

Zastosowanie jadu pszczelego w kosmetologii

The use of bee venom in cosmetology

STRESZCZENIE

Jad pszczoły miodnej jest unikatową mieszaniną biologicznie aktywnych białek, enzymów oraz amin biogenych. Jest wykorzystywany w medycynie i farmacji, a od niedawna również w kosmetologii. Wywiera terapeutyczny wpływ w terapii trądziku, atopowego zapalenia skóry, łysienia i łuszczyca. Posiada również duży potencjał przeciwstarzeniowy, choć jego działania niepożądane, takie jak reakcja alergiczna czy wstrząs anafilaktyczny, budzą niepokój i ograniczają wykorzystanie.

W pracy przedstawiono analizę jadu pszczelego jako surowca kosmetycznego, ocenę jego bezpieczeństwa, wpływu na skórę, sposobu pozyskiwania i własności fizykochemicznych oraz zachowanie w formułacjach kosmetycznych.

Jad pszczeli, sposób jego pozyskiwania i zastosowanie w formułacjach kosmetycznych są dla przemysłu kosmetycznego interesującym zagadnieniem, ciągle wymagającym zgłębienia.

Słowa kluczowe: jad pszczeli, apitoksyna, surowce kosmetyczne, starzenie, trądzik, atopowe zapalenie skóry, łysienie, łuszczyca

ABSTRACT

Honey bee venom is a unique mixture of biologically active proteins, enzymes and biogenic amines. It is used in medicine and pharmacy, and recently also in cosmetology.

The study presents an analysis of bee venom as a cosmetic raw material, assesses its safety and effect on the skin, methods of obtaining it and its physico-chemical properties as well as its behavior in cosmetic solutions.

Bee venom has a therapeutic effect in the treatment of acne, atopic dermatitis, alopecia and psoriasis, it also has a great anti-aging potential. Possible side effects, such as an allergic reaction or anaphylactic shock, raise doubts and limit the use of bee venom. Further research is needed on its properties, the method of its acquisition, processing and application in cosmetic formulas.

Keywords: bee venom, apitoxin, cosmetic raw materials, aging, acne, atopic dermatitis, alopecia, psoriasis

WSTĘP

Badania datują obecność pszczół na Ziemi na wiele milionów lat, jednak na podstawie dostępnej literatury nie można tego dokładnie określić. Przez cały ten czas pszczoły zapylały i przyczyniały się do rozwoju bioróżnorodności na Ziemi. Pestycydy i chemikalia używane w rolnictwie, stosowanie antybiotyków, gigantyczne monokultury i zmniejszenie różnorodności roślin, a także zagrożenie chorobami przenoszonymi poprzez przemieszczanie się ludzi i towarów pomiędzy kontynentami – wszystko to stanowi zagrożenie dla pszczół. Nadmierna ingerencja człowieka w środowisko naturalne może doprowadzić do ich wyginięcia.

Większość owadów zapylających to pszczoły. Najbardziej popularnym gatunkiem jest udomowiona przez człowieka pszczoła miodna (*Apis mellifera*). Dostarcza ona wielu surowców cenionych w medycynie, farmacji i kosmetologii. Bezpośrednim wytworem organizmów pszczół robotnic jest jad pszczeli, mleczko oraz wosk, natomiast efektem ich pracy jest miód, propolis i pyłek pszczeli w postaci obnóży i pierzgi. Wszystkie te surowce mogą ponadto różnić się między sobą w zależności od źródła pozyskiwania nektaru, regionu geograficznego, sposobu przetwarzania, a nawet długości magazynowania.

SPOSÓB POZYSKIWANIA JADU PSZCZELEGO

Apitoksyna – jad pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) jest trującą wydzielaną przez pszczoły w celu obrony przed drapieżnikami. Po użądleniu człowieka pszczoła ginie, ponieważ nie jest w stanie wyciągnąć żądła z ludzkiej skóry, natomiast użądlenie innego owada nie powoduje u niej żadnej szkody. Zdolność żądlenia posiadają pszczoły robotnice oraz pszczela matka, trutnie nie mają żądał. Gruczoł jadowy wykształca się w trzecim tygodniu życia robotnicy, aby produkować jad musi ona odżywiać się pyłkiem, bez niego wytworzenie apitoksyny nie jest możliwe [1].

Jad wytwarzany jest przez gruczoł na końcu odwłoka, a jego wydzielanie odbywa się przy pomocy aparatu żądłowego, który składa się z tzw. sanek, dwóch sztyletów, trzech par chitynowych płytek oraz dwóch gruczołów jadowych – w jednym znajduje się bardzo kwaśna, a w drugim nieco zasadowa wydzielina. Podczas jednego ukladania pszczoła miodna wstrzykuje jedną międzynarodową jednostkę jadu pszczelego (około 0,01 mg płynnej apitoksyny, po wysuszeniu jest to 10 µg czystego jadu) [2]. Pszczele produkty są bardzo różnorodne i trudne do standaryzacji, również jad różni się w zależności od gatunku pszczoły, jej wieku, występowania na szerokości geograficznej czy czynników atmosferycznych. Najbardziej aktywny jest w czasie zbioru miodu przez pszczoły. Podczas jednego sezonu można uzyskać od pszczelej rodziny 1 g apitoksyny.

Już w czasach starożytnych stosowano apitoksynoterapię, a leczenie odbywało się w najprostszy sposób, czyli poprzez celowe wystawianie się na użądlenie. Aktualnie najpopularniejszą metodą pozyskiwania jadu pszczelego jest stymulacja elektryczna, która jest uznawana za bezpieczną dla pszczół. Na świecie produkcją jadu i rozwijaniem metody jego pozyskiwania zajmuje się niewielu wytwórców. W Polsce jedyną firmą o takim profilu działań jest BBH Biotech. O stopniu skomplikowania tej metody może świadczyć fakt, że stworzenie urządzenia, które ją wykorzystuje zajęło zespołowi firmy blisko trzy lata.

Urządzenie posiada standardowe rozmiary ramki wielkopolskiej, tak by można je było łatwo umieścić w ulu. Jest to szklana płytka w specjalnej obudowie, która emituje prąd o bardzo niskim natężeniu, niewyczuwalnym dla ludzi, ale delikatnie drażniącym pszczoły. Owady kłują płytkę pozostawiając na niej jad, który szybko zastyga, a potem jest z niej zeskrobywany. Pszczoła nie traci żądła, a po wyjęciu aparatu z ula, szybko wraca do zwykłej aktywności. Obserwacje pokazały, że taki sposób pobierania jadu nie wpływa na wydajność oraz zdrowie pszczół i nie zmniejsza ich przeżywalności w zimie. Płytkę instalowana jest w ulu czasowo, jad nie jest pobierany w sposób ciągły. Mimo wszystko jest to urządzenie stresogenne, choć w sposób umiarkowany, ponieważ zaobserwowano podwyższoną aktywność pszczół, kiedy znajduje się ono w ulu. W związku z tym jad zbiera się w momencie mniej intensywnych pożytków, tak

aby nie zaburzyć rytmu pracy roju. Uwzględniając również fakt, że pszczoła jest pozbawiona ochrony zanim wyprodukuje kolejną dawkę jadu, apitoksyna jest pozyskiwana z bardzo ograniczoną częstotliwością, zależną od rasy pszczół czy sposobu gospodarowania w pasiece.

SKŁAD I WŁAŚCIWOŚCI JADU PSZCZELEGO

Świeżo pozyskany jad pszczeli jest gęstą, przezroczystą cieczą o kwaśnym pH i składa się w 88% z wody i tylko ok. 0,1 µg suchego jadu [3]. Jego lotne składniki to estry: octan izoamyłowy, propionian izoamyłowy i maślan izoamyłowy. Natomiast suchy jad to głównie białka i peptydy, których jest około 80%. Niedawna analiza metodą chromatografii cieczowej przeprowadzona przez Matthiasa i współpracowników wykryła łącznie 102 białka i peptydy w jadzie pszczelim [4]. Białka stanowią najbardziej aktywne substancje występujące w apitoksynie, która jest złożoną mieszaniną związków, a badania dotyczące jej składu chemicznego wciąż trwają [1].

Melityna (*melittin*) jest głównym polipeptydem jadu pszczelego i to jemu apitoksyna zawdzięcza większość swoich właściwości. Stanowi 40-75% jego suchej masy i składa się z 26 reszt aminokwasowych. Wykazuje działanie biologiczne, farmakologiczne i toksyczne. Jest odpowiedzialna za rozkład i zabijanie komórek oraz ból po użądleniu [5]. Melityna jest odporna na środowisko kwaśne, a w zasadowym ulega denaturacji. Posiada zdolność obniżania napięcia powierzchniowego, tworząc pory w błonach komórkowych, które sprawiają, że membrana staje się bardziej przepuszczalna i mogą przez nią przenikać jony, a nawet tak duże cząsteczki jak glukoza. Ma to na celu utworzenie drogi wnikania innych toksycznych składników jadu. Melityna powoduje stan zapalny i zmniejsza krzepliwość krwi. Odpowiedzią organizmu na stan zapalny jest wydzielanie kortyzolu, kortyzonu i innych hormonów o działaniu przeciwzapalnym. Badania wykazały, że melityna w małych dawkach posiada działanie przeciwzapalne, a w dużych hamuje aktywność ośrodkowego układu, nerwowego, podwyższa ciśnienie i zaburza pracę serca. Posiada również właściwości przeciwbakteryjne i bakteriostatyczne, a w odróżnieniu do innych składników apitoksyny wykazuje również aktywność przeciwutleniającą [6].

Apamina (*apamin*) jest najmniejszą neurotoksyną. Stanowi 2-3% suchej masy jadu pszczelego i ma odczyn alkaliczny. Jest zbudowana z 18 reszt aminokwasowych i posiada dwa mostki disiarczkowe. Przenika barierą krew-mózg i działa pobudzająco na układ nerwowy. Apamina blokuje receptory alfa-adrenergiczne, cholinergiczne, purynergiczne i wpływa na przewodzenie potasu w błonach komórkowych. Peptyd ten wywiera pobudzający wpływ na podwzgórze i korę mózgową poprzez stymulowanie wydzielania norad-

renaliny, dopaminy i serotoniny. Badania wykazały, że podawany ogólnoustrojowo poprawia pamięć i ułatwia naukę [7]. Posiada również zdolność aktywizacji przysadki i nadnerczy, które produkują hormony o charakterze przeciwdziałającym, tj. kortyzol, kortyzon i adrenalinę.

MCD (*mast cell degranulating*) – peptyd degranulujący komórki tuczne lub peptyd 401, jest polipeptydem zbudowanym z 22 aminokwasów. Podobnie jak apamina posiada dwa mostki disiarczkowe i jest alkaliczny. Nazwę zawdzięcza zdolności degranulacji mastocytów i uwalnianiu histaminy. W większych dawkach wykazuje działanie przeciwnie, czyli może mieć wpływ antyalergiczny [8]. Właściwości przeciwzapalne peptydu MCD zostały wszechstronnie przebadane i uznany został za pierwszy związek niehormonalny o tak kompletnej dokumentacji.

Adolapina (*adolapin*) stanowi 2-6% suchej masy jadu pszczelego i jest polipeptydem zbudowanym ze 103 reszt aminokwasowych, co stanowi granicę między białkami a peptydami. Roztwór adolapiny posiada odczyn zasadowy o pH 9,0. Stanowi ona inhibitor cyklooksygenazy 2 i lipooksygenazy, enzymów odpowiedzialnych za stan zapalny, stąd peptyd ten wykazuje wyraźne działanie przeciwzapalne, o czym świadczy również jego zdolność do hamowania agregacji płytek krwi.

Hialuronidaza (*hyaluronidase*) jest enzymem odpowiedzialnym za rozkład kwasu hialuronowego i innych złożonych polisacharydów w tkankach. Ich zhydrolizowane fragmenty mają działanie prozapalne, proangiogenne oraz immunostymulujące i powodują szybsze ogólnoustrojowe wyniszczenie. Hialuronidaza stanowi 1-3% suchej masy jadu pszczelego i jest uznawana za silnie alergizującą. Jest obecna również w innych jadach i odpowiada za szybkie rozprzestrzenianie się toksyn. Nie jest substancją stabilną, a jej wytrzymałość spada jeszcze w miarę przechowywania. Najbardziej aktywna jest w środowisku lekko kwaśnym o pH 4-5.

Fosfolipaza A2 (PLA 2) – rozróżniamy fosfolipazy A1, A2, B, C i D, jednak najbardziej aktywna jest fosfolipaza A2, która jest pojedynczym łańcuchem polipeptydowym zawierającym 128 aminokwasów i cztery mostki disiarczkowe. Jest drugim po melitynie najliczniejszym związkiem jadu pszczelego, stanowi nawet 14% jego suchej masy i jest silnie alkaliczna. Stanowi najbardziej alergenny i immunogenny związek zawarty w apitoksynie. Działa synergistycznie z melityną tworząc z nią toksyczne kompleksy o właściwościach hemolitycznych. Hydrolizuje fosfolipidy błon komórkowych.

Lizofosfataza, fosfolipaza B (*phospholipase B*) – jest glikoproteiną i stanowi ok 1% suchej masy jadu. Powoduje rozszerzenie

nie izolektyny i łączy w sobie aktywność PLA1 i PLA2, wzmacnia aktywność PLA2. Najbardziej aktywna przy pH 7,0.

α -glukozydaza (*α -glucosidase*) jest nietoksycznym enzymem, którego rola w jadzie pszczelim nie została dobrze poznana, prawdopodobnie posiada właściwości alergizujące. Ma największą, w porównaniu z innymi składnikami jadu, cząsteczkę i podobnie jak lizofosfataza jest glikoproteiną. Najwyższą aktywność wykazuje przy pH 4,8 i jest wrażliwa na wysokie temperatury.

Kwaśna fosfataza (*acid phosphatase*) jest glikoproteiną, nietoksyczną i odporną na wysokie temperatury. Razem z α -glukozydazą jest odpowiedzialna za nadwrażliwość na jad pszczeli. Jej rola biologiczna w apitoksynie wymaga dalszych badań.

Oprócz polipeptydów i enzymów w jadzie pszczelim obecne są również aminy, takie jak np.: **histamina** i **katecholaminy** (noradrenalina i dopamina). Histamina zwiększa przepuszczalność naczyń włosowatych i bierze udział w odpowiedzi zapalnej, a katecholaminy poprawiają dystrybucję toksyny zwiększając bicie serca. Wykryto w tej substancji także obecność inhibitorów proteaz, inhibitor I i II. Ich rola biologiczna w apitoksynie polega na hamowaniu aktywności enzymów proteolitycznych i ochronie białkowych kompleksów jadu. Posiadają one właściwości przeciwzapalne i są nietoksyczne, mogą jednak wykazywać niewielką aktywność anafilaktyczną. Innymi substancjami obecnymi w jadzie są **aminokwasy** w postaci związanej i niezwiązanej. Jest ich łącznie 16, a najliczniej występuje arginina, lizyna, histydyna, metionina i kwas glutaminowy. Jeśli chodzi o **kwasy tłuszczowe**, to największą procentową zawartość w jadzie pszczelim stanowią kwasy: behenowy, oleinowy, stearynowy, linoleinowy i palmitynowy. Z apitoksyny wyodrębniono również śladowe ilości **cukrów** oraz **składników mineralnych**. **Substancje lotne** wchodzące w jej skład to octan izoamylowy, propionian izoamylowy i maślan izoamylowy.

ALERGIA NA JAD PSZCZELI

Głównymi alergenami jadu pszczelego są fosfolipaza A2, hialuronidaza i melityna. Enzymy te mogą wyzwać odpowiedź immunologiczną z udziałem IgE u osób podatnych. Użądlenie przez pszczołę może wywołać normalną reakcję, czyli rumień, obrzęk i ból. Może też być przyczyną nadmiernej reakcji miejscowej, kiedy obrzęk trwa powyżej 24 godzin oraz przyjąć postać ciężkiego wstrząsu anafilaktycznego, obejmującego objawy ze strony układu oddechowego, pokarmowego, krążeniowego i nerwowego i prowadzić nawet do śmierci.

Jest to zależne od liczby użądleń, miejsca (szczególnie niebezpieczne jest użądlenie w szyję i oko) oraz wrażliwości osobniczej. Większą wrażliwość wykazują kobie-

ty, szczególnie ciężarne, dzieci i osoby starsze. Natomiast pszczelarze, jako osoby szczególnie narażone na użądlenia, wytwarzają często swoistą odporność i mogą znieść znacznie większą dawkę apitoksyny w porównaniu do normalnego człowieka. Norma dla zdrowej osoby to 5-10 użądleń, ale znane są przypadki pszczelarzy o długim stażu, którzy wytrzymują nawet do tysiąca użądleń. Jednocześnie, jak podaje Ewam, to właśnie pszczelarze, a także ich rodziny, czy sąsiedzi są najczęściej uczuleni na jad pszczeli, ponieważ ryzyko alergii wzrasta wraz z częstotliwością użądleń [9]. Na apitoksynę niewrażliwe są żółwie, żmije, czaple, żaby, jeże i niedźwiedzie.

ZASTOSOWANIE JADU PSZCZELEGO W FARMACJI I MEDYCYNIE

Apiterapię, czyli uzdrawianie za pośrednictwem pszczelich produktów praktykowano już 6000 lat temu w starożytnym Egipcie, znana była również Grekom i Rzymianom. Odniesienia do leczenia z użyciem pszczelich produktów znajdujemy u Hipokratesa (460-370 p.n.e.), Arystotelesa (384-332 p.n.e.) oraz Galena (130-200 n.e.) [10].

W Polsce za prekursora apiterapii uznaje się Józefa Matuszewskiego, lekarza medycyny i zapalonego pszczelarza, przez wiele lat związanego z uzdrowiskiem w Polanicy, propagatora zalet mleczka pszczelego i pioniera badań nad jego pozyskiwaniem w naszym kraju. Duże zasługi w tej dziedzinie posiada również prof. Bogdan Kędzia specjalista produktów zielarskich oraz apiterapii, zajmujący się mikrobiologią leku roślinnego.

Coraz więcej badań potwierdza skuteczność pszczelich produktów w przypadku wielu chorób, jednak wątpliwe jest, aby apiterapia trafiła do medycyny konwencjonalnej. Jest to związane z faktem, że produkty pszczele są bardzo zróżnicowane, a ich działanie uzależnione od wielu czynników, jak chociażby gatunek pszczoły, kraj pochodzenia, pora roku, a nawet pogoda czy długość przechowywania. Unikatowość i niepowtarzalność tych surowców sprawia, że trudno jest je standaryzować. Niemniej bardzo często produkty naturalne stanowią inspirację dla naukowców, a ich poszczególne wyizolowane i oczyszczone składniki, wykazują ciekawe właściwości terapeutyczne i mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób.

Ma to miejsce w przypadku melityny, głównego białka jadu pszczelego, któremu apitoksyna zawdzięcza większość właściwości. Melitynę można wyizolować z jadu pszczelego, możliwa jest też jej produkcja syntetyczna, a także chemiczne modyfikacje i łączenie z innymi składnikami.

Najlepiej udokumentowane jest stosowanie apitoksyny/melityny w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS), a sam pomysł takiej terapii zrodził się z obserwacji, że pszczelarze bardzo rzadko cierpią na choroby stawów. Zatwierdzony przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA –

Food and Drug Administration) lek do wstrzykiwań na bazie jadu pszczelego Apitox podaje się w celu złagodzenia bólu i obrzęku związanego z RZS, ale również przy zapaleniu ścięgien, kaletki stawowej oraz stwardnieniu rozsianym.

Badania wskazują również, że melityna działa toksycznie na komórki nowotworowe i jest szczególnie skuteczna w przypadku raka płuc, ale również nerki, wątroby, prostaty, piersi i białaczki. Ponieważ jednak nie posiada wyraźnej specyficzności wobec komórek nowotworowych, czy sta apitokasyna nie znajduje zastosowania w leczeniu raka. Jak jednak sugerują autorzy opublikowanej w 2020 roku w czasopiśmie *Toxins analizy Apitoxin and Its Components against Cancer, Neurodegeneration and Rheumatoid Arthritis: Limitations and Possibilities* – „Chemiczne modyfikacje melityny i podejścia biotechnologiczne obejmujące nośniki nanocząstek mogą stanowić sposób na przezwycięzenie pewnych ograniczeń melityny, wykorzystując potencjalne działanie przeciwnowotworowe tego peptydu” [11].

Innym ważnym składnikiem apitoksyny, który można wyizolować i podawać w celach leczniczych jest apamina, neuropeptyd który poprzez blokadę odpowiednich receptorów wpływa na przewodzenie potasu w błonach komórkowych. Najnowszy przegląd *Therapeutic Effects of Apamin as a Bee Venom Component for Non-Neoplastic Diseases* z 2020 roku analizuje skuteczność apaminy w miażdżycy tętnic, migotaniu komór, zwłóknieniu wątroby oraz zapaleniu trzustki i atopowym zapaleniu skóry [12]. Zakłada się, że zdolność apaminy do selektywnego blokowania kanałów potasowych SK, wpływa pozytywnie na proces uczenia się i zapamiętywania. Peptyd ten poprzez działanie neuroprotektoryjne może być wykorzystywany do zapobiegania i leczenia schorzeń neurodegradacyjnych, takich jak choroba Parkinsona, choroba Alzheimera oraz stwardnienie zanikowe boczne.

ZASTOSOWANIE JADU PSZCZELEGO W DERMATOLOGII I KOSMETOLOGII

Unikalny skład chemiczny apitoksyny zapewnia jej szereg właściwości biologicznych. Enzymy (hialuronidaza, fosfolipaza A2, fosfatazy) rozkładają struktury kwasu hialuronowego oraz innych złożonych polisacharydów tkanki łącznej i zapewniają przenikanie jadu do komórek. Peptydy (melityna, apamina, MCD i inne) warunkują działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe, ponadto zwiększają przepuszczalność naczyń włosowatych, wpływają na ośrodkowy układ nerwowy i obniżają ciśnienie krwi. Aminy są odpowiedzialne za interakcje pomiędzy komórkami. Pobudzają i hamują układ nerwowy, rozszerzają naczynia i zwiększają ich przepuszczalność. Wszystkie te właściwości sprawiają, że apitoksyna stanowi naturalną alternatywę niektórych leków i jest wykorzystywana w farmacji i medycynie, a od niedawna znajduje również zastosowanie w leczeniu i pielęgnacji skóry. Nie wszystkie jej właściwości zostały do końca zbadane, jednak

naukowcy potwierdzają terapeutyczny wpływ jadu pszczelego w leczeniu trądziku, łysienia, łuszczycy, twardziny i atopowego zapalenia skóry. Zaobserwowano również pozytywne działanie apitoksyny w redukcji zmarszczek, przebarwień i cofaniu efektów fotostarzenia. Substancja ta przyspiesza gojenie się ran i może być wykorzystywana w leczeniu czerniaka skóry. W formie emolientu aplikowanego na skórę nie jest fototoksyczna ani fotouczulająca [13], stosowana miejscowo nie wywiera wpływu alergizującego [14].

Trądzik (*acne*) jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry, najczęściej diagnozowaną dermatozą u osób pomiędzy 11. a 30. rokiem życia. Coraz częściej pojawia się również u osób dorosłych, szczególnie kobiet w wieku rozrodczym i jest różnicowany od trądziku nastoletniego jako *acne tarda*. Jest to przewlekły stan zapalny w obrębie mieszków włosowego, zwykle atakujący obszary o dużym nagromadzeniu reaktywnych hormonalnie gruczołów łojowych. Powoduje szereg zaburzeń w obrębie jednostki włosowo-łojowej, kolonizację bakteryjną, zaburzenie immunologiczne i hormonalne. Przyczyny trądziku nie są do końca znane. Uważa się, że jest w dużej mierze uwarunkowany genetycznie [15].

Głównym czynnikiem wywołującym stany zapalne w trądziku są bakterie *Cutibacterium acnes* (wcześniej, przed rewizją taksonomiczną Scholza i Kiliana z 2016 – *Propionibacterium acnes*) [16]. Należą do naturalnej mikrobioty skóry, jednak ich przerost, jest kluczowy dla powstawania trądziku. Jedną z opcji leczenia *acne* jest stosowanie antybiotyków, zarówno miejscowo, jak i ogólnoustrojowo. Jednak ich nadużywanie wiąże się z wytworzeniem opornych szczepów bakterii i dlatego poszukiwane są naturalne alternatywy, obciążone mniejszym ryzykiem skutków ubocznych [17].

Istnieje wiele badań potwierdzających skuteczność apitoksyny w leczeniu trądziku pospolitego. Szczególnie cenne są jego właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne. Zostały one potwierdzone w badaniach *in vitro* i *in vivo*, na modelu zwierzęcym oraz w testach klinicznych [18, 19]. Analiza Hana i jego zespołu wykazała, że średni stopień poprawy u badanych ochotników po 6 tygodniach stosowania apitoksyny wyniósł 52,3%, a po kolejnych sześciu, 77%. Nie zaobserwowano żadnych skutków ubocznych terapii. Badania wykazują, że apitoksyna może zastępować antybiotyki w leczeniu trądziku, gdyż posiada podobną do nich skuteczność i jest pozbawiona działań niepożądanych [20].

Łysienie androgenowe (*alopecia androgenica*) dotyka dużego odsetka mężczyzn, ale jest też coraz częściej obserwowane u kobiet, dla których utrata włosów, uważanych za największy atrybut kobiecości, stanowi bardzo poważne obciążenie. Wypadanie włosów dotyczy aktywnych hormonalnie mieszków i wiąże się z ich postępującą i nieodwracalną degradacją. Wśród przyczyn podaje się nadmierną aktywność

enzymu 5 α – reduktazy, który przekształca testosteron do 5 α -dihydrotestosteronu (DHT). Ten z kolei ma większe powinowactwo do receptorów androgenowych niż sam testosteron i poprzez stymulowanie ekspresji odpowiednich genów prowadzi do aromatyzacji mieszków włosowego. Jest to w dużym stopniu uwarunkowane genetycznie, ale ostatnio przyjmuje się również stanowisko o coraz większym wpływie stresu na ten proces. Niedawne badania wykazują, że wypadaniu włosów towarzyszy również stan zapalny, a ich wyniki pokazują, że 74,1% pacjentów ze zdiagnozowanym łysieniem ma zaburzenia zapalne, takie jak atopowe zapalenie skóry AZS, łojotokowe zapalenie skóry ŁZS i kontaktowe zapalenie skóry. Choroby psychiczne związane z utratą włosów stanowią aż 25,5% przypadków [21].

Badania *in vitro* i *in vivo* [22] wykazały duży potencjał apitoksyny również w leczeniu łysienia androgenowego. Zaobserwowano, że obniża ona poziom 5- α -reduktazy, zwiększając czynnik wzrostu keratynocytów. Stymuluje proliferację komórek brodawki włosowej i hamuje przejście włosa do fazy katagenu oraz jego wypadanie. Stosowany aktualnie do leczenia finasteryd i dutasteryd, wykazują szereg działań niepożądanych, w tym zaburzenia seksualne, depresję i ginekomastię u mężczyzn. Środki do stosowania miejscowego oparte o minoksidil wysuszają i podrażniają skórę głowy. Jad pszczeli stanowi obiecującą alternatywę dla tych substancji, wykazuje wysoką skuteczność i jak dotąd nie stwierdzono skutków ubocznych jego stosowania [23].

Atopowe zapalenie skóry AZS (*atopic dermatitis*) jest przewlekłą zapalną chorobą skóry związaną z nieprawidłowym funkcjonowaniem bariery skórnej. Jej objawy to silna kseroza, wyprysk oraz świąd, które mają podłoże w nieprawidłowej odpowiedzi immunologicznej zależnej od czynnika IgE. Na atopowe zapalenie skóry cierpi około 1-2% dorosłych i 20% dzieci, a w ostatnich latach zachorowalność wciąż wzrasta [24].

Istnieje szereg doniesień potwierdzających korzystny wpływ apitoksyny w terapii AZS. Badania na modelu zwierzęcym oraz ludzkich keratynocytach wykazały, że jad pszczeli hamuje zapalne cytokiny przez zmniejszenie wydzielania IgE oraz tłumi naciek eozynofili i komórek tucznych do zmian. Badania kliniczne You z zespołem, dotyczące zastosowania emolientu na bazie jadu pszczelego, ujawniły znaczące zmniejszenie egzemy w grupie aplikującej emolient z jadem pszczelim, w porównaniu do grupy stosującej sam emolient [25, 26].

Tradycyjne leczenie atopowego zapalenia skóry polega na stosowaniu środków antyhistaminowych, steroidowych, niesteroidowych leków przeciwzapalnych NLPZ oraz leków immunosupresyjnych i wiąże się z działaniami niepożądanymi w postaci nefro- i neurotoksyczności. Apitoksyna, jako naturalny środek o działaniu immunomodulującym jest skuteczna i pozbawiona tych obciążeń.

Łuszczyca (*psoriasis*) jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry o podłożu autoimmunologicznym. Charakteryzuje się występowaniem rumieniowych zmian pokrytych srebrzystą łuską. Aktualne terapie jedynie tłumią jej objawy. Dużą nadzieję wiąże się z jadem pszczelim, ponieważ w kilku badaniach wykazano jego wysoką skuteczność. Hogazi wraz z zespołem, zaobserwował znaczne złagodzenie zmian po śródskórnym podaniu apitoksyny. Potwierdziło to również badanie surowicy krwi, w których poziom interleukiny 1 β spadł z 289,5 do 29,2 [27]. Jad pszczeli okazał się również wyjątkowo skuteczny w przypadku odpornej na leczenie łuszczycy plackowatej (jest to odmiana zajmująca poniżej 10% skóry). Wyniki badania Eltahera i innych wykazały całkowite wyleczenie aż u 92% badanych. Apitoksyna wydaje się skuteczną i bezpieczną terapią również w leczeniu łuszczycy [28].

Aktywność terapeutyczna jadu pszczelego w procesie **gojenia się ran** wydaje się wyjątkowo cenna z punktu widzenia dermatologii i kosmetologii i może być pomocna w leczeniu wielu chorób skóry oraz zapobieganiu bliznom o różnym podłożu, w tym np. bliznom potrądzikowym. Badania na myszach przeprowadzone przez Hana i innych, wykazały, że jad indukował niezwykle postępowanie w gojeniu się ran, poprzez zmniejszenie aktywności cytokin zapalnych oraz zwiększoną syntezę kolagenu typu I [29]. Natomiast Hazzein i inni ujawnili znaczne przyspieszenie procesu gojenia wyjątkowo trudnych w leczeniu ran cukrzycowych [30].

Kolejną cenną właściwością dla dziedzin zajmujących się skórą jest aktywność jaką posiada apitoksyna **przeciw bakteriom, grzybom i wirusom**. Udowodniono jej toksyczny wpływ na: patogeny trądziku, bakterie *Propionibacterium acnes* i *P. acnes* odporny na klindamycynę, *Staphylococcus epidermidis* i *Streptococcus pyogenes*, a także szczepy gronkowca wywołujące liszajec, paronychię i gronkowcowe zapalenia skóry *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus aureus* odporny na metycylinę [31].

Potwierdzono skuteczność jadu pszczelego przeciwko grzybom oportunistycznym *Candida albicans* odpowiedzialnym za różnego rodzaju kandydozy, a także *Malassezia furfur* wywołującym łojotokowe zapalenie skóry i łupież oraz dermatofitom będących główną przyczyną grzybic *Trichophyton mentagrophytes* i *Trichophyton rubrum*. Apitoksyna destabilizowała również strukturę cząsteczki wirusa opryszczki pospolitej HSV, tłumiąc jego zakaźność.

W ostatnich latach rozpoczęto stosowanie jadu pszczelego również w terapiach przeciw **starzeniu się skóry**. Nie ma jeszcze wielu badań na ten temat i sam mechanizm terapeutyczny w tym przypadku nie został poznany, ale na podstawie istniejących publikacji ustalono, że jad stosowany miejscowo posiada działanie przeciwstarzeniowe, przeciw przebarwieniom i fotoprotekcyjne, hamuje fotostarzenie oraz może wywierać wpływ miorelaksacyjny na zmarszczki mimiczne [32].

W 2015 roku zostały opublikowane wyniki badania klinicznego przeprowadzonego przez Hana i zespół, na temat wpływu serum z jadem pszczelim na zmarszczki u ludzi. W badaniu wzięły udział 22 zdrowe kobiety z Korei Południowej w wieku od 30 do 49 lat. Wszystkie posiadały zmarszczki okołoooczodołowe, potwierdzone badaniem dermatologicznym. W badaniu użyto serum z jadem pszczelim o stężeniu 0,006%, które ochotniczki nakładały w ilości 4 ml na całą twarz przez okres 12 tygodni. Wykonano zdjęcia twarzy i repliki kurzych łapek przed i po zakończeniu testów, następnie zanalizowano je przy pomocy urządzenia Visioline. Zarówno analiza urządzeniem, jak i samooceńna uczestniczek, wykazały znaczącą redukcję w całkowitej powierzchni zmarszczek, całkowitej liczbie zmarszczek i średniej głębokości zmarszczek [32].

Było to pierwsze i jak dotąd jedyne tego typu studium. Nie przedstawiono mechanizmów działania apitoksyny na skórę, jednak przyjmuje się, że wpływ terapeutyczny, przeciw starzeniu się skóry, jad pszczeli zawdzięcza właściwościom przeciwzapalnym. Ponadto apitoksyna zwiększa przepływ krwi, dzięki poprawie ukrwienia tkanek zwiększa się synteza włókien kolagenowych. Jad przyspiesza również gojenie się ran promując tworzenie nowego kolagenu. Badania ludzkich fibroblastów udowodniły, że apitoksyna znacznie obniża ilość indukowanych promieniowaniem UV metaloproteinaz macierzy (MMP) oraz hamuje aktywność elastazy, przyspiesza także procesy odnowy napromieniowanej skóry. Sugeruje to, że apitoksyna jest środkiem fotoochronnym i może być stosowana w profilaktyce fotostarzenia [33]. Jad pszczeli zmniejsza również syntezę melaniny poprzez hamowanie aktywności tyrozynazy [34] i może wywierać korzystny wpływ na redukcję przebarwień. Należy także rozważyć potencjalny miorelaksacyjny wpływ apitoksyny na mięśnie wyrazowe twarzy i związane z nimi zmarszczki mimiczne [32].

W 2014 roku grupa polskich naukowców przeprowadziła randomizowane badanie z podwójną ślepą próbą nad miorelaksacyjnym wpływem jadu pszczelego w przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). Wzięło w nim udział 79 pacjentów z bolesnym RZS, przy czym głównym kryterium kwalifikującym do badania były zaburzenia w stawie skroniowo-żuchwowym. Grupie kontrolnej została podana maść na wazelinowym podłożu z 0,0005% stężeniem jadu pszczelego, a grupie placebo tylko wazelina. Badani stosowali je na skórę, łącznie z masażem, w okolicach mięśnia żwacza po obu stronach twarzy przez 2 tygodnie. W czasie wizyt kontrolnych oceniano przy pomocy elektrod napięcie mięśni w stanie spoczynku oraz maksymalnego skurczu. Wyniki potwierdziły zmniejszenie napięcia mięśni pod wpływem masażu mięśni żwaczy, ale skuteczność terapii była znacznie wyższa w grupie stosującej jad pszczeli [2]. Napięcie mięśniowe może być regulowane też przez samą melitynę, która indukuje dwufazowe zmiany w mięśniach brodawkowatych szczurów powodując

najpierw wzrost siły skurczu przez około 15 minut, a potem jego hamowanie na 30-45 minut [35].

Zdaniem autorów wyniki tych badań pozwalają zakładać, że apitoksyna będzie wywierała miorelaksacyjny wpływ również na inne mięśnie twarzy, np. okrężny oka i podobnie jak toksyna botulinowa, może okazać się przydatna do likwidowania zmarszczek mimicznych. Dalsze badania pozwolą lepiej poznać potencjał przeciwstarzeniowy tej substancji.

APITOKSYNA JAKO SUROWIC KOSMETYCZNY

Jad pszczeleli jako substancja naturalna, złożona i o wysokiej zawartości białek jest stosunkowo trudny do przetwarzania i standaryzacji. W procesie technologicznym należy uwzględnić, jak białka jadu pszczelego zachowują się w wodzie, roztworach alkoholi polihydroksylowych (np. glicerolu) czy buforach. Chemiczna obróbka mieszanin białek i peptydów może łatwo doprowadzić do obniżenia ich aktywności. Preparacja tak unikatowej i delikatnej substancji wymaga dużej ostrożności. Należy dokładnie zanalizować, jak różne związki, czy procesy chemiczne wpłyną na jej poszczególne frakcje i dołożyć starań, by zachowała jak najwięcej ze swoich cennych właściwości. Dotyczy to procesu obróbki surowca, ale należy ten fakt uwzględnić również podczas projektowania kosmetyku z zawartością jadu pszczelego.

W analizie polskich naukowców opublikowanej w czasopiśmie *Molecules* w styczniu 2020 można znaleźć opis metody przetwarzania apitoksyny do produkcji leków i kosmetyków [23]. Polega ona na wstępnym oczyszczeniu, rozpuszczeniu w wodzie, wirowaniu oraz poddaniu liofilizacji i schłodzeniu. Tak powstały proszek może być dodany do formułacji stosowanych miejscowo. Zarejestrowany do sprzedaży jest również roztwór jadu pszczelego w kwaśnym buforze fosforanowym z substancją konserwującą [36].

Zanieczyszczenie jadu jest związane z obecnością pyłku, propolisu, wosku oraz ewentualnie innych produktów pszczelich. Zawartość zanieczyszczeń może być różna, np. obecność wosku jest wyższa wiosną i wczesnym latem, a propolisu późnym latem. Zanieczyszczenie pyłkiem jest uzależnione od pory dnia i tego, czy pszczoła dopiero wylatuje z ula, czy wraca z obciążenymi koszykami. Ponadto w ulu mogą być zamontowane poławiacze pyłku, czyli urządzenia służące do pozyskiwania tego surowca. Kiedy pszczoła przechodzi przez poławiacz zostawia w nim pyłek i znacznie zmniejsza jego obecność w jadzie [37].

Pyłek, wosk i propolis znajdują również zastosowanie w kosmetologii. Zazwyczaj przy prawidłowym zoptymalizowaniu procesu pozyskiwania jadu zawartość wosku i propolisu jest znikoma. Jednocześnie oba te zanieczyszczenia nie wpływają negatywnie na działanie i właściwości aplikacyjne kosmetyku. Największy problem stanowi obecność w jadzie cukrów pochodzących z nektaru. Zdarza się, że

konkretna partia jadu może składać się nawet w 2/3 z nektaru. Substancja przybiera wówczas szarą, mazistą postać. Tak duża zawartość cukrów jest dyskwalifikująca dla danej partii [37].

Czystość jadu jest uzależniona od wielu czynników, chociażby skąd jest pozyskiwany i o jakiej porze, w jakich warunkach meteorologicznych, bardzo ważny jest też sposób gospodarowania pasieką. Ponieważ oczyszczanie niesie za sobą ryzyko zmniejszenia bądź utraty właściwości apitoksyny, niezwykle istotna jest optymalizacja procesu pozyskiwania. Pozwala ona otrzymać substancję o bardzo wysokiej czystości już na samym jego początku, bezpośrednio od pszczoł. Taki surowiec nie wymaga wówczas większej ingerencji. Ponadto, co jest charakterystyczne dla produktów naturalnych, do każdej partii należy podchodzić osobno i nie ma jednej obligatoryjnej procedury, każdą transzę należy poddać dokładnej obserwacji. Otrzymywany w ten sposób półprodukt ma postać białego lub żółtawego proszku o charakterystycznym świeżym zapachu i pH kwaśnym lub zbliżonym do neutralnego. Przed wprowadzeniem do receptury kosmetycznej wymaga zdyspergowania. Rozpuszcza się w wodzie i glikolach [37].

Technologia dokładnego i gruntownego oczyszczania jest droga i czasochłonna, niesie też ryzyko obniżenia aktywności białek i peptydów apitoksyny. Wykorzystywana jest głównie w przypadku surowca stosowanego w celach medycznych, gdzie roztwór musi posiadać zawsze te same właściwości i podlega standaryzacji [11].

Jad pszczeleli może wywołać podrażnienie, a nawet ostrą reakcję anafilaktyczną. Metoda QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*), stosowana w ramach unijnego projektu badawczego CAESAR, ocenia tzw. punkty końcowej toksyczności substancji. Jednym z nich jest wpływ uczulający na skórę, za który uznaje się wywołanie reakcji alergicznej przez substancję stosowaną miejscowo. Ocena alergizującego wpływu na skórę jest niezbędna przed wprowadzeniem na rynek każdej nowej substancji. Han i współpracownicy przeprowadzili badanie na świnkach morskich, które wykazało, że plaster z roztworem jadu pszczelego aplikowany na skórę nie wywołał żadnych działań niepożądanych u zwierząt. Średni wynik reakcji wyniósł 0%. Nie zaobserwowano również utraty masy ciała, ani większej śmiertelności u zwierząt [14].

Aby ustalić poszerzony profil bezpieczeństwa apitoksyny stosowanej na skórę, ten sam zespół naukowców dokonał oceny fototoksyczności i fotowrażliwości na jad pszczeleli. Pojęcie fotowrażliwości opisuje niepożądane reakcje fototoksyczne farmaceutyków, pigmentów i dodatków do żywności w kontakcie z promieniowaniem ultrafioletowym UV. Badanie na modelu zwierzęcym ujawniło, że apitoksyna nie wywiera wpływu fototoksycznego i fotouczulającego oraz może być składnikiem preparatów do stosowania miejscowego [38].

Istnieje również możliwość, że za podrażnienie może być odpowiedzialne zanieczyszczenie surowca przez pyłek pszczeli, który jest najbardziej alergizującym produktem pochodzenia pszczelego oraz propolis, choć w tym wypadku taka możliwość jest minimalna i rzadko obserwuje się alergię na propolis [39].

Najsilniejszym alergenem jadu pszczelego jest fosfolipaza A2 (PLA2). Grupie naukowców pod kierownictwem Hyunkyouna udało się usunąć fosfolipazę A2 z jadu pszczelego przy pomocy ultrafiltracji. Uzyskana w ten sposób substancja zachowała wszystkie właściwości apitoksyny. Jest możliwa jej produkcja masowa, co stanowi alternatywę dla osób o bardzo wrażliwej skórze, czy obawiających się alergizującego działania jadu [40].

Problem obecności drażniącej fosfolipazy A2 i hialuronidazy był również przedmiotem badań komercyjnych, bazujących na odmiennych założeniach. W badaniach tych skoncentrowano się na odpowiednim dopasowaniu receptury produkcji kosmetyku z jadem pszczelim tak, aby warunki panujące w masie kosmetyku, tylko nieznacznie negatywnie wpływały na pożądane substancje aktywne, natomiast były wysoce niesprzyjające dla białek alergicznych. Przykładem takiego kosmetyku jest serum z jadem pszczelim powstałe w ramach wspólnego projektu firm BBH Biotech i Symbiosis. Warto również dodać, że kosmetyk ten posiada bardzo wysoką zawartość apitoksyny, bo aż 0,1%. Dla porównania, w pracy studium Hana i zespołu apitoksyna była użyta w dawce 0,006% [32]. Pomimo tak znaczącego zwiększenia stężenia jadu pszczelego nie zauważono w testach dermatologicznych żadnych reakcji alergicznych lub podrażnień, co pokrywa się z wnioskami z badań Hana i współpracowników.

PODSUMOWANIE

Jad pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) posiada liczne, cenne dla przemysłu kosmetycznego właściwości. Wykazuje działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i immunomodulujące. Poprawia ukrwienie skóry i jej odżywienie, promuje syntezę nowego kolagenu, działa fotoprotekcyjnie, hamuje elastazę i obniża poziom metaloproteinaz macierzy, rozjaśnia przebarwienia. Znajduje zastosowanie w terapii trądziku, atopowego zapalenia skóry, łuszczycy i łysienia, wykazuje również potencjał przeciwstarzeniowy.

Jego właściwości miorelaksacyjne wymagają dalszych analiz, ale wydają się być obiecujące.

Posiada zbadany profil bezpieczeństwa, stosowany miejscowo nie powoduje alergii i może być używany w preparatach kosmetycznych. Jest jednak surowcem złożonym, delikatnym i wrażliwym na obróbkę. Należy to uwzględnić zarówno na etapie produkcji surowca, ale także podczas projektowania formuły kosmetycznej z jego zawartością.

Kwestią sporną pozostaje humanitarność pozyskiwania surowca. Z obserwacji autorów wynika, że udoskonalana

metoda elektrostymulacji, nie jest szkodliwa dla pszczół, jednak trwają prace nad syntetycznym odpowiednikiem apitoksyny. Większość swoich właściwości jad pszczeli zawdzięcza obecności melityny, którą można sztucznie otrzymać, jednak proces technologiczny jest tak drogi i skomplikowany, że nie nadaje się do wdrożenia w produkcji masowej. Apitoksyna pozyskiwana metodą elektrostymulacji jest surowcem stosunkowo drogim, jednak dotychczas i tak najbardziej ekonomicznym. Warto zatem udoskonalać naturalne metody jej otrzymywania. Niezbędne są dalsze badania nad właściwościami jadu pszczelego, sposobem jego pozyskiwania i przetwarzania oraz zastosowania w recepturach kosmetycznych.

PODZIĘKOWANIE

Niniejsze opracowanie jest dostosowaną do celów publikacji częścią pracy dyplomowej napisanej pod kierunkiem dr Krystyny Janowicz w WSZUiE w Poznaniu na wydziale kosmetologii. Autorka dziękuje promotorowi dr Krystynie Janowicz za pomoc, wsparcie i życzliwość oraz firmie BBH Biotech Mateuszowi Hope, a szczególnie Leszkowi Broniarkowi za możliwość przeprowadzenia badań, nieustające inspiracje i wielogodzinne twórcze dyskusje.

LITERATURA / REFERENCES

1. Tichonowa AI, Bednarczuk LI, Tichonowa SA, et al. *Jad pszczeli w farmacji i medycynie. Teoria, technologia, zastosowanie lecznicze*. Kraków: Apipol-Farma; 2011:7-68.
2. Nitecka-Buchta A, Buchta P, Tabeńska-Bosakowska E, et al. Myorelaxant effect of bee venom topical skin application in patients with RDC/TMD Ia and RDC/TMD Ib: a randomized, double blinded study. *Biomed Res Int*. 2014;96053. doi:10.1155/2014/296053. Accessed 10.11.2020.
3. Wehbe R, Frangieh J, Rima M, et al. Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests. *Molecules*. 2019;24(16):2997. doi:10.3390/molecules24162997. Accessed 10.11.2020.
4. Hossen S, Shapla UM, Gan SH, et al. Impact of Bee Venom Enzymes on Diseases and Immune Responses. *Molecules*. 2016;22(1):25. doi:10.3390/molecules22010025. Accessed 10.11.2020.
5. Chen J, Guan S, Sun W, et al. Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. *Neuroscience Bulletin*. 2016;32(3):265-272. doi:10.1007/s12264-016-0024-y. Accessed 10.11.2020.
6. Matysiak J, Matysiak J, Kokot ZJ. Właściwości farmakologiczne jadu pszczelego. *Nowiny Lekarskie*. 2008;77(6):453-458. Accessed 10.11.2020.
7. Moreno M, Giralt E. Three Valuable Peptides from Bee and Wasp Venoms for Therapeutic and Biotechnological Use: Melittin, Apamin and Mastoparan. *Toxins*. 2015;7(4):1126-1150. doi:10.3390/toxins7041126. Accessed 10.11.2020.
8. Pucca MB, Cerni FA, Oliveira IS, et al. Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. *Front Immunol*. 2019;10:2090. doi:10.3389/fimmu.2019.02090. Accessed 10.11.2020.
9. Ewan PW. Venom allergy. *BMJ*. 1998;316(7141):1365-1368. doi:10.1136/bmj.316.7141.1365. Accessed 10.11.2020.
10. Hellner M, Winter D, von Georgi R, Münstedt K. Apitherapy: Usage And Experience In German Beekeepers. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2008;5(4):475-479. doi:10.1093/ecam/nem052. Accessed 10.11.2020.
11. Aufschneider A, Kohler V, Khalifa S, et al. Apitoxin and Its Components against Cancer, Neurodegeneration and Rheumatoid Arthritis: Limitations and Possibilities. *Toxins*. 2020;12(2):66. doi:10.3390/toxins12020066. Accessed 10.11.2020.
12. Gu H, Han SM, Park KK. Therapeutic Effects of Apamin as a Bee Venom Component for Non-Neoplastic Disease. *Toxins*. 2020;12(3):195. doi:10.3390/toxins12030195. Accessed 10.11.2020.
13. Han SM, Hong IP, Woo SO, et al. Evaluation of the skin phototoxicity and photosensitivity of honeybee venom. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2017;16(4):e68-e75. doi:10.1111/jocd.12350. Accessed 10.11.2020.

14. Han SM, Lee GG, Park KK. Skin Sensitization Study of Bee Venom (*Apis mellifera* L.) in Guinea Pigs. *Toxicol Res.* 2012;28(1):1-4. doi:10.5487/TR.2012.28.1.001. Accessed 10.11.2020.
15. Bergler-Czop B. Trądzik pospólny – nowe spojrzenie na etiologię schorzenia, najnowsze strategie postępowania. *Dermatologia po Dyplomie.* 2013;4(6):39-49. Accessed 10.11.2020.
16. Scholz ChFP, Kilian M. The natural history of cutaneous propionibacteria, and reclassification of selected species within the genus *Propionibacterium* to the proposed novel genera *Acidipropionibacterium* gen. nov., *Cutibacterium* gen. nov. and *Pseudopropionibacterium* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2016;66(11):4422-4432. doi:10.1099/ijsem.0.001367. Accessed 10.11.2020.
17. An HJ, Lee WR, Kim KH, et al. Inhibitory effects of bee venom on *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory skin disease in an animal model. *Int J Mol Med.* 2014;34(5):1341-1348. doi:10.3892/ijmm.2014.1933. Accessed 10.11.2020.
18. Han SM, Lee G, Park SC. Effects of cosmetics containing purified honeybee (*Apis mellifera* L.) venom on acne vulgaris. *J Integr Med.* 2013;11(5):320-326. doi:10.3736/jintegrmed2013043. Accessed 10.11.2020.
19. Han SM, Park SC, Nicholls YM, Macfarlane N. Evaluation of anti-acne property of purified bee venom serum in humans. *J Cosmet Dermatol.* 2016;15(4):324-329. doi:10.1111/jocd.12227. Accessed 10.11.2020.
20. Kim H, Park SY, Lee G. Potential Therapeutic Applications of Bee Venom on Skin Disease and Its Mechanisms: A Literature Review. *Toxins.* 2019;11(7):374. doi:10.3390/toxins11070374. Accessed 10.11.2020.
21. Huang KP, Mullangi S, Guo Y, Qureshi AA. Autoimmune, atopic, and mental health comorbid conditions associated with alopecia areata in the united states. *JAMA Dermatol.* 2013;149:789-794. doi:10.1001/jamadermatol.2013.3049. Accessed 10.11.2020.
22. Pak S, Erdogan S, Hwang D, et al. Bee venom promotes hair growth in association with inhibiting 5alpha-reductase expression. *Biol Pharm Bull.* 2016;39:1060-1068. doi:10.1248/bpb.b16-00158. Accessed 10.11.2020.
23. Kurek-Górecka A, Górecki M, Rzepecka-Stojko A, et al. Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules.* 2020;25(3):556. doi:10.3390/molecules25030556. Accessed 10.11.2020.
24. Lee HJ, Lee SH. Epidermal permeability barrier defects and barrier repair therapy in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2014;6:276-287. doi:10.4168/aaair.2014.6.4.276. Accessed 10.11.2020.
25. You CE, Moon SH, Lee KH, et al. Effects of emollient containing bee venom on atopic dermatitis: A double-blinded, randomized, base-controlled, multicenter study of 136 patients. *Ann Dermatol.* 2016;28:593-599. doi:10.5021/ad.2016.28.5.593. Accessed 10.11.2020.
26. Hyemin G, Woon-Hae K, Hyun-Jin A, et al. Therapeutic effects of bee venom on experimental atopic dermatitis. *Mol Med Rep.* 2018;18(4):3711-3718. doi:10.3892/mmr.2018.9398. Accessed 10.11.2020.
27. Hegazi AG, Abd Raboh FA, Ramzy NE, et al. Bee venom and propolis as new treatment modality in patients with localized plaque psoriasis. *Int Res J Med Med Sci.* 2013;1:27-33. Accessed 10.11.2020.
28. Eltahir S, Mohammed GF, Younes S, Elakhras A. Efficacy of the apitherapy in the treatment of recalcitrant localized plaque psoriasis and evaluation of tumor necrosis factor-alpha (tnf-alpha) serum level: A double-blind randomized clinical trial. *J Dermatol Treat.* 2015;26:335-339. doi:10.3109/09546634.2014.990411. Accessed 10.11.2020.
29. Han SM, Lee K, Yeo J, et al. Biological effects of treatment of an animal skin wound with honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2011;64(3):e67-e72. doi:10.1016/j.bjps.2010.08.022. Accessed 10.11.2020.
30. Hozzein WN, Badr G, Badr BM, et al. Bee venom improves diabetic wound healing by protecting functional macrophages from apoptosis and enhancing nrf2, ang-1 and tie-2 signaling. *Mol Immunol.* 2018;103:322-335. doi:10.1016/j.molimm.2018.10.016. Accessed 10.11.2020.
31. El-Seedi H, Abd El-Wahed A, Yosri N, et al. Antimicrobial Properties of *Apis mellifera*'s Bee Venom. *Toxins.* 2020;12(7):451. doi:10.3390/toxins12070451. Accessed 10.11.2020.
32. Han SM, Hong IP, Woo SO, et al. The beneficial effects of honeybee-venom serum on facial wrinkles in humans. *Clin Interv Aging.* 2015;10:1587-1592. doi:10.2147/CIA.S84940. Accessed 10.11.2020.
33. Han SM, Lee KG, Yeo JH. Inhibitory effect of bee venom against ultraviolet B induced MMP-1 and MMP-3 in human dermal fibroblasts. *J Apic Res.* 2007;46(2):94-98. doi:10.1080/00218839.2007.11101374. Accessed 10.11.2020.
34. Han SM, Kim JM, Pak SC. Anti-melanogenic properties of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom in α -MSH-stimulated B16F1 cells. *Food Agric Immunol.* 2015;26(3):451-462. doi:10.1080/09540105.2014.950202. Accessed 10.11.2020.
35. Brovkovich VM, Moibenko AA. Effect of melittin on the contractility of rat papillary muscle. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 1997;124(1):642-644. Accessed 10.11.2020.
36. Badania własne firmy BBH Biotech. *Raport z badań surowca: buforowany jad pszczelej.* Poznań; 2017.
37. Badania własne firmy BBH Biotech. *Raport projektowy 02-2018.* Poznań; 2018.
38. Han SM, Hong IP, Woo SO, et al. Evaluation of the skin phototoxicity and photosensitivity of honeybee venom. *J Cosmet Dermatol.* 2017;16(4):e68-e75. doi:10.1111/jocd.12350. Accessed 10.11.2020.
39. Cho E, Lee JD, Cho SH. Systemic Contact Dermatitis from Propolis Ingestion. *Annals of Dermatology.* 2011;23(1):85-88. doi:10.5021/ad.2011.23.1.85. Accessed 10.11.2020.
40. Hyunkyong L, Min-Jung P, Seong Kyeong B, et al. Improved Therapeutic Profiles of PLA2-Free Bee Venom Prepared by Ultrafiltration Method. *Toxicological Research.* 2015;31(1):33-40. doi:10.5487/TR.2015.31.1.033. Accessed 10.11.2020.

otrzymano / received: 12.11.2020 | poprawiono / corrected: 24.11.2020 | zaakceptowano / accepted: 05.12.2020