста, осуществлялось на основе изучения результатов функционирования MAP («mitogen activated protein») киназных сигнальных каскадов, а также экспрессии mRNA Erk2 («extracellular-signal-regulated kinase»), которая обеспечивает работу многих факторов транскрипции, контролирующих регуляцию «критической» группы генов лимфоцитов (в том числе белка IL-2). Устойчивая экспрессия Erk2 достигалась в прополис-стимулированных мононуклеарных клетках периферической крови, что может служить подтверждением в пользу существования общего сигнального каскада, триггеризируемого многими ингредиентами прополиса. Этот каскад медируется MAP/Erk2 киназами, несмотря на то, что потенциальная роль прополиса и его ингредиентов в иммунорегуляторном ответе может оказаться более сложной [129].

Существует другое пояснение ингибирующего эффекта прополиса на лимфопролиферацию, которое связано с тормозящими влияниями CAPE на факторы транскрипции (NF- $\kappa$ B и NFAT) [90]. Эти взаимодействия обуславливают CAPE-ингибирование транскрипции IL-2 гена, экспрессию IL-2R (CD25) и пролиферацию лимфоцитов человека и позволяют более отчетливо представлять молекулярные механизмы противовоспалительной и иммуновоспалительной активности биокомпонентов прополиса.

Известны многочисленные свидетельства противовоспалительного влияния прополиса [17, 19, 60, 72, 73, 92, 94, 95, 109, 110]. Водный экстракт прополиса через 2 месяца с момента его применения у больных с бронхиальной астмой редуцировал высокую частоту возникновения ночных астматических приступов и восстанавливал функцию дыхания, что происходило на фоне снижения простагландинов, лейкотриенов, провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8) и повышения IL-10.

Применение экстракта прополиса (20 мг/кг) на протяжении 14 суток у мышей c57Bl6 тормозило продукцию IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$  и IL-2 селезеночными

клетками, подтверждая этим противовоспалительный потенциал прополиса [129]. Проведенная оценка гуморального иммунного ответа позволила выяснить, что этаноловый экстракт прополиса повышал продукцию антител у SRBC-иммунизированных животных [123] на фоне активации макрофагов и последующей продукции цитокинов, регулирующих функции T- и B-лимфоцитов. В другом исследовании было показано, что повышенная продукция IL-1 $\beta$  макрофагами у мышей, леченных экстрактом прополиса, ассоциировалась с пролиферацией T и B клеток. Каффеиновая кислота и кверцетин не влияли на продукцию антител [128]. Эти биосоединения обладали антимикробным действием и оказывали выраженный цитостатический эффект на опухолевые клетки [80], также как и другие фенольные нутриенты и дитерпеноиды, входящие в состав экстракта прополиса и отличающиеся противоопухолевыми свойствами [20].

В 1995 г. была идентифицирована новая биосубстанция из Бразильского прополиса (под названием PMS-1), которая тормозила рост клеток злокачественной гепатомы и индуцировала блокаду клеточного цикла в G-фазе [88]. Выделение еще одного противоопухолевого компонента прополиса (артепиллин С) выявило его цитотоксическое действие, связанное с апоптоз-зависимой фрагментацией ДНК [89]. К тому же артепиллин С, супрессируя опухолевый рост *in vivo*, повышал CD4/CD8 T-клеточное соотношение [75].

Ингибирующее влияние CAPE на ангиогенез, опухолевую инвазию и метастазирующую активность CT26 клеток в легких было представлено в работе [84]. CAPE пролонгировал выживаемость мышей после имплантации им опухолевых (CT2) клеток. CAPE (10-400 мкмоль) вызывал дозо-зависимую токсичность на клетки С6 глиомы, редуцируя выживаемость животных (до 42% по сравнению с контролем) и повышая пропорцию гиподиплоидных ДНК, как инициатора апоптоза [81]. Белок опухолевой супрессии p53 является ядерным фосфопротеином и потенциальным регулятором клеточного роста [140]. Активация p53 приводит к альтеративным изменениям транскрипции широко варьируемых генов, контролирующих многие аспекты клеточного метаболизма, а также регуляцию клеточного цикла и апоптоза. Оказалось, что CAPE повышает фосфорилирование и экспрессию p53 и Bax, которые формируют гетеродимеры с Bcl-2 в мембране митохондрий и приводят к более частому развитию апоптоза [82]. Противоопухолевая активность экстракта прополиса формируется путем индукции апоптоза с вовлечением каспазных механизмов сигнализации [16].

Выявлена интерференция CAPE с остановкой клеточного цикла. После 24-часовой инкубации с CAPE количество клеток С6 глиомы в фазе G0/G1 повышалось до 85% на фоне ингибирования про-

цесса pRB-зависимого фосфорилирования [78]. Гистохимические и иммуногистохимические исследования выявили, что воздействие CAPE достоверно редуцировало количество клеток в состоянии митоза и PCNA («proliferating cells nuclear antigen»)-позитивных клеток глиомы мозга (линия C6) [78].

Резистентность к спонтанному опухолевому росту ассоциировалась с цитотоксической активностью природных NK-клеток-киллеров, регистрируемой у человека и экспериментальных животных [70]. Клетки-киллеры являются субпопуляцией T- и B-лимфоцитов, обладающие литической активностью преимущественно против опухолевых и вирус-содержащих клеток. Активация NK, направленная против опухолевых клеток, связана со снижением аллельного полиморфизма генов главного комплекса гистосовместимости I класса, а также является регулятором непосредственного иммунологического распознавания мишеней клеточных структур — NK-клетки вступают в кооперативные взаимодействия с адаптивным иммунитетом, секретирова цитокины, которые регулируют функционирование T-клеточной популяции [67].

После трехсуточного воздействия 10% водным экстрактом прополиса выявлено повышение цитотоксической активности NK-клеток против клеток лимфомы у грызунов [127]. Эти данные подтверждают предвзятые наблюдения того, что прополис оказывает выраженное влияние на иммунную систему, усиливая иммунобиологические ответные реакции [123]. Известно, что активированные клетки-киллеры высвобождают ряд цитокинов (INF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-21, IL-23), однако механизмы их активации остаются недостаточно изученными [70]. По-видимому, прополис-зависимая активация макрофагов в этом случае может индуцировать продукцию цитокинов, в частности TNF- $\alpha$  и IL-12, которые оказывают влияние на NK-клетки и способствуют повышению их цитотоксической активности.

Макрофаги играют важную роль в противоопухолевом ответе, благодаря феномену антитело-зависимой клеточной цитотоксичности (ADCC, «antibody-dependent cellular cytotoxicity»), секреции ингибирующих опухолевый рост цитокинов, а также продукции радикальных форм кислорода и азота [102]. Влияние водного экстракта прополиса (50 мг/кг) модифицировало тумороцидную активность макрофагов на фоне повышенной продукции лимфоцит-активирующих факторов, ингибирующих рост клеток карциномы шейки матки (Hela) и легочных фибробластов (V79) [102].

Экстракт прополиса (50 и 100 мг/кг), а также отдельно применяемые полифенольные соединения (каффеиновая кислота, CAPE и кверцетин) способствовали снижению количества метастазов

в легких [104]. При этом, противометастатическая активность экстракта прополиса оказалась более высокой по сравнению с таковой у полифенольных соединений. В процессе активации макрофаги выделяли медиаторные молекулы (TNF- $\alpha$ , H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и NO), которые способствовали ингибированию синтеза ДНК и деструкции опухолевых клеток. Прополис или CAPE повышали продукцию NO, что редуцировало синтез ДНК в опухолевых клетках. Однако кофеиновая кислота не оказывала влияния на NO продукцию, что подтверждало предположение о существовании других механизмов (например, генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) и наличие у кофеиновой кислоты прооксидантных свойств [104]. По-видимому, прополис, кофеиновая кислота и CAPE, обладающие антиинфламмагенным и антиоксидантным действием, могут быть использованы как синергисты в будущем в качестве надежного «инструмента» в контроле опухолевого роста [105]. Противоопухолевое влияние прополиса и его биокомпонентов может ассоциироваться с их иммуномодулирующими свойствами, преимущественно на фоне усиления неспецифического противоопухолевого иммунитета в условиях провоспалительной активации макрофагов [106].

Индукцию апоптоза опухолевых клеток (линия U937) вызывал экстракт прополиса (300 мг/мл) благодаря активации каспазы-3 и снижению регуляции Bcl-2 белка [100]. Сверхактивацию каспазы-6 индуцировал этанольный экстракт прополиса в большей степени, чем активацию каспазы-8 и -9 в клетках опухоли (линия MCF-7), что подтверждало включение «внутреннего» каспазного каскада в противоопухолевую активность прополиса [124]. Однако прополис индуцировал апоптоз и путем высвобождения цитохрома C из митохондрий в цитозоль, благодаря активации каспазы-3 в лейкемических клетках (HL-60) человека [43].

Включение внешнего («extrinsic») апоптотического механизма в противоопухолевую активность прополиса показано в работе [132]. Оказалось, что этанольный экстракт прополиса (50 мг/мл) заметно усиливал апоптоз, индуцированный выходом в цитоплазму клеток Hela лиганда фактора некроза опухолей (TRAIL). TRAIL — член семейства TNF — индуцировал программированную гибель опухолевых клеток путем взаимодействия с доменами смерти в составе рецепторов TRAIL-R1 или TRAIL-R2 [5, 15].

Таким образом, пчелиный мед и прополис в качестве многокомпонентных субстанций, содержащих биологически активные соединения с противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, могут служить потенциальными химиотерапевтическими, химиопрофилактическими и противоопухолевыми средствами после проведения многоцентровых исследований в рамках доказательной медицины.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Андреева В.А. Мед и его целебные свойства / В.А. Андреева. — М.: Астрель: АСТ, 2005. — 93 с.
2. The metabolic syndrome and risk of incident colorectal cancer / R.L. Ahmed, K.H. Schmitz, K.E. Anderson [et al.]// *Cancer*. — 2006. — №107(1). — P. 28–36.
3. Adiposity, adult weight change, and postmenopausal breast cancer risk / J. Ahn, A. Schatzkin, J.V. Lacey [et al.]// *Arch. Intern. Med.* — 2007. — №167(19). — P. 2091–2102.
4. Antibacterial activity of Omani honey alone and in combination with gentamicin / A.A. Al-Jabri, S.A. Al-Hosni, B.C. Nzeako [et al.]// *Saudi Med. J.* — 2005. — №26(5). — P. 767–771.
5. Almasan A. Apo2L/TRAIL: apoptosis signaling, biology, and potential for cancer therapy / A. Almasan, A. Ashkenazi // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 2003. — №14(3/4). — P. 337–348.
6. Al-Waili N.S. Topical application of natural honey, beeswax and olive oil mixture for atopic dermatitis or psoriasis: partially controlled, single-blinded study / N.S. Al-Waili // *Complement. Ther. Med.* — 2003. — №11(4). — P. 226–234.
7. Al-Waili N.S. Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva / N.S. Al-Waili // *J. Med. Food.* — 2004. — №7(2). — P. 210–222.
8. Al-Waili N. S. Clinical and mycological benefits of topical application of honey, olive oil and beeswax in diaper dermatitis / N.S. Al-Waili // *Clin. Microbiol. Infect.* — 2005. — №11(2). — P. 160–163.
9. The antimicrobial potential of honey from United Arab Emirates on some microbial isolates / N.S. Al-Waili, M. Akmal, F.S. Al-Waili [et al.]// *Med. Sci. Monit.* — 2005. — №11(12). — P. BR433–BR438.
10. Les composés phénoliques des miels: étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles / [M.J. Amiot, S. Aubert, M. Gonnet, M. Tacchini]// *Apidologie*. — 1989. — №20. — P. 115–125.
11. Adipocytes and preadipocytes promote the proliferation of colon cancer cells in vitro / S. Amemori, A. Ootani, S. Aoki [et al.]// *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2007. — №292(3). — P. G923–G929.
12. Ansoorge S. Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF-beta1 production of human immune cells / S. Ansoorge, D. Reinhold, U. Lendeckel // *Z. Naturforsch. C.* — 2003. — №58(7/8). — P. 580–589.
13. Antioxidative effect of maillard reaction products formed from honey at different reaction times / [S.M. Antony, I.Y. Han, J.R. Rieck, P.L. Dawson]// *J. Agric. Food Chem.* — 2000. — №48(9). — P. 3985–3989.
14. Asadi-Pooya A.A. The antimycobacterial effect of honey: an in vitro study / A.A. Asadi-Pooya, M.R. Prnjehshahin, S. Beheshti // *Riv. Biol.* — 2003. — №96(3). — P. 491–495.
15. Safety and antitumor activity of recombinant soluble Apo2 ligand / A. Ashkenazi, R.C. Pai, S. Fong [et al.]// *J. Clin. Invest.* — 1999. — №104(2). — P. 155–162.
16. Inhibitory effect of propolis on the growth of human leukemia U937 / K. Aso, S. Kanno, T. Tadano [et al.]// *Biol. Pharm. Bull.* — 2004. — №27(5). — P. 727–730.
17. Bae Y. Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor- B / Y. Bae, S. Lee, S.H. Kim // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* — 2011. — №254(1). — P. 56–64.
18. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis / V. Bankova, G. Boudourova-Krasteva, S. Popov [et al.]// *Apidologie*. — 1998. — №29. — P. 361–367.
19. Effect of propolis on mast cells in wound healing / P.R. Barroso, R. Lopes-Rocha, E.M. Pereira [et al.]// *Inflammopharmacology*. — 2001. — №20(5). — P. 289–294.
20. Banskota A.H. Recent progress in pharmacological research of propolis / A.H. Banskota, Y. Tezuka, S. Kadota // *Phytother. Res.* — 2001. — №15(7). — P. 561–571.
21. Bestwick C.S. Influence of galangin on HL-60 cell proliferation and survival / C.S. Bestwick, L. Milne // *Cancer Lett.* — 2006. — №243(1). — P. 80–89.
22. Bjurge T. Body size in relation to cancer of the uterine corpus in 1 million Norwegian women / T. Bjurge, A. Engeland, S. Tretli, E. Weiderpass // *Int. J. Cancer.* — 2007. — №120(2). — P. 378–383.
23. Antiproliferative effect of quercetin in the human U138MG glioma cell line / E. Braganhol, L.L. Zamin, A.D. Canedo [et al.]// *Anticancer Drugs*. — 2006. — №17(6). — P. 663–671.
24. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance / L. Bravo // *Nutr. Rev.* — 1998. — №56(11). — P. 317–333.
25. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity / P.C. Calder, N. Ahluwalia, F. Brouns [et al.]// *Br. J. Nutr.* — 2011. — №106, suppl. 3. — P. S5–S78.
26. Catapano A.L. Antioxidant effect of flavonoids / A.L. Catapano // *Angiology*. — 1997. — №48(1). — P. 39–44.
27. Killing of virulent *Mycobacterium tuberculosis* by reactive nitrogen intermediates produced by activated murine macrophages / [J. Chan, Y. Xing, R.S. Magliozzo, B.R. Bloom]// *J. Exp. Med.* — 1992. — №175(4). — P. 1111–1122.
28. In vitro induction of nitric oxide by mouse peritoneal macrophages treated with human placental extract / [P.D. Chakraborty, D. Bhattacharyya, S. Pal, N. Ali]// *Int. Immunopharmacol.* — 2006. — №6(1). — P. 100–107.
29. Solid-phase extraction and HPLC-determinant of organic acid in honey / A. Cherchi, L. Spanedda, C. Tuberoso [et al.]// *J. Chromatogr.* — 1994. — №669. — P. 59–64.

30. Anti-proliferative effect of apigenin and its apoptotic induction in human Hep G2 cells / L.C. Chiang, L.T. Ng, I.C. Lin [et al.]// *Cancer Lett.* —2006. —№237(2). —P. 207–214.
31. Novel and therapeutic effect of caffeic acid and caffeic acid phenyl ester on hepatocarcinoma cells: complete regression of hepatoma growth and metastasis by dual mechanism / T.W. Chung, S.K. Moon, Y.C. Chang [et al.]// *FASEB J.* —2004. —№18(14). —P. 1670–1681.
32. Oxidant mechanisms in childhood obesity: the link between inflammation and oxidative stress / [P. Codoner-Franch, V. Valls-Belles, A. Arilla-Codoner, E. Alonso-Iglesias]// *Transl. Res.* —2011. —№158(6). —P. 369–384.
33. Cohen S.M. Ideas in pathology. Pivotal role of increased cell proliferation in human carcinogenesis / S.M. Cohen, D.T. Purtilo, L.B. Ellwein // *Mod. Pathol.* —1991. —№4(3). —P. 371–382.
34. Cook N.C. Flavonoids –chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources / N.C. Cook, S. Samman // *J. Nutr. Biochem.* —1996. —№7(2). —P. 66–76.
35. Molecular mechanisms in the antiproliferative action of quercetin / [B. Csokay, N. Prajda, G. Weber, E. Olah]// *Life Sci.* —1997. —№60(24). —P. 2157–2163.
36. In vivo effects of propolis, a honeybee product, on gilthead seabream innate immune responses / [A. Cuesta, A. Rodríguez, M.A. Esteban, J. Meseguer]// *Fish Shellfish Immunol.* —2005. —№18(1). —P. 71–80.
37. Davies A.M.C. Free amino acid analysis of honey from England and of the geographical origin of honeys / A.M.C. Davies, R.G. Harris // *Journal of Agricultural Research.* —1982. —№21. —P. 168–173.
38. Immunomodulatory action of propolis. Influence on anti-infectious protection and macrophage function / V. Dimov, N. Ivanovska, N. Manolova [et al.]// *Apidologie.* —1991. —№22. —P. 155–162.
39. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivative / [V. Dimov, N. Ivanovska, V. Bankova, S. Popov] // *Vaccine.* —1992. —№10(12). —P. 817–823.
40. Effects of high-fat diet and/or body weight on mammary tumor leptin and apoptosis signaling pathways in MMTV-TGF-alpha mice / S. Dogan, X. Hu, Y. Zhang [et al.] // *Breast Cancer Res.* —2007. —№9(6). —P. R91.
41. Drapier J.C. Murine cytotoxic activated macrophages inhibit aconitase in tumor cells. Inhibition involves the iron-sulfur prosthetic group and is reversible / J.C. Drapier, J.B. Hibbs // *J. Clin. Invest.* —1986. —№78(3). —P. 790–797.
42. English H.K. The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: a pilot study / H.K. English, A.R. Pack, P.C. Molan // *J. Int. Acad. Periodontol.* —2004. —№6(2). —P. 63–67.
43. Propolis inhibits the proliferation of human leukaemia HL-60 cells by inducing apoptosis through the mitochondrial pathway / [H.S. Eom, E.J. Lee, B.S. Yoon, B.S. Yoo] // *Nat. Prod. Res.* —2010. —№24(4). —P. 375–386.
44. Erejuwa O.O. Honey: a novel antioxidant / O.O. Erejuwa, S.A. Sulaiman, M.S. Ab Wahab // *Molecules.* —2012. —№17(4). —P. 4400–4423.
45. Fauzi A.N. Tualang honey induces apoptosis and disrupts the mitochondrial membrane potential of human breast and cervical cancer cell lines / A.N. Fauzi, M.N. Norazmi, N.S. Yaacob // *Food Chem. Toxicol.* —2011. —№49(4). —P. 871–878.
46. Fessenden R. The Honey Revolution: Restoring the Health of Future Generations / R. Fessenden, M. McInnes (Eds.). —World Class Emprise, LLS, 2<sup>nd</sup> ed. —2009. —240 p.
47. Food and Agriculture Organization. Agricultural Services Bulletin. Food and Agriculture Organization. —Rome, Italy, 1996.
48. French V.M. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci / V.M. French, R.A. Cooper, P.C. Molan // *J. Antimicrob. Chemother.* —2005. —№56(1). —P. 228–231.
49. Jungle honey enhances immune function and antitumor activity / M. Fukuda, K. Kobayashi, Y. Hirono [et al.] // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* —2011. —№2011. —P. 908743.
50. Antiproliferative effect of Tualang honey on oral squamous cell carcinoma and osteosarcoma cell lines / A.A. Ghosh, N.H. Othman, M.N. Khattak [et al.] // *BMC Complement. Alternat. Med.* —2010. —№10. —P. 49.
51. Anticomplement activity of lysine complexes of propolis phenolic constituents and their synthetic analogs / [P. Georgieva, N. Ivanovska, V. Bankova, S. Popov] // *Z. Naturforsch C.* —1997. —№52(1/2). —P. 60–64.
52. Gheldof N. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples / N. Gheldof, N.J. Engeseth // *J. Agric. Food Chem.* —2002. —№50(10). —P. 3050–3055.
53. Gribel' N.V. The antitumor properties of honey / N.V. Gribel', V.G. Pashinski // *Vopr. Onkol.* —1990. —№36(6). —P. 704–709
54. The intracellular effects of manuka honey on *Staphylococcus aureus* / [A.F. Henriques, R.E. Jenkins, N.F. Burton, R.A. Cooper] // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* —2010. —№29(1). —P. 45–50.
55. Heppermann B. Towards evidence based emergency medicine: Best BETs from the Manchester Royal Infirmary. Bet 3. Honey for the symptomatic relief of cough in children with upper respiratory tract infections / B. Heppermann // *Emerg. Med. J.* —2009. —№26(7). —P. 522–523.
56. Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogen-

- esis model / M. Hirose, Y. Takesada, H. Tanaka [et al.] // *Carcinogenesis*. —1998. —№19(1). —P. 207–212.
57. Hsu Y.L. Acacetin inhibits the proliferation of Hep G2 by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis / Y.L. Hsu, P.L. Kuo, C.C. Lin // *Biochem. Pharmacol.* —2004. —№67(5). —P. 823–829.
58. Acacetin-induced cell cycle arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells / [Y.L. Hsu, P.L. Kuo, C.F. Liu, C.C. Lin] // *Cancer Lett.* —2004. —№212(1). —P. 53–60.
59. Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion in mouse skin and the synthesis of DNA, RNA and protein in HeLa cells / M.T. Huang, W. Ma, P. Yen [et al.] // *Carcinogenesis*. —1996. —№17(4). —P. 761–765.
60. Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models / F. Hu, H.R. Hepburn, Y. Li [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* —2005. —№100(3). —P. 276–283.
61. Immunomodulatory action of propolis: VII. A comparative study on cinnamic and caffeic acid lysine derivatives / [N. Ivanovska, Z. Stefano, V. Valeva, H. Neychev] // *Biol. Immun.* —1993. —№46. —P. 115–117.
62. Immunomodulatory action of propolis. V. Anticomplementary activity of a water-soluble derivative / N.D. Ivanovska, V.B. Dimov, S. Pavlova [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* —1995. —№47(3). —P. 135–143.
63. Jaganathan S.K. Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review / S.K. Jaganathan, M. Mandal // *J. Biomed. Biotechnol.* —2009. —№2009. —P. 830616.
64. Jaganathan S.K. Honey constituents and its apoptotic effect in colon cancer cells / S.K. Jaganathan, M. Mandal // *Journal of Apiprodukt and Apimedical Science*. —2009. —№1. —P. 29–36.
65. Jaganathan S.K. Studies on the phenolic profiling, anti-oxidant and cytotoxic activity of Indian honey: in vitro evaluation / S.K. Jaganathan, M. Mandal, S.K. Jana // *Natural Product Research*. —2010. —№24(14). —P. 1295–1306.
66. Jaganathan S.K. Involvement of non-protein thiols, mitochondrial dysfunction, reactive oxygen species and p53 in honey-induced apoptosis / S.K. Jaganathan, M. Mandal // *Investigational New Drugs*. —2010. —№28(5). —P. 624–633.
67. Jakobisiak M. Natural mechanisms protecting against cancer / M. Jakobisiak, W. Lasek, J. Golab // *Immunol. Lett.* —2003. —№90(2/3). —P. 103–122.
68. Traynor J. (Ed.). *Honey: The Gourmet Medicine* / J. Traynor. —Kovak Books, 2002. —106 p.
69. Jung R.T. Obesity as a disease / R.T. Jung // *Br. Med. Bull.* —1997. —№53(2). —P. 307–321.
70. Kaneno R. Role of natural killer cells in antitumor resistance / R. Kaneno // *ARBS Ann. Rev. Biomed. Sci.* —2005. —№7. —P. 127–148.
71. Kang T.B. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 leukemia cells / T.B. Kang, N.C. Liang // *Biochem. Pharmacol.* —1997. —№54(9). —P. 1013–1018.
72. Khayyal M.T. Mechanisms involved in the antiinflammatory effect of propolis extract / M.T. Khayyal, M.A. el-Ghazaly, A.S. el-Khatib // *Drugs Exp. Clin. Res.* —1993. —№19(5). —P. 197–203.
73. A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients / M.T. Khayyal, M.A. el-Ghazaly, A.S. el-Khatib [et al.] // *Fundam. Clin. Pharmacol.* —2003. —№17(1). —P. 93–102.
74. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B / K. Natarajan, S. Singh, T.R. Burke [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. —1996. —№93(17). —P. 9090–9095.
75. Apoptosis and suppression of tumor growth by artemillin C extracted from Brazilian propolis / T. Kimoto, S. Arai, M. Kohguchi [et al.] // *Cancer Detect. Prev.* —1998. —№22(6). —P. 506–515.
76. Modulation of luminol-dependent chemiluminescence of murine macrophages by flavone and its synthetic derivatives / W. Krol, Z.P. Czuba, M.D. Threadgill [et al.] // *Arzneimittelforschung*. —1995. —№45(7). —P. 815–818.
77. Modulation of the cytotoxic activity of murine macrophages by avones / W. Krol, Z.P. Czuba, G. Pietsz [et al.] // *Current Topics in Biophysics*. —1996. —№20. —P. 88–93.
78. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on the growth of C6 glioma cells in vitro and in vivo / H.C. Kuo, W.H. Kuo, Y.J. Lee [et al.] // *Cancer Lett.* —2006. —№234(2). —P. 199–208.
79. Kuper H. Infections as a major preventable cause of human cancer / H. Kuper, H.O. Adami, D. Trichopoulos // *J. Intern. Med.* —2000. —№248(3). —P. 171–183.
80. Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells / [Y.J. Lee, P.H. Liao, W.K. Chen, C.Y. Yang] // *Cancer Lett.* —2000. —№153(1/2). —P. 51–56.
81. Involvement of tumor suppressor protein p53 and p38 MAPK in caffeic acid phenethyl ester-induced apoptosis of C6 glioma cells / Y.J. Lee, H.C. Kuo, C.Y. Chu [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* —2003. —№66(12). —P. 2281–2289.
82. Cytotoxicity of phenolic acid phenethyl esters on oral cancer cells / Y.T. Lee, M.J. Don, P.S. Hung [et al.] // *Cancer Lett.* —2005. —№223(1). —P. 19–25.
83. Kaempferol induces apoptosis in human lung non-small carcinoma cells accompanied by an induction of antioxidant enzymes / H.W. Leung, C.J. Lin, M.J. Hour [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* —2007. —№45(10). —P. 2005–2013.
84. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on angiogenesis, tumor invasion, and metastasis / H.F. Liao, Y.Y. Chen, J.J. Liu [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* —2003. —№51(27). —P. 7907–7912.

85. Antioxidative activity of quercetin and quercetin monoglucosides in solution and phospholipid bilayers / K. Ioku, T. Tsushida, Y. Takei [et al.] // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1995. — №1234(1). — P. 99–104.
86. Chepulis Lynne. *Healing Honey: A Natural Remedy for Better Health and Wellness* / Lynne Chepulis. — Brown Walker Press, 2008. — 144 p.
87. MacMicking J. Nitric oxide and macrophage function / J. MacMicking, Q.W. Xie, C. Nathan // *Annu. Rev. Immunol.* — 1997. — №15. — P. 323–350.
88. Matsuno T. A new clerodane diterpenoid isolated from propolis / T. Matsuno // *Z. Naturforsch.* — 1995. — №50. — P. 93–97.
89. Preferential cytotoxicity to tumor cells of 3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillin C) isolated from propolis / T. Matsuno, S.K. Jung, Y. Matsumoto [et al.] // *Anticancer Res.* — 1997. — №17(5A). — P. 3565–3568.
90. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-kappaB transcription factors / N. Mórquez, R. Sancho, A. Macho [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2004. — №308(3). — P. 993–1001.
91. Body mass index: relationship to clinical, pathologic and features of microsatellite instability in endometrial cancer / C.K. McCourt, D.G. Mutch, R.K. Gibb [et al.] // *Gynecol. Oncol.* — 2007. — №104(3). — P. 535–539.
92. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes / S.V. McLennan, J. Bonner, S. Milne [et al.] // *Wound Repair. Regen.* — 2008. — №16(5). — P. 706–713.
93. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus* / P.L. Miorin, N.C. Levy Junior, A.R. Custodio [et al.] // *J. Appl. Microbiol.* — 2003. — №95(5). — P. 913–920.
94. Effect of *Baccharis dracunculifolia* D.C. (Asteraceae) extracts and its isolated compounds on macrophage activation / F. Missima, A.A. Da Silva Filho, G.A. Nunes [et al.] // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2007. — №59(3). — P. 463–468.
95. Mirzoeva O.K. Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria / O.K. Mirzoeva, R.N. Grishanin, P.C. Calder // *Microbiol. Res.* — 1997. — №152(3). — P. 239–246.
96. Moghaddam A.A. Obesity and risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 31 studies with 70,000 events / A.A. Moghaddam, M. Woodward, R. Huxley // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* — 2007. — №16(12). — P. 2533–2547.
97. Molan P.C. The potential of honey to promote oral wellness / P.C. Molan // *Gen. Dent.* — 2001. — №49(6). — P. 584–589.
98. Moutsatsou P. The spectrum of phytoestrogens in nature: our knowledge is expanding / P. Moutsatsou // *Hormones.* — 2007. — №6(3). — P. 173–193.
99. In vitro activation of mouse macrophage by propolis extract powder / [J. Moriyasu, S. Arai, R. Motoda, M. Kurimoto] // *Biotherapy.* — 1994. — №8. — P. 364–365.
100. Propolis induces cell cycle arrest and apoptosis in human leukemic U937 cells through Bcl-2/Bax regulation / M. Motomura, K.M. Kwon, S.J. Suh [et al.] // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* — 2008. — №26(1). — P. 61–67.
101. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation / R.O. Orsi, S.R. Funari, A.M. Soares [et al.] // *J. Venom. Anim. Toxins.* — 2000. — №6(2). — P. 205–219.
102. Orsolic N. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity / N. Orsolic, I. Basi // *J. Ethnopharmacol.* — 2003. — №84(2/3). — P. 265–273.
103. Influence of honey bee products on transplantable murine tumours / N. Orsolic, A. Knezevic, L. Sver [et al.] // *Vet. Comp. Oncol.* — 2003. — №1(4). — P. 216–226.
104. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds / N. Orsolic, A.H. Knezevic, L. Sver [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* — 2004. — №94(2/3). — P. 307–315.
105. Peroral application of water-soluble derivative of propolis (WSDP) and its related polyphenolic compounds and their influence on immunological and antitumour activity / [N. Orsolic, L. Sver, S. Terzi, I. Basic] // *Vet. Res. Commun.* — 2005. — №29(7). — P. 575–593.
106. Orsolic N. Direct and indirect mechanism(s) of antitumour activity of propolis and its polyphenolic compounds / N. Orsolic, A.B. Saranovic, I. Basic // *Planta Med.* — 2006. — №72(1). — P. 20–27.
107. Othman N.H. Association of colorectal carcinoma with metabolic diseases; experience with 138 cases from Kelantan, Malaysia / N.H. Othman, A.A. Zin // *Asian Pac. J. Cancer Prev.* — 2008. — №9(4). — P. 747–751.
108. Othman N.H. Honey and cancer: sustainable inverse relationship particularly for developing nations—a review / N.H. Othman // *Evid. Based Complement Alternat Med.* — 2012. — №2012. — P. 410–406.
109. Propolis effects on pro-inflammatory cytokine production and Toll-like receptor 2 and 4 expression in stressed mice / A.C. Pagliarone, C.L. Orsatti, M.C. Bufalo [et al.] // *Int. Immunopharmacol.* — 2009. — 9(11). — P. 1352–1356.
110. Evaluation of the analgesic and antiinflammatory effects of a Brazilian green propolis / N. Paulino, C. Teixeira, R. Martins [et al.] // *Planta Med.* — 2006. — 72(10). — P. 899–906.

111. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys / R.A. Perez, M.T. Iglesias, E. Pueyo [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* —2007. —№55(2). —P. 360–365.
112. Pervin S. Nitric oxide-induced cytostasis and cell cycle arrest of a human breast cancer cell line (MDA-MB-231): potential role of cyclin D1 / S. Pervin, R. Singh, G. Chaudhuri // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* —2001. —№98(6). —P. 3583–3588.
113. Acacia honey and chrysin reduce proliferation of melanoma cells through alterations in cell cycle progression / E. Pichichero, R. Cicconi, M. Mattei [et al.] // *Int. J. Oncol.* —2010. —№37(4). —P. 973–981.
114. Pischon T. Obesity and cancer / T. Pischon, U. Nothlings, H. Boeing // *Proc. Nutr. Soc.* —2008. —№67(2). —P. 128–145.
115. Inhibitory effect of caffeic acid esters on azoxymethane-induced biochemical changes and aberrant crypt foci formation in rat colon / C.V. Rao, D. Desai, B. Simi [et al.] // *Cancer Res.* —1993. —№53(18). —P. 4182–4188.
116. Effect of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human colon adenocarcinoma cell growth / C.V. Rao, D. Desai, B. Kaul [et al.] // *Chem. Biol. Interact.* —1992. —№84(3). —P. 277–290.
117. Weight change and cancer risk in a cohort of more than 65,000 adults in Austria / K. Rapp, J. Klenk, H. Ulmer [et al.] // *Ann. Oncol.* —2008. —№19(4). —P. 641–648.
118. Cancer incidence and mortality in relation to body mass index in the Million Women Study: cohort study / G.K. Reeves, K. Pirie, V. Beral [et al.] // *BMJ.* —2007. —№335(7630). —P. 1134.
119. Robaszekiewicz A. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells / A. Robaszekiewicz, A. Balerczyk, G. Bartosz // *Cell Biol. Int.* —2007. —№31(10). —P. 1245–1250.
120. Ruth Tun (Ed.). *How to Effectively Use Honey as Medicine: What Doctors Don't Tell You - Transform Your Health with Nature's Living Food* / Tun Ruth (Ed.). —Create Space Independent Publ., 2011. —118 p.
121. Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants / N. Salah, N.J. Miller, G. Paganga [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* —1995. —№322(2). —P. 339–346.
122. Sa-Nunes A. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN-gamma production / A. Sa-Nunes, L.H. Faccioli, J.M. Sforcin // *J. Ethnopharmacol.* —2003. —№87(1). —P. 93–97.
123. The ability of ethanol extract of propolis to stimulate plaque formation in immunized mouse spleen cells / S. Scheller, G. Gazda, G. Pietsz [et al.] // *Pharmacol. Res. Commun.* —1988. —№20(4). —P. 323–328.
124. Propolis from Turkey induces apoptosis through activating caspases in human breast carcinoma cell lines / H. Seda Vatansever, K. Sorkun, S. Ismet Deliloglu Gurhan [et al.] // *Acta Histochem.* —2010. —№112(6). —P. 546–556.
125. Diabetes mellitus and risk of colorectal cancer in the Singapore Chinese Health Study / A. Seow, J.M. Yuan, W.P. Koh [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* —2006. —№98(2). —P. 135–138.
126. Serafini M. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man / M. Serafini, A. Ghiselli, A. Ferro-Luzzi // *Eur. J. Clin. Nutr.* —1996. —№50(1). —P. 28–32.
127. Sforcin J.M. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of brazilian propolis on natural killer activity / J.M. Sforcin, R. Kaneno, S. Funari // *Journal of Venomous Animals and Toxins.* —2002. —№8(1). —P. 19–29.
128. Sforcin J.M. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production / J.M. Sforcin, R.O. Orsi, V. Bankova // *J. Ethnopharmacol.* —2005. —№98(3). —P. 301–305.
129. Sforcin J.M. Propolis and the immune system: a review / J.M. Sforcin // *J. Ethnopharmacol.* —2007. —№113(1). —P. 1–14.
130. Effect of Brazilian green propolis on the production of reactive oxygen species by stimulated neutrophils / L.M. Simoes, L.E. Gregorio, A.A. Da Silva Filho [et al.] // *J. Ethnopharmacol.* —2004. —№94(1). —P. 59–65.
131. Cancer risk associated with use of metformin and sulfonylurea in type 2 diabetes: a meta-analysis / D. Soranna, L. Scotti, A. Zamboni [et al.] // *Oncologist.* —2012. —№17(6). —P. 813–822.
132. Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells / E. Szliszka, Z.P. Czuba, M. Domino [et al.] // *Molecules.* —2009. —№14(2). —P. 738–754.
133. Geographical discrimination of honeys through the employment of sugar patterns and common chemical quality parameters / [S.T. Tan, A.L. Wilkins, P.T. Holland, T.K. McGhie] // *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* —1989. —№37. —P. 1217–1222.
134. Antineoplastic activity of honey in an experimental bladder cancer implantation model: in vivo and in vitro studies / S. Tarek, N. Miyanaga, M. Onozawa [et al.] // *Int. J. Urol.* —2003. —№10(4). —P. 213–219.
135. Isolation and identification of compounds from Brazilian propolis which enhance macrophage spreading and mobility / T. Tatefuji, N. Izumi, T. Ohta [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* —1996. —№19(7). —P. 966–970.
136. Stimulation of TNF-alpha release in monocytes by honey / A. Tonks, R.A. Cooper, A.J. Price [et al.] // *Cytokine.* —2001. —№14(4). —P. 240–242.
137. Yeger H. Induction of caspase-dependent, p53-mediated apoptosis by apigenin in human neuroblastoma / R. Torkin, J.F. Lavoie, D.R. Kaplan [et al.] // *Mol Cancer Ther.* —2005. —№4(1). —P. 1–11.
138. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables / [J.A. Vinson, Y. Hao, X. Su, L. Zubik] // *J. Agric. Food Chem.* —1998. —№46. —P. 3630–3634.
139. Vit P. Profiles of phenolic compounds of *Apis mellifera* and *Melipona* spp. honeys from Venezuela / P.

- Vit, C. Soler, F.A. Tomas-Barberan // *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. —1997. —47204(1). —P. 43–47.
140. Vogelstein B. P53 function and dysfunction / B. Vogelstein, K.W. Kinzler // *Cell*. —1992. —№70(4). — P. 523–526.
141. Cell-cycle arrest at G2/M and growth inhibition by apigenin in human colon carcinoma cell lines / W. Wang, L. Heideman, C.S. Chung [et al.] // *Mol. Carcinog*. —2000. —№28(2). —P. 102–110.
142. Way T.D. Apigenin induces apoptosis through proteasomal degradation of HER2/neu in HER2/neu-overexpressing breast cancer cells via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway / T.D. Way, M.C. Kao, J.K. Lin // *J. Biol. Chem*. —2004. —№279(6). —P. 4479–4489.
143. Weng M.S. Chrysin induces G1 phase cell cycle arrest in C6 glioma cells through inducing p21Waf1/Cip1 expression: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase / M.S. Weng, Y.S. Ho, J.K. Lin // *Biochem. Pharmacol*. —2005. —№69(12). —P. 1815–1827.
144. White J.W. Composition of honey / J.W. White // Crane E. (Ed.). *Honey. A comprehensive survey*. — London : Heinemann Edition, 1975. —P. 157–206.
145. White J.W. The protein content of honey / J.W. White // *J. of Agricultural Res*. —1978. —№17. — P. 234–238.
146. Chrysin-induced apoptosis is mediated through caspase activation and Akt inactivation in U937 leukemia cells / [K.J. Woo, Y.J. Jeong, J.W. Park, T.K. Kwon] // *Biochem. Biophys. Res. Commun*. — 2004. —№325(4). —P. 1215–1222.
147. World Wide Wounds. Honey as a topical antibacterial agent for treatment of infected wounds. February 2002 (<http://www.worldwidewounds.com/2001/Molan/honey-as-topical-agent.html>)
148. Yang Y.X. Type 2 diabetes mellitus and the risk of colorectal cancer / Y.X. Yang, S. Hennessy, J.D. Lewis // *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. —2005. —№3(6). —P. 587–594.
149. Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose / N. Yaghoobi, N. Al-Waili, M. Ghayour-Mobarhan [et al.] // *The Scientific World Journal*. —2008. —№8. —P. 463–469.
150. Vitexicarpin, a flavonoid from the fruits of *Vitex rotundifolia*, inhibits mouse lymphocyte proliferation and growth of cell lines in vitro / K.M. You, K.H. Son, H.W. Chang [et al.] // *Planta Med*. —1998. —№64(6). — P. 546–550.
151. The effects of Tualang honey on female reproductive organs, tibia bone and hormonal profile in ovariectomised rats—animal model for menopause / [S.S. Zaid, S.A. Sulaiman, K.N. Sirajudeen, N.H. Othman] // *BMC Complement Altern. Med*. —2010. —№10. —P. 82.
152. Chrysin and its phosphate ester inhibit cell proliferation and induce apoptosis in Hela cells / T. Zhang, X. Chen, L. Qu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem*. —2004. —№12(23). —P. 6097–6105.
153. Zheng P.W. Apigenin induced apoptosis through p53-dependent pathway in human cervical carcinoma cells / P.W. Zheng, L.C. Chiang, C.C. Lin // *Life Sci*. —2005. —№76(12). —P. 1367–1379.

Надійшла до редакції 19.03.2013 р.