

# Klinička istraživanja djelotvornosti matične mliječi

---

**Benković, Margareta**

**Professional thesis / Završni specijalistički**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:864549>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-11**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Margareta Benković

KLINIČKA ISTRAŽIVANJA DJELOTVORNOSTI MATIČNE MLIJEČI

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Margareta Benković

KLINIČKA ISTRAŽIVANJA DJELOTVORNOSTI MATIČNE MLIJEČI

Specijalistički rad

Zagreb, 2022.

PSS studij: Fitofarmacija s dijetoterapijom

Mentor rada: Izv. prof. dr. sc. Biljana Blažeković

Specijalistički rad obranjen je dana 26. rujna 2022. u Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Doc. dr. sc. Maja Bival Štefan

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet

2. Izv. prof. dr. sc. Biljana Blažeković

Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet

3. Prof. dr. sc. Zdenka Kalodžera, *prof. emerita*

Rad ima 48 listova.

## **Predgovor**

Rad je izrađen na Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u Zavodu za farmakognoziju pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Biljane Blažeković.

Hvala mentorici izv. prof. dr. sc. Biljani Blažeković na pomoći pri odabiru teme i oblikovanju ovog rada. Hvala suprugu, obitelji i kolegama na podršci.

## Sažetak

Matična mliječ je bijeložućkasti, viskozni žljezdani sekret pčela radilica (*Apis mellifera* L.) koji primarno služi kao hrana za pčelinje ličinke i maticu. U tradicionalnoj medicini spominje se već stoljećima te se zbog niza navodnih blagotvornih učinaka na ljudsko zdravlje danas uvelike koristi kao funkcionalna hrana, dodatak prehrani ili kozmetički sastojak. Kao najcijenjeniji pčelinji proizvod odlikuje se visokom nutritivnom vrijednošću i sadržajem jedinstvenih bioaktivnih sastavnica, prvenstveno 10-hidroksi-2-decenske kiseline (10-HDA) koja se zajedno s glavnim proteinima matične mliječi (engl. *major royal jelly protein*, MRJP) te rojalizinom i apisinom smatra odgovornom za različite korisne biološke i farmakološke učinke.

**Ciljevi:** Cilj ovog specijalističkog rada je dati sveobuhvatan pregled dosadašnjih znanstvenih spoznaja o kliničkoj učinkovitosti matične mliječi u prevenciji i liječenju bolesti.

**Materijali/pacijenti i metode:** Istraživanja u okviru ovog specijalističkog rada teorijskog su karaktera i obuhvaćaju pregled znanstvene literature o dosad provedenim kliničkim studijama koje su uključivale primjenu matične mliječi. Pretražene su dostupne elektroničke bibliografske baze podataka, kao što su PubMed (Medline), Embase, Current Contents Connect, Cochrane Library i Google Scholar te baze registriranih kliničkih studija, korištenjem ključnih riječi vezanih za temu rada. Prikupljeni relevantni znanstveni radovi detaljno su proučeni s obzirom na definirani znanstveni problem, protokol istraživanja, analizu rezultata i izvedene zaključke te su sistematično prikazani i kritički procijenjeni.

**Rezultati:** Ustanovljeno je postojanje većeg broja kliničkih studija među kojim su najbrojnije randomizirane placebo kontrolirane studije koje su uključivale zdrave pojedince ili pacijente s različitim zdravstvenim tegobama. Protutumorsko djelovanje, suzbijanje nuspojava antitumorske terapije, pozitivan učinak kod osoba s dijabetesom, ali i pozitivni učinci na metabolički sindrom, ženske tegobe, autoimune bolesti, benignu hiperplaziju prostate, neki su od dokazanih kliničkih učinaka suplementacije matičnom mliječi.

**Zaključak:** Rezultati dosadašnjih nekliničkih i kliničkih studija ukazuju na značajan potencijal primjene matične mliječi u prevenciji i terapiji niza zdravstvenih tegoba. Međutim, jednoznačnih kliničkih dokaza o učinkovitosti još nema dovoljno, a razlog tome su malobrojnost kliničkih ispitivanja, mali broj ispitanika i/ili nehomogenost dobivenih rezultata. S obzirom na rastući globalni trend primjene prirodnih proizvoda u prevenciji i liječenju bolesti, provedeni sustavni pregled dosadašnjih znanstvenih spoznaja o učinkovitosti matične mliječi doprinosi usvajanju novih znanja i podizanju stručnih kompetencija nutricionista, farmaceuta, liječnika i drugih zdravstvenih djelatnika u svrhu boljeg savjetovanja pacijenata te također može biti koristan za usmjeravanje budućih kliničkih istraživanja.

## Summary

Royal jelly is a whitish-yellow, viscous glandular secretion of worker bees (*Apis mellifera* L.) that primarily serves as food for honeybee larvae and queen bees. It has been well known in traditional medicine for centuries, so owing to a number of alleged beneficial effects on human health, it is today widely used as a functional food, dietary supplement or cosmetic ingredient. Being the most valuable bee product, it is characterized by high nutritional value and content of unique bioactive components, primarily 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA), which together with the major royal jelly proteins (MRJP), royalisin and apisin are considered to be responsible for various beneficial biological and pharmacological effects.

**Objectives:** The aim of this work is to provide a comprehensive overview of the current scientific knowledge on the clinical effectiveness of royal jelly in the prevention and treatment of diseases.

**Material/Patients and Methods:** The research within this work is of a theoretical nature and includes a review of the scientific literature on clinical studies which included the use of royal jelly. Available electronic bibliographic databases such as PubMed (Medline), Embase, Current Contents Connect, Cochrane Library and Google Scholar, as well as databases of registered clinical studies were searched using keywords related to the topic of the thesis. The collected relevant scientific papers were studied in detail with regard to the defined scientific problem, research protocol, analysis of results and derived conclusions, and are systematically presented and critically evaluated.

**Results:** The existence of a large number of clinical studies was established, among which the most numerous were randomized, placebo-controlled studies that included healthy individuals or patients with various health conditions. Antitumor activity, suppression of side effects of antitumor therapy, positive effect in patients with diabetes, metabolic syndrome, and autoimmune diseases, but also positive effects on women health and benign prostatic hyperplasia are some of the proven clinical effects of royal jelly supplementation.



**Conclusion:** The results of recent non-clinical and clinical studies indicate the significant potential of using royal jelly in the prevention and therapy of a number of health problems. However, there is still not enough unambiguous clinical evidence of effectiveness, and the reason for this is the small number of clinical trials, the small number of participants and/or the inhomogeneity of the results obtained. Taking into account the global growing trend of using natural products in disease prevention and treatment, a systematic review of current scientific knowledge on the effectiveness of royal jelly contributes to the adoption of new knowledge and the raising of the professional competences of nutritionists, pharmacists, doctors as well as other health professionals for the purpose of better patient counseling, and also may be useful for direction of further clinical investigations.

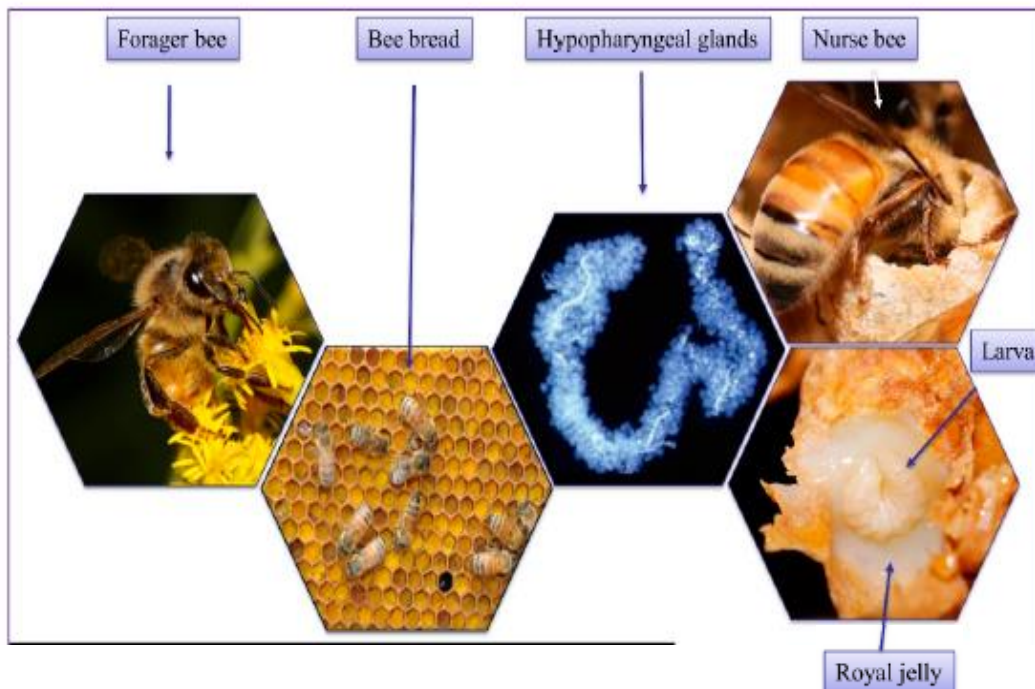
## TABLICA SADRŽAJA

1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA.....	1
1.1. Matična mliječ – porijeklo i tradicionalna primjena .....	1
1.2. Kemijski sastav matične mliječi .....	2
1.3. Biološki i farmakološki učinci matične mliječi.....	5
1.4. Proizvodnja i komercijalna upotreba.....	11
2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	12
3. MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O TEMI .....	13
4. RASPRAVA.....	14
4.1. Primjena matične mliječi kod onkoloških bolesnika .....	14
4.2. Primjena matične mliječi kod dijabetičkih bolesnika.....	19
4.3. Primjena matične mliječi i metabolički sindrom.....	22
4.4. Matična mliječ i žensko zdravlje .....	24
4.5. Matična mliječ i autoimune bolesti.....	26
4.6. Utjecaj suplementacije na sportaše i starije zdrave osobe.....	27
4.7. Ostali učinci primjene matične mliječi.....	29
4.8. Sigurnosni profil matične mliječi .....	37
5. ZAKLJUČAK.....	38
6. LITERATURA .....	39
7. ŽIVOTOPIS .....	48

# 1. UVOD I PREGLED PODRUČJA ISTRAŽIVANJA

## 1.1. Matična mliječ – porijeklo i tradicionalna primjena

Matična mliječ (MM) je visokovrijedan pčelinji proizvod bogat nutritivnim i bioaktivnim sastavnicama. Izlučevina je mandibularnih i hipofaringealnih sekretornih žlijezda mladih pčela radilica, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae), žućkastobijele je boje, guste konzistencije, kiselog pH (3,4 – 4,5) i specifičnog blago oštrog mirisa i okusa (1). MM pčelama služi kao hrana. Njome se do 3. dana života hrane ličinke koje se razvijaju u ženke radilice i muške trutove, dok se odabrane jedinice koje se razvijaju u matice njome hrane do kraja razvojnog stadija ličinke. Štoviše, MM je ekskluzivna hrana za odrasle matice tijekom cijelog njihovog života (2). S obzirom da prehrana MM omogućuje matici da živi jednu do dvije godina, dok pčele radilice obično žive oko 45 dana, te da ona dnevno može položiti do 2500 jaja (3), tradicionalno se vjeruje da ovaj jedinstveni pčelinji proizvod također može doprinijeti dugovječnosti i plodnosti čovjeka.



Slika 1. Proizvodnja matične mliječi (4)

Matičnu mliječ ljudi su od davnina koristili širom svijeta kako bi unaprijedili zdravlje ili liječili bolesti. Prve povijesne bilješke potječu još iz antičke Grčke, u kojoj se smatralo da *ambrozija*, nektar koji je osiguravao besmrtnost bogovima s Olimpa, sadrži MM. Stoga su i stari Grci jeli svježe saće usitnjeno s medom, ličinkama, propolisom, peludom i MM. Aristotel je prvi otkrio ulogu MM u pčelinjoj zajednici te je, proučavajući njeno djelovanje na pčelinju maticu, pripisao MM sposobnost povećanja tjelesne snage i poboljšanja intelektualnih sposobnosti, pa su med i MM bili sastavni dio doručka u njegovoj školi. U starom Egiptu MM se koristila u kozmetici i smatrala tajnom Kleopatrine ljepote. U to su doba faraoni obično jeli MM pa je postala simbol njihove snage i veličanstvenosti. Matična mliječ tradicionalno se dugo koristi i u Aziji, posebice u Kini, gdje se povezuje s dugovječnošću i seksualnom snagom drevnih kineskih dinastija (2, 5). Izraz “kraljevski žele” (fran. *gelee royale*, engl. *royal jelly*) skovao je u 17. st. francuski znanstvenik René Antoine de Réaumur kako bi imenovao hranu za pčelinje matice te ju povezo s pretpostavkom o iznimnom utjecaju na njen rast (2).

MM danas je vrlo popularna, bilo kao funkcionalna namirnica (“superhrana”) ili kao sirovina za komercijalne dodatke prehrani i kozmetičke proizvode, stoga se proizvodi u velikim količinama da bi se zadovoljile tržišne potrebe. Jačanje svijesti o važnosti očuvanja zdravlja i potrebi prevencije kroničnih bolesti zajedno sa sve većim interesom za prirodne proizvode, posebice one s dugom tradicijom korištenja, istaknuli su njen potencijal u suvremenoj farmaciji i medicini. U novije su doba kemijske sastavnice i brojni blagotvorni učinci koji se tradicionalno pripisuju MM također privukli veliku pozornost znanstvenika širom svijeta, čemu svjedoči značajan porast broja publikacija dostupnih u međunarodnim znanstvenim bazama podataka.

## **1.2. Kemijski sastav matične mliječi**

MM je jedinstvena, kompleksna smjesa nutritivnih i bioaktivnih sastavnica. Sadrži visoki udio vode (50-70 %) te proteine (9-18 %), ugljikohidrate (7-18 %), lipide (3-8 %), mineralne tvari

(0,8-3 %), vitamine topive u vodi (B3, B5), fenolne spojeve, flavonoide, slobodne aminokiseline i druge spojeve (adenozin monofosfat i njegov N1 oksid, acetilkolin, testosteron, estradiol, progesterone i prolaktin) (1, 3, 4 6, 7). Primjenom suvremene spektrometrijske analize u MM je otkriveno oko 185 organskih spojeva (5).

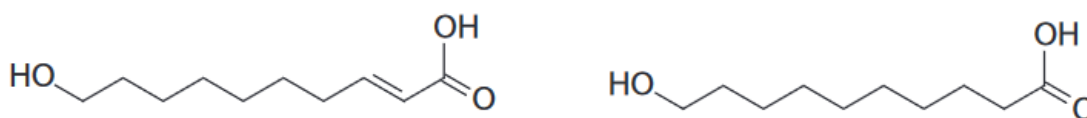
Ugljikohidratna frakcija MM najvećim je dijelom sastavljena od monosaharida, fruktoze i glukoze, a sadrži i saharozu te manje količine drugih oligosaharida (trehaloza, maltoza, gentiobioza, izomaltoza, rafinoza, erloza i melecitoza) (1, 8, 9, 10, 11).

Proteinska frakcija, koja predstavlja najvažniji dio MM, sastoji se od albumina,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  globulina, glikoproteina, lipoproteina i 23 aminokiseline (12). Među njima većina je kategorizirana kao glavni proteini matične mliječi (engl. *major royal jelly protein*, MRJP) za koje je dokazano da najviše doprinose raznim fiziološkim funkcijama MM (13, 14). MRJP obitelj ima devet članova, MRJP 1–9, koji su imenovani prema njihovoj molekularnoj masi ili redoslijedu otkrivanja (13, 15). Furusawa i sur. (16) istaknuli su kako većinu MRJP čine MRJP1 s udjelom oko 46 %, te MRJP2 i MRJP3 kojih ima oko 11 % odnosno 13 %, dok je preostalih šest MRJP-a (MRJP4 - MRJP9) zastupljeno u ukupnom udjelu od 30 %. MRJP su glikoproteini koji su kovalentno vezani za oligosaharide na N-terminalnom ostatku (17). Najzastupljeniji MRJP1 javlja se kao monomer nazvan rojalaktin (protein od 55 kDa) ili kao oligomer poznat kao apisin (280-420 kDa) (18). Apisin bi mogao poslužiti kao marker kakvoće MM, iako je njegova fiziološka funkcija još uvijek nejasna (19, 20). Osim navedenih MRJP-ova, MM sadrži u manjoj mjeri i druge proteine/peptide poput želeina I-IV, rojalizina i apisimina koji se svi zajedno karakteriziraju kao antimikrobni peptidi (engl. *antimicrobial peptides*, AMP) (2). Želeini su četiri peptida izvedena iz C-kraja MRJP1, od kojih antimikrobno djelovanje pokazuju želeini I-III. Zajedno s rojalizinom odgovorni su za široki spektar antimikrobne aktivnosti MM (2,14, 21).

Drugi važan dio matične mliječi čini lipidna frakcija sastavljena od masnih kiselina (80–85 %), voska (5-6 %), steroida (3-4 %) i fosfolipida (0,4-0,8 %) (12). Među lipidima najzastupljenije su kratkolančane slobodne masne kiseline s 8-12 atoma ugljika koji su obično u hidroksilnom

ili dikarboksilnom obliku (22). Najznačajnija je *trans*-10-hidroksi-2-decenska kiselina (10-HDA, 10-H2DA) prisutna s udjelom od 32 %, zatim slijede glukonska kiselina zastupljena s 24 %, 10-hidroksidekanska kiselina (HDAA) s 22 % te 5 % dikarboksilnih kiselina poput sebacinske kiseline i dr. (12). 10-HDA je jedinstvena bioaktivna sastavnica matične mliječi čija prisutnost nije zabilježena ni u jednoj drugoj prirodnoj sirovini, pa čak ni u bilo kojem drugom pčelinjem proizvodu, te je kao takva međunarodno prihvaćena kao marker njezine kakvoće i autentičnosti (3, 11.).

Obzirom na heterogenu prirodu, kemijski sastav MM je vrlo promjenjiv jer na njega utječu brojni čimbenici, poput vremena sakupljanja, geografskog i botaničkog porijekla, vrste pčela i dr. (3, 23), stoga je vrlo važno provesti standardizaciju kako bi se mogla procijeniti kakvoća i osigurati učinkovitost.



Slika 2. Kemijske strukture 10-hidroksi-2-decenske kiseline (10-HDA) i 10-hidroksidekanske kiseline (10-HDAA), dviju glavnih masnih kiselina u matičnoj mliječi

Matična mliječ sadrži fenolne spojeve iz skupine flavonoida i fenolnih kiselina koji se smatraju prirodnim antioksidansima. Među flavonoidima razlikujemo flavanone (hesperetin, izosakuranetin i naringenin), flavone (akacetin, apigenin i njegovi glukozidi, krizin i luteolin glukozid), flavonole (glukozidi izoramnetina i kempferola) i izomelastinoflavonoide (formononetin i genistein) (24). Od fenolnih kiselina sadrži kavenu i feruličnu kiselinu. U novije vrijeme sve je popularniji koncept primjene prirodnih polifenolnih spojeva u svrhu unaprijeđenja ljudskog zdravlja, uzimajući u obzir njihova antioksidativna svojstva zaslužna za prevenciju štetnih oksidacijskih procesa i stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva, kao i keliranje prooksidativnih metala.

Matična mliječ sadrži oko 1,5 % mineralnih soli (uglavnom bakra, cinka, željeza, kalcija, mangana, kalija i natrija) te vitamine (biotin, folna kiselina, inositol, niacin, pantotenska kiselina, riboflavin, tiamin i vitamin E) (1, 8, 25).

Od ostalih tvari u MM su prisutni i različiti enzimi (amilaza, invertaza, katalaza, kiselna fosfataza i dr.), neuroprijenosnici (acetilkolin i kolin) te spolni hormoni (estradiol, testosteron i progesteron) (12).

Tablica 1 donosi usporedni prikaz razlika u kvalitativnom i kvantitativnom kemijskom sastavu najčešće korištenih oblika matične mliječi, svježe i liofilizirane.

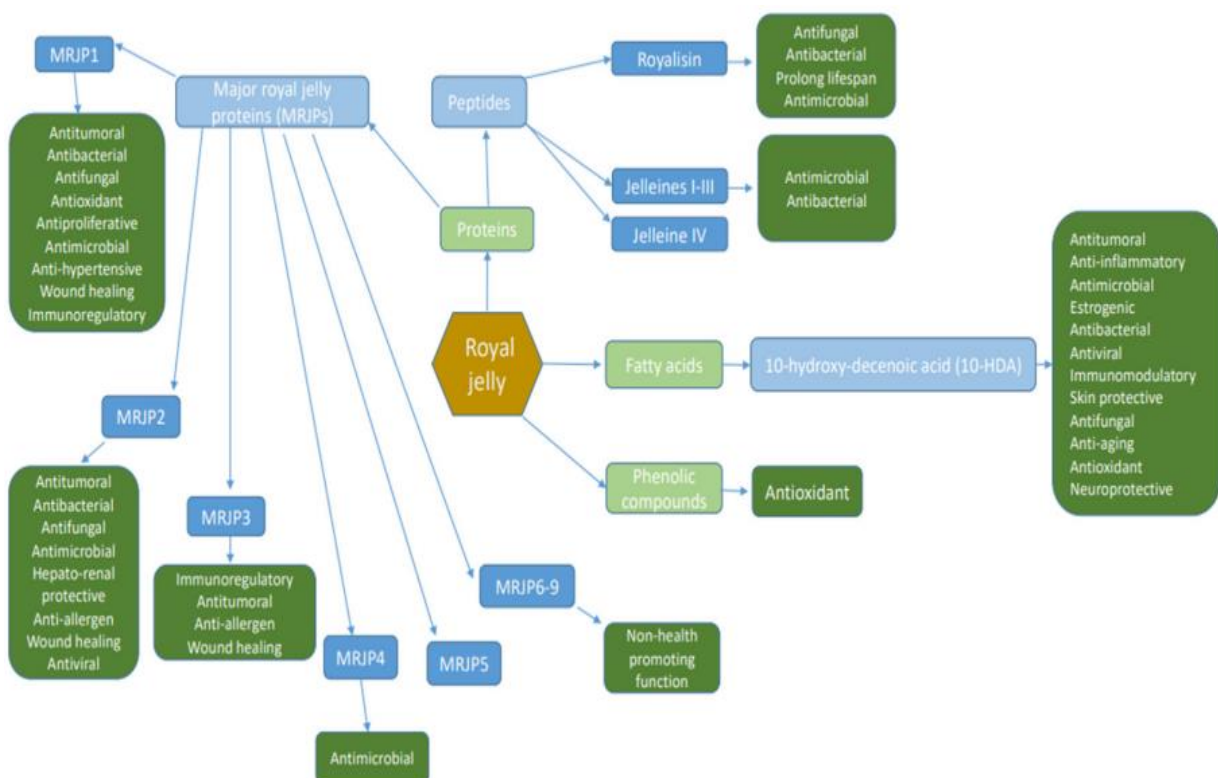
Tablica 1. Usporedni prikaz kemijskog sastava svježe i liofilizirane matične mliječi (3)

	Matična mliječ, svježa	Matična mliječ, lioofilizirana
Voda %	60-70	< 5
Lipidi %	3-8	8-19
10-hidroksi-2-decenska kiselina %	> 1,4	> 3,5
Proteini %	9-18	27-41
Fruktoza+glukoza+sukroza %	7-18	-
Fruktoza %	3-13	-
Glukoza %	4-8	-
Sukroza %	0,5-2,0	-
Pepeo %	0,8-3,0	2-5
pH %	3,4-4,5	3,4-4,5
Kiselost (ml 0,1N NaOH/g)	3,0-6,0	-
Furozin (mg/100g proteina)	< 50	-

### 1.3. Biološki i farmakološki učinci matične mliječi

Uzevši u obzir dugu tradiciju primjene matične mliječi u prevenciji i liječenju različitih zdravstvenih tegoba često joj se pripisuju moćna terapijska svojstva. Među brojnim izoliranim sastavnicama, za ljekovito djelovanje smatraju se najzaslužnije *trans*-10-hidroksi-2-decenska

kiselina (10-HDA), 10-dekanoična kiselina, rojalizin, apisin i pojedini antimikrobni proteini (21, 26). Biološka i farmakološka aktivnost MM i njenih sastavnica bila je predmetom velikog broja *in vitro* i *in vivo* istraživanja provedenim na različitim eksperimentalnim modelima, od mikroorganizama poput bakterija, gljivica i virusa, preko različitih staničnih linija do laboratorijskih životinja (zečevi, miševi, štakori i hrčci). Brojna neklinička znanstvena istraživanja pokazuju da MM i njene sastavnice djeluju antimikrobno (27), antioksidativno (11, 29, 30), imunomodulacijski (31), protuupalno (32), protutumorski (33, 34), hipolipemijski, antihipertenzivno (35), neuroprotektivno (36) i estrogeno te da posjeduju sposobnost usporavanja starenja, zacijeljivanja rana (37, 38) i dr., upućujući tako na njen široki terapijski potencijal.



Slika 3. Bioaktivne sastavnice matične mliječi i njihovi biološki i farmakološki učinci (28)



### ***Antimikrobno djelovanje***

Najranija znanstvena istraživanja ukazala su na snažna antimikrobna svojstva MM protiv različitih vrsta patogenih bakterija, gljivica i virusa, a za učinak se smatraju odgovornima MRJP proteini, rojalizin, želeini te 10-HAD (2). Utvrđeno je bolje djelovanje na Gram pozitivne bakterije u odnosu na Gram negativne, a dokazana je i učinkovitost na meticilin-rezistentne sojeve *Staphylococcus aureus* (MRSA) koji predstavljaju veliki javnozdravstveni problem (2).

### ***Antioksidacijsko djelovanje***

MM pokazuje i antioksidacijsko djelovanje koje bi moglo poslužiti kao osnova potencijalne primjene u prevenciji i liječenju različitih kroničnih i degenerativnih bolesti. Više animalnih studija potvrđuje njena neuroprotektivna, hepatoprotektivna i nefroprotektivna svojstva sugerirajući da se zaštitno djelovanje zasniva na smanjenju oksidativnog stresa kroz uklanjanje reaktivnih kisikovih spojeva, smanjenje lipidne peroksidacije te povećanja staničnih obrambenih antioksidativnih enzima (superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i glutation peroksidaze (GPx)) (4, 39).

### ***Protuupalno/imunomodulatorno djelovanje***

Imunomodulatorno djelovanje MM, a posebno njenih proteinskih sastavnica, potvrđuje veći broj nekliničkih studija koje izvješćuju o sposobnosti poticanja proizvodnje antitijela i proliferacije stanica u imunokompetentnih miševa (3). Upala je jedan od prvih odgovora tijela na infekciju ili ozljedu i pokreće imunološki proces koji može uzrokovati tkivna oštećenja i razvoj bolesti. *In vitro* studije upućuju na protektivno djelovanje MM na staničnoj razini, temeljeno na sposobnosti kočenja transkripcije proupalnih citokina TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  i IL-6, kao i ekspresije proupalnog proteina COX-2, odnosno na inhibiciji stvaranja upalnih medijatora putem JNK, p38 i NF-kB signalizacije (3, 40). Imunomodulatorna aktivnost izražena je i smanjenjem alogene proliferacije T-stanica i stvaranjem IL-2 povezanih s dendritičkim stanicama *in vitro*, kao i inhibicijom antigen - specifičnog imunološkog odgovora *in vivo* (41). 10-HDA ima različite imunomodulatorne učinke ovisno o primijenjenim koncentracijama.

Visoka koncentracija 10-HDA mogla bi zaustaviti funkciju i sazrijevanje ljudskih dendritičnih stanica nastalih iz monocita, a niže doze podržavaju imunološki odgovor Th1 (42). 10-HDA značajno inhibira aktivnost matriks metaloproteinaza (MMP-1, MMP-3), p38, i proteina-1 koji aktivira signalni put c-Jun N-terminalne kinaze (JNK-AP-1), te bi mogao unaprijediti terapiju reumatoidnog artritisa (43). Štoviše, 10-HDA inhibira inhibitor kapa-B-zete (I $\kappa$ B-z) i IL-6 induciran lipopolisaharidom (LPS), što može povoljno utjecati na autoimune i upalne bolesti (44). Tri glavne masne kiseline MM, 10-H<sub>2</sub>DA, 10-HDAA i sebacinska kiselina, pokazuju protuupalni odgovor *in vitro* inhibicijom upalnih medijatora IL-10, NO i TNF- $\alpha$  (45).

### ***Protutumorsko djelovanje***

Protutumorsko djelovanje MM *in vitro* je dokazano na stanicama Lewisovog karcinoma pluća, kolorektalnog adenokarcinoma, neuroblastoma SH-SY5Y, MCF-7 stanicama raka dojke i PC3 stanicama raka prostate (tablica 2) (3, 7). Profilaktičko-terapijska primjena MM na eksperimentalnom modelu tumora dojke rezultirala je smanjenjem mase tumora, povećanjem SOD aktivnosti i ukupnog antioksidativnog kapaciteta te poboljšanjem antioksidativnog statusa jetre, bubrega i seruma životinja (46).

10-HDA i humani interferon-alfa (HuIFN- $\alpha$ N3) proteini pokazuju slično djelovanje, a njihova kombinacija smanjuje razinu glutationa i pojačava razinu peroksidacije lipida putem MDA na CaCo-2 stanicama ljudskog kolorektalnog karcinoma (47). 10-HDA inhibira WiDr stanice raka debelog crijeva potiskujući stvaranje TNF- $\alpha$  (34). Sve lipofilne frakcije iz MM pokazale su sposobnost usporavanja početka i daljnjeg rasta humanog neuroblastoma (48).

Sirova MM zaustavlja oštećenja potaknuta bisfenolom A, ksenobiotikom iz okoliša koji aktivira estrogenske receptore i potiče proliferaciju MCF-7 stanica humanog karcinoma dojke (33). MM ima potencijal smanjenja citotoksičnog učinka doksorubicina na staničnoj liniji raka prostate (PC3) (49). N-acetilacija glavni je metabolički put koji aktivira kancerogene arilamine koji su katalizirani N-acetiltransferazom (NAT) i zahtijevaju acetil-koenzim A. MM utječe na N-acetilaciju i inhibira metabolizam 2-aminofluorenskih (2-AF) metabolita na staničnoj liniji humanog tumora jetre te smanjuje razinu 2-AF u J5 stanicama na način koji ovisi o dozi (50).

U novije se vrijeme pokazalo da pročišćeni proteini iz MM popravljaju štetu nanесenu nekrotičnim hepatocitima smanjenjem razine TNF- $\alpha$  te se ovo djelovanje povezuje s protutumorskim učinkom dokazanim u HepG2 hepatocelularnim stanicama raka (51).

Tablica 2. Pregled protutumorskog i protektivnog djelovanja matične mliječi na rak utvrđen na različitim ekperimentalnim modelima (28)

Djelovanje	Stanična linija/ životinjski model	Tip raka
<b>Smanjenje tumorskog rasta</b>	miševi	dojka
<b>Protektivno</b>	štakori	vrat i glava
<b>Protektivno</b>	štakori	prostata
<b>Antioksidativno</b>	štakori	dojka
<b>Protektivno</b>	štakori	više tipova
<b>Citotoksično</b>	PC3 stanična linija	prostata
<b>Antiproliferacijsko</b>	SMMC-7721 stanična linija	jetra
<b>Antiproliferacijsko</b>	MCF-7 stanična linija	dojka
<b>Protektivno</b>	štakori	više tipova
<b>Citotoksično</b>	HCT-116 i SW-480 stanice	debelo crijevo

### ***Djelovanje na kožu i rane***

Zacjeljivanje rana važan je zdravstveni problem, a znanstvena istraživanja potvrđuju da MM može pospješiti taj proces. Dokazano je da frakcija proteina matične mliječi, koja uglavnom sadrži MRJP-2,3 i 7, pozitivno utječe na zacjeljivanje rana jer je na modelu ogrebotine inducirala proliferaciju i migraciju humanih epidermalnih keratinocita (38, 52). Regeneraciji kože i zacjeljivanju rana doprinosi peptid defenzin-1 prisutan u MM na način da povećava lučenje matriks metaloproteinaze-9 i migraciju keratinocita (52). Istraživanja su pokazala da MM potiče migraciju ljudskih fibroblasta, mijenjajući razinu različitih lipida i povećavajući razinu sfingolipida koji potiču cijeljenje rana. Topikalno primjenjena je o dozi-ovisno poboljšala liječenje teškog oralnog mukozitisa izazvanog kemoterapijskim lijekom 5-

fluorouracilom u hrčka (4). *In vitro* je na normalnim fibroblastima kože utvrđeno da MM sprječava UV B-zrakama potaknuto fotostarenje kože potičući proizvodnju kolagena (53).

### ***Estrogeno/antiandrogeno djelovanje***

Studije povezane s ekspresijom gena pokazale su da 0,1-1 mg/ml MM aktivira estrogenske receptore (54). 10-HDA, 10-HDAA i SEA pokazuju snažan estrogenu učinak posredujući u signaliziranju estrogenu tako da modulira regrutaciju receptora ER $\alpha$ , ER $\beta$  i koaktivatora na ciljne gene. Selektivnije se vežu za ER $\beta$  nego za ER $\alpha$  (55).

Preklinička studija također otkriva antiandrogeni učinak MM u štakorica sa sindromom policističnih jajnika, što ukazuje na njen potencijal u liječenju tog sindroma u žena (56).

Nakaya i sur. utvrdili su da MM može smanjiti utjecaj okolišnih estrogenskih disruptora. Bisfenol A je ksenobiotik, agonist estrogenskih receptora, koji povećava proliferaciju MCF-7 stanica humanog raka dojke, dok MM posjeduje sposobnost da inhibira njegov stimulatívni učinak na MCF-7 stanice (33, 57).

### ***Sposobnost produljenja životnog vijeka***

MM se povezuje s produljenim životnim vijekom pčelinje matice, ali i drugih životinjskih vrsta, poput vinskih mušica, zrikavaca, dudovog svilca, nematoda i miševa, a učinak dugovječnosti pripisuje se različitim mehanizmima - smanjenju inzulín-sličnih faktora rasta, ciljanju rapamicin (mTOR) signalnog puta, aktivacijom signalizacije receptora epidermalnog faktora rasta (EGFR), ograničenjem u prehrani i povećanjem antioksidativnog kapaciteta (6).

### ***Utjecaj na mentalno zdravlje***

Nekliničke studije ukazuju da blagotvorni učinci MM na ljudsko zdravlje nisu ograničeni samo na poboljšanje fizičkog zdravlja, već također uključuju i smanjenje simptoma anksioznosti te poboljšanje općeg mentalnog zdravlja, raspoloženja i blažih staračkih kognitivnih oštećenja (6).

#### **1.4. Proizvodnja i komercijalna upotreba**

MM je danas komercijalno dostupna diljem svijeta kao funkcionalna namirnica i kao sastavnica brojnih dodataka prehrani i kozmetičkih proizvoda. Posebno je popularna njezina primjena u Aziji u okviru tradicionalne apiterapije (58).

Za komercijalnu upotrebu MM se sakuplja iz matičnih stanica koje su najbogatiji izvor i osiguravaju proizvodnju u puno većoj količini nego što ga ličinke matice mogu konzumirati (59). Tradicionalna proizvodnja matične mliječi zahtijeva pet ključnih koraka: (1) postavljanje matičnog okvira (2) ručno cijepjenje jednodnevne ličinke radilica u umjetne matičnjake (3) uvođenjem okvira u zajednicu i hranjenje zajednice (4) uklanjanje okvira s maticom iz zajednice te (5) berba i skladištenje. Nova tehnologija prototipa razvijenog u Kini omogućuje uštedu radne snage za dva najintenzivnija koraka – ručno cijepjenje jednodnevnih ličinki radilica (2. korak) i sakupljanje matične mliječi (korak 5) (59). Usporedno s općim rastom tržišta funkcionalne hrane, svake godine raste i potražnja za MM. Prema nekim izvorima, godišnja proizvodnja MM iznosi nekoliko tisuća tona, od čega se oko 2000 tona proizvede u Kini (8).

## 2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Matična mliječ je visokovrijedni pčelinji proizvod koji je danas vrlo cijenjen i popularan sastojak farmaceutskih, prehrambenih i kozmetičkih proizvoda široko dostupnih na tržištu. Zbog duge tradicije primjene u prevenciji i liječenju različitih bolesti kao i brojnih bioloških i farmakoloških učinaka dokazanih nekliničkim znanstvenim istraživanjima, često joj se pripisuju moćna terapijska svojstva. Cilj specijalističkog rada je dati sveobuhvatan pregled dosadašnjih znanstvenih spoznaja o kliničkoj učinkovitosti matične mliječi i procijeniti mogućnosti njene racionalne i na dokazima utemeljene primjene u suvremenoj farmaciji i medicini.

### **3. MATERIJAL I METODE - SUSTAVNI PREGLED SAZNANJA O**

#### **TEMI**

Istraživanja u okviru ovoga specijalističkog rada su teorijskog karaktera i obuhvaćaju pregled znanstvene literature o provedenim kliničkim studijama koje su uključivale primjenu matične mliječi. U pretraživanju su korištene dostupne elektroničke bibliografske baze podataka kao što su PubMed (Medline), Embase, Current Contents Connect, Cochrane Library i Google Scholar te baze registriranih kliničkih studija, korištenjem ključnih riječi vezanih za temu rada. Prikupljeni relevantni znanstveni radovi detaljno su proučeni s obzirom na definirani znanstveni problem, protokol istraživanja, analizu rezultata i izvedene zaključke te su u radu sistematično prikazani i kritički procijenjeni.

## 4. RASPRAVA

Potencijalni blagotvorni učinci matične mliječi na ljudsko zdravlje te moguća primjena u prevenciji i liječenju različitih zdravstvena stanja u ljudi u proteklih su nekoliko desetaka godina zaintrigirali brojne znanstvenike, što je rezultiralo velikim brojem nekliničkih podataka o povoljnom djelovanju matične mliječi ili njenih pojedinih bioaktivnih sastavnica, te znatno manjem broju klinički provedenih istraživanja. U nastavku su prikazani i procijenjeni klinički dokazi djelotvornosti matične mliječi (Tablica 3).

### 4.1. Primjena matične mliječi kod onkoloških bolesnika

#### *Protutumorsko djelovanje*

Primjena matične mliječi popularna je i česta u onkoloških pacijenata, međutim dosad je objavljena samo nekolicina kliničkih studija koje su znanstveno vrednovale korist kod oboljelih od pojedine vrste raka.

Ohba i suradnici (60) klinički su procijenili utjecaj suplementacije MM na protutumorski učinak i nuspojave sunitiniba, lijeka iz skupine inhibitora tirozin kinaza, u pacijenata s rakom bubrežnih stanica. Randomizirana, kontrolirana, dvostruko slijepa klinička studija obuhvaćala je ukupno 23 bolesnika na terapiji sunitinibom, od kojih je 12 njih još primalo MM, a 11 placebo. Pacijenti su tretirani 3 mjeseca te im je svaka 2 tjedna vađena krv i analizirana serumska razina citokina (IL-6) i čimbenika rasta (transformirajući čimbenik rasta  $\beta$ , TGF- $\beta$  i čimbenik stimulacije kolonija makrofaga, MCSF). Ustanovljeno je da MM značajno smanjuje gubitak apetita, kao i da uzrokuje povećanje serumske razine MCSF te smanjenje TGF- $\beta$ . Nije uočena značajna razlika u drugim praćenim stanjima kao što su hipertenzija, sindrom šaka-stopalo i opći umor. Iako mali broj ispitanika predstavlja značajno ograničenje studije, dobiveni rezultati mogu biti korisni u razmatranju strategija liječenja bolesnika s rakom bubrega na terapiji sunitinibom.



Rezultati studije provedene na osobama oboljelim od uznapredovalog karcinoma bubrežnih stanica (RCC) ukazali su da oralno primjenjena MM poboljšava učinkovitost i sigurnost molekularno ciljane terapije. Utvrđeno je smanjenje serumskih razina tumorskog faktora nekroze (TNF- $\alpha$ ) i TGF- $\beta$ , za koje se smatra da imaju važnu ulogu u djelovanju MM te se nagađa da su takve promjene u korelaciji s pojačanim tumorskim odgovorom i suzbijanjem nuspojava liječenja. Matičnu mliječ uzimalo je 16 pacijenata, dok je njih 17 primalo placebo i predstavljalo kontrolnu skupinu. Osim povoljnog djelovanja na biokemijske markere, utvrđeno je i smanjenje veličine tumora kao i učestalosti anoreksije i umora u bolesnika koji su uzimali MM u odnosu na placebo skupinu. Zaključno, rezultati ove studije pokazuju da oralni unos MM poboljšava učinkovitost i sigurnost molekularno ciljane terapije u bolesnika s RCC te pozitivno utječe na oboljele smanjujući razine proupalnih citokina i faktora rasta te samu tumorsku masu, a ujedno i njihovo psihičko stanje (61).

Također, rezultati slične studije provedene na 33 bolesnika s karcinomom bubrežnih stanica liječenih inhibitorima tirozin kinaze (ITK), od kojih je njih 16 dodatno primalo još i MM, dok je 17 dobivalo placebo, ukazuju da je suplementacija MM smanjuje pojavu anoreksije i umora putem složenih mehanizama povezanih s čimbenicima upale, poput čimbenika stimuliranja kolonije makrofaga (engl. *macrophage colony stimulating factor*, M-CSF) i TGF- $\beta$ . Privremene promjene u razinama M-CSF, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  i IL-6 nakon unosa MM ovise o trajanju liječenja. Oralni unos MM poboljšao je protutumorsko djelovanje nakon tromjesečne terapije ITK. Ovo je prva studija koja pokazuje odnos između MM i M-CSF u fiziološkim i patološkim uvjetima. Autori su također otkrili da oralno primjenjena MM značajno povećava serumsku razinu M-CSF nakon kratkotrajnog liječenja (2 i 4 tjedna). Njihovi su rezultati pokazali da MM utječe na razinu TNF- $\alpha$  u serumu, koja je bila niža od one u placebo skupini između 6. i 12. tjedna, dok je razina TGF- $\beta$  u MM skupini bila viša od one u placebo skupini; međutim nakon 12 tjedana utvrđeno je suprotno. Iako su promjene u razinama M-CSF u serumu uzrokovane MM pozitivno povezane s onima IL-6, klinički značaj ove korelacije nije

jasan. Daljnja dugoročna ispitivanja na većem broju ispitanika potrebna su kako bi se razjasnio odnos između MM i simptoma kronične upale u bolesnika oboljelih od RCC (62).

### ***Utjecaj na neželjene učinke protutumorske terapije***

Primjena MM može povoljno utjecati na očuvanje kvalitete života i umanjiti neželjene učinke (nuspojave) protutumorskih lijekova kod onkoloških bolesnika (63). Oralni mukozitis vrlo je česta nuspojava kemoterapije i/ili radioterapije koja može smanjiti kvalitetu života ili stopu završetka terapije (64). U cilju procjene učinkovitosti MM u liječenju oralnog mukozitisa provedeno je kliničko ispitivanje u kojem su sudjelovala 103 onkološka bolesnika s različitim sijelima maligne bolesti koji su bili podvrgnuti kemo- i radioterapiji te imali 1., 2. ili 3. stupanj mukozitisa. Bolesnici su podijeljeni u 2 skupine i svi su tijekom ispitivanja primjenjivali terapiju za ispiranje usne šupljine koja se sastojala od benzidamin hidroklorida i nistatina. Ispitivana skupina dodatno je još primjenjivala MM dva puta dnevno u ukupnoj količini od 1 g, i to tako da su je ispitanici 30 sekundi mućkali u ustima i zatim progutali te 30 minuta nakon toga nisu niti jeli niti pili te nisu koristili nikakva druga sredstva za ublažavanje mukozitisa. U usporedbi s kontrolnom skupinom i ovisno o težine upale sluznice, cijeljenje je bilo značajno brže u ispitanika koji su tretirali usnu šupljinu MM (do 6,5 dana). U eksperimentalnoj je skupini kod ispitanika sa svim stupnjevima mukozitisa došlo do bržeg oporavka u odnosu na kontrolnu skupinu, što dokazuje da MM, u kombinaciji s protuupalnom i antifungalnom terapijom oralnog mukozitisa, poboljšava simptome mukozitisa i znatno skraćuje vrijeme zacjeljivanja te upućuje na zaključak da ovaj protokol njege i tretmana može biti koristan u liječenju ili prevenciji oralnog mukozitisa (65).

Yamaguchi i suradnici (66) također su proveli kliničko vrednovanje učinkovitosti MM u profilaksi oralnog i faringealnog mukozitisa izazvanog kemo- i radioterapijom. U ovom randomiziranom, jednostruko-slijepom, kliničkom ispitivanju, 13 pacijenata s rakom glave i vrata koji su zahtijevali kemoterapiju i zračenje nasumično je raspoređeno u dvije skupine. Sedam bolesnika raspoređenih u ispitivanu skupinu tijekom liječenja je lokalno 3 puta dnevno nanosilo količinu masti koja je odgovarala 3 g matične mliječi, dok je preostalih 6 bolesnika

činilo kontrolnu skupinu. Razvoj mukozitisa u obje skupine bolesnika procjenjivan je dva puta tjedno korištenjem sveobuhvatnog sustava ocjenjivanja za prijavu akutnih i kasnih učinaka onkološke terapije (engl. *common terminology criteria for adverse events*). Studija je pokazala da MM spriječava napredovanje mukozitisa od rane faze, a prosječno vrijeme napredovanja do mukozitisa 2. stupnja bilo je  $25,9 \pm 9,6$  dana u tretiranoj skupini u odnosu na  $19,0 \pm 4,1$  dana u kontrolnoj skupini. Prosječno vrijeme potrebno za napredak mukozitisa do stupnja 3 bilo je  $37,4 \pm 11,8$  dana u tretiranoj skupini u odnosu na  $31,0 \pm 5,8$  dana u kontrolnoj. Značajno smanjenje mukozitisa uočeno je među pacijentima liječenim MM u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $P < 0,001$ ). Po završetku zračenja, mukozitis stupnja 3 primijećen je u 71,4 % (5/7) pacijenata tretiranih MM i 100 % (6/6) onih u kontrolnoj skupini. Rezultati dokazuju da je profilaktička primjena MM učinkovita u smanjenju ubrzanog mukozitisa izazvanog kombinacijom kemoterapije i radioterapije u pacijenata s karcinomom glave i vrata. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja zbog malog broja ispitanika i izostanka dvostrukog zasljepljivanja.

Prethodno je izviješteno da MM suzbija i nuspojave uzrokovane inhibitorom tirozin kinaze (ITK) u bolesnika s karcinomom bubrežnih stanica. Araki i suradnici (67) istraživali su preventivne učinke profilaktičke primjene MM na nuspojave lijeka sunitiniba, s obzirom da je odgovarajuće zbrinjavanje tih nuspojava presudno za održavanje kvalitete života oboljelih. Istraživanje je trajalo 3 mjeseca i provedeno je na 33 bolesnika s uznapredovalim RCC liječenih sunitinibom, koji su 3 puta dnevno oralno uzimali kapsule s 800 mg MM, dok je kontrolna skupina primala placebo (800 mg škroba). Ova klinička studija je pokazala da je MM štiti od umora izazvanog ITK i anoreksije te je skratila vrijeme smanjenja ili prekida doze lijeka. Stoga autori zaključuju da je MM korisna za održavanje kvalitete života i primjene lijekova u bolesnika s karcinomom bubrežnih stanica liječenih inhibitorom tirozin kinaze (67). Ranije studije pokazale su da MM povećava zaštitu od hipertenzije, sindroma šake-stopala i supresije koštane srži, što su glavne nuspojave povezane s ITK (68, 69). Međutim, u već spomenutoj studiji Arakija i suradnika iz 2018. godine, primjena MM nije bila značajno

povezana s učestalošću i težinom hipertenzije, sindroma šake-stopala, oralnog mukozitisa, disgeuzije i oštećenja bubrega ili jetre (67). Rezultati nisu u suglasju s zaključcima Yamauchi i Erdem koji su zaključili da MM poboljšava oralni mukozitis u tretiranoj skupini (65, 66).

Klinički je ispitivana učinkovitost kombinirane primjene pčelinjeg meda i MM kao prirodnih produkata korištenih u cilju smanjenja nefrotoksičnosti cisplatina. Utvrđeno je da su se razine kreatinina i uree u serumu značajno povećale tijekom 1. i 2. ciklusa kemoterapije na bazi cisplatina u 32 pacijenta s rakom, ali i da je povećanje tih parametara povezanih s funkcijom bubrega smanjeno primjenom MM, iako nefroprotektivna aktivnost nije bila statistički značajna (70). Studija ima potencijalno važne implikacije na nuspojave cisplatina povezane s bubrezima i smatra se prvom koja je istražila ovaj učinak meda i MM u ljudi. Međutim, zbog male veličine uzorka, autori predlažu daljnje, opsežnije istraživanje.

Mofid i suradnici su dvostruko slijepim, randomiziranim kliničkim istraživanjem ustvrdili da prerađeni med i MM snažno utječu na poboljšanje simptoma umora koji je posljedica zloćudne bolesti te da se MM može smatrati učinkovitim modalitetom liječenja (71). Studija je provedena na 52 onkološka pacijenta prosječne starosti 55 godina. Ispitanici su podijeljeni u 2 skupine, od kojih je 26 ispitanika primalo obrađeni med s MM, dok je kontrolna skupina dobivala čisti med. Obje skupine su tijekom 4 tjedana svakodnevno uzimale po 5 mL pripravka, a umor u pacijenata procjenjen je nakon 2. i 4. tjedna pomoću dviju ocjenskih ljestvica (eng. *visual analogue fatigue scale*, VAFS, i *fatigue severity scale*, FSS). Utvrđeno je statistički značajno ( $p < 0,001$ ) poboljšanje simptoma u tretiranoj skupini u odnosu na placebo što upućuje na zaključak da korištenje prerađenog meda i MM smanjuje umor uzrokovan karcinomom te opravdavaju daljnja istraživanja u ovom području.

## 4.2. Primjena matične mliječi kod dijabetičkih bolesnika

Dijabetes tipa 2 najčešći je metabolički poremećaj u svijetu. Uzevši u obzir rezultate prethodnih istraživanja koja su pokazala da MM smanjuje razinu serumske glukoze i lipida u životinja i u zdravih ispitanika, znanstvenici su proveli dvostruko slijepo, placebo kontrolirano kliničko ispitivanje na 50 pacijenata s dijabetesom tipa 2. Sudionici su bili nasumično podijeljeni u dvije skupine i dobivali po 1000 mg matične mliječi ili placebo 3 puta dnevno tijekom 8 tjedana. Težina, visina, glukoza u krvi natašte, serumske razine apolipoproteina ApoA-I i ApoB izmjerene su na početku i u krajnjoj točki. Rezultati studije sugeriraju da unos MM povoljno utječe na serumsku razinu glukoze, koncentracije Apo-A-I i omjere ApoB / ApoA-I u oboljelih od dijabetesa tipa 2 (72).

Iransko istraživanje je pokazalo da MM može povoljno djelovati na oksidativni stres (eng. *total antioxidant capacity*, TAC) i inzulinsku rezistenciju (eng. *homeostatic model assessment of insulin resistance*, HOMA-IR) u bolesnika s dijabetesom. Shidfar i suradnici proveli su studiju na 46 ispitanika s dijabetesom tipa 2 starih 25-65 godina, s indeksom tjelesne mase (BMI) 20-30 kg/m<sup>2</sup> te vrijednostima glikoziliranog hemoglobina HbA1c 6–8%. Osmotjedna primjena MM u režimu 3 puta dnevno po 1000 mg rezultirala je povećanjem serumske vrijednosti TAC, u odnosu na placebo skupinu, što upućuje na korist primjene MM kod bolesti povezanih s oksidativnim stresom. Nedostatak studije je mali broj ispitanika i kratko trajanje, stoga su potrebna veća i duža istraživanja prije donošenja konačnih zaključaka (73).

Suplementacija matičnom mliječi utječe i na razinu glukoze u krvi mjerene natašte. U studiji provedenoj na 50 žena s dijabetesom tipa 2 ustanovljeno je da primjena MM rezultira značajnim smanjenjem srednje serumske razine glikoziliranog hemoglobina kao i povišenjem srednje koncentracije inzulina. Ispitanice se tijekom 8 tjedana svakodnevno uzimale 1000 mg MM ili placebo. Primjena MM je značajno povećala aktivnost eritrocitne superoksidaze dismutaze i glutation peroksidaze i smanjila razinu malondialdehida. Na kraju studije, prosječni ukupni antioksidativni kapacitet neznatno je porastao u obje skupine. Ipak, autori navode da su potrebne daljnje studije na većem uzorku ispitanika (74).

Mobasseri i sur. proveli su na 40 ispitanika istraživanje s ciljem da utvrde učinak svakodnevne primjene 10 g svježeg MM na glikemijski odgovor u oboljelih od dijabetesa tipa 2. Kod tretiranih pacijenata (n=20) i pacijenata u kontrolnoj skupini (n=20) utvrđeno je smanjenje srednje razine glukoze u serumu, međutim vrijednosti se nisu statistički značajno razlikovale. Jedan sat nakon uzimanja MM povećane su srednje koncentracije inzulina u serumu, a nakon 2 sata neznatno su smanjene. Koncentracije C-peptida značajno su povećane 1 i 2 sata nakon primjene MM, međutim u kontrolnoj je skupini u istom periodu utvrđeno blago, neznatno smanjenje. Štoviše, nije bilo značajne razlike ni u jednom od parametara glikemijske kontrole između obje praćene skupine. Rezultati studije upućuju na zaključak da MM nema značajan neposredni učinak na glikemijske čimbenike u bolesnika s dijabetesom tipa 2. Međutim, potrebne su daljnje studije na većem uzorku ispitanika i s različitim dozama MM kako bi se dobili potpuniji rezultati (75).

Rezultati kliničkih istraživanja vezanih za učinak MM na kontrolu tjelesne mase (TM) su kontradiktorni. Pourmoradian i sur. (76) proveli su randomiziranu kliničku studiju s 50 ispitanica s dijabetesom tipa 2, raspoređenih u ispitivanu (n=25) i kontrolnu skupinu (n=25). Eksperimentalna skupina dobivala je dnevnu dozu od 1000 mg mekog gela MM, a kontrolna skupina placebo, tijekom 8 tjedana. Prije i nakon intervencije mjerena je tjelesna masa (TM) i visina ispitanika te je izračunat indeks tjelesne mase. Prehrambeni unos pacijenata procijenjen je korištenjem 24-satnog upitnika o unosu hrane tijekom tri neuzastopna dana i analiziran softverom Nutritionist IV. Rezultati studije pokazuju da je MM značajno smanjila srednju TM ( $72,45 \pm 4,42$  vs.  $71,00 \pm 6,44$  kg), dok se srednja TM neznatno povećala u placebo skupini ( $73,02 \pm 6,44$  vs.  $73,52 \pm 6,80$  kg). Suplementacija MM rezultirala je značajnim smanjenjem prosječnog dnevnog ukupnog unosa energije i ugljikohidrata, dok su u placebo skupini prosječni dnevni unos ukupne energije i masti značajno povećani. Autori su smanjenje tjelesne mase u bolesnika s dijabetesom nakon primjene MM pripisali povećanom metabolizmu kisika i oksidativnoj fosforilaciji.

Dijabetički ulkus stopala glavni je čimbenik rizika za netraumatsku amputaciju donjih udova. Kao uvod u klinička ispitivanja na pacijentima s dijabetičkim ulkusima stopala, iranski znanstvenici Siavash i suradnici (77) proveli su pilot studiju na 25 pacijenta prosječne dobi 62 godine koji su bolovali od dijabetesa tipa 2 i imali višestruke ulkuse na stopalima (ukupno 64 ulkusa). Cilj studije bio je vrednovati učinkovitost lokalne primjene sterilne 5 %-tne MM nakon 3 mjeseca odnosno nakon ozdravljenja. Među praćenim parametrima zacjeljivanja, uključujući razinu smanjenja dubine, dužine i širine ulkusa, trajanje potpunog zacjeljivanja i učestalost potpunog zacjeljivanja, nisu utvrđene značajne razlike između tretirane i kontrolne skupine. U studiji nisu primijećene nikakve nuspojave topikalne primjene MM. Provedeno istraživanje nije potvrdilo značajniju učinkovitost 5 % lokalno primjenjene MM nad placebom u liječenje ulkusa na stopalima dijabetičara.

Pretpostavljajući da se eliminacijom štetnih lokalnih čimbenika koji proizlaze iz niske opskrbe tkiva kisikom, neučinkovitog metabolizmom i acidoze može umanjiti infekciju i pomoći u izlječenju, Yakoot i suradnici (78) klinički su vrednovali učinkovitost inovativnog lokalnog pripravka PEDYPHAR® (alkalna mast obogaćena regenerirajućim faktorima rasta matične mliječi) na rane u pacijenata s dijabetičkim stopalom. Prospektivna, randomizirana, kontrolirana, otvorena studija provedena je na 119 pacijenata koji su se javili u 3 ambulantne klinike u Egiptu. Pacijenti su podijeljeni u dvije skupine, one s blažim kliničkim simptomima – površinskim ulkusima (27/61 i 33/58) te s težim, za ekstremitete opasnim oblikom (34/61 i 25/58), te su tijekom 12 tjedana tretirani s PEDYPHAR® masti ili Panthenol masti (5 % dekspanthenol). Na mjeru primarnog ishoda (stopu ozdravljenja) u obje skupine utječe prirodni proces ozdravljenja tijekom vremena koji uvelike pridonosi zacjeljivanju površinskih ulkusa (klinička skupina težine 1) što objašnjava 100 %-tni uspjeh liječenja u obje tretirane skupine pacijenata s blažim oblikom bolesti. Stoga se usporedba učinkovitosti u potpunom izlječenju s višim stupnjevima težine (skupina kliničke težine 2) može smatrati osjetljivijom mjerom procjene učinkovitosti terapije u odnosu na kontrolnu skupinu. Nakon 12 tjedana ustanovljeno je da primjena PEDYPHAR® masti uzrokuje veću stopu potpunog zacjeljivanja

rana u ispitanika (11/34, 32,4 %), u odnosu na kontrolnu skupinu koja je rane tretirala s Panthenol masti (3/25, 12 %). Rezultati upućuju na učinkovitu i sigurnu primjenu ovog inovativnog pripravka na bazi MM namijenjenog lokalnoj terapiji rana.

### **4.3. Primjena matične mliječi i metabolički sindrom**

Metabolički sindrom je skupina metaboličkih poremećaja koji se očituju kao inzulinska rezistencija, hiperinzulinemija, nakupljanje masnog tkiva u području trbuha (abdominalna ili centralna pretilost), hiperlipidemija i hipertenzija. Svaki od navedenih rizičnih čimbenika povećava opasnost pojave bolesti srca i krvnih žila, moždanog udara i dijabetesa tipa 2. Proveden je manji broj istraživanja s ciljem kliničkog vrednovanja suplementacije MM na lipidni status pacijenata. Za razliku od nekoliko prethodno spomenutih studija koje su izvjestile o pozitivnom utjecaju suplementacije MM na povećanu tjelesnu masu, Guo i sur. ustvrdili su da unos 6 g MM ne uzrokuje značajne promjene tjelesne mase, masnog tkiva i opsega struka (79). Istraživanje je provedeno na 15 zdravih dobrovoljavca, 7 u ispitivanoj i 8 u kontrolnoj skupini, tijekom 4 tjedna. Nisu zabilježene značajne razlike u razini serumskog HDL-a niti triglicerida. Studija sugerira da primjena MM može smanjiti ukupni kolesterol smanjujući razinu VLDL-a, koji je poznati promotor aterogeneze. Autori su zaključili da MM pozitivno utječe na metabolizam lipoproteina, stoga bi mogla biti korisna u prevenciji bolesti povezanih s nezdravim načinom života.

Chiu i suradnici (80) su u randomiziranoj, placebo kontroliranoj studiji istraživali hipolipemijski učinak MM vrednujući antropometrička mjerenja, lipidni profil i razine različitih hormona u 40 zdravih ispitanika s blagom hiperkolesterolemijom. Ispitivana skupina uzimala je dnevno po 9 kapsula MM (350 mg/kapsula), a kontrolna je dobivala placebo (kukuruzni škrob). Intervencija s MM tijekom 3 mjeseca znatno je snizila razine ukupnog kolesterola i LDL-c te poboljšala razinu spolnog hormona dehidroepiandrosteron sulfata (DHEA-S) i tako ublažila rizik od kardiovaskularnih bolesti. Rezultati studije upućuju na hipokolesterolemijsko djelovanje MM te njenu korist u smanjenju kardiovaskularnog rizika. Potrebna su daljnja istraživanja mehanizma djelovanja MM u odnosu na sadržaj MRJP1 proteina.



U skladu s rezultatima prijašnjih studija (79, 80), istraživanje na odraslim asimptomatskim osobama s prekomjernom tjelesnom masom pokazalo je da je primjena MM istodobno značajno smanjuje razinu ukupnog i LDL kolesterola. Randomizirano, dvostruko slijepo, placebo kontrolirano istraživanje provedeno je na 60 ispitanika kako bi se procijenili učinci suplementacije MM na metabolički profil te oksidativne i upalne parametre kod asimptomatskih odraslih osoba s prekomjernom tjelesnom masom, praćenih u ranoj fazi razvoja metaboličkog sindroma. Dnevni unos 666 mg liofilizirane MM blagotvorno je utjecao na lipidni profil, upalu, oksidativni stres, negativno raspoloženje i sitost kod ispitanika. Međutim, autori su zaključili da su potrebna daljnja ispitivanja kako bi se utvrdilo potrebno trajanje i optimalne doze suplementacije MM (81).

Aterogeneza je proces stvaranja masnih naslaga (plaka) u stijenci arterija, što uzrokuje aterosklerozu koja vodi ka stanjenju i slabljenju elastičnosti arterijske stijenke, i posljedično do razvoja kardiovaskularnih oboljenja. MM bi mogla imati pozitivan učinak na smanjenje rizika od pojave aterogeneze, poboljšavajući funkciju vaskularnog endotela. Dvostruko slijepa, randomizirana klinička studija provedena je na 100 zdravih dobrovoljaca koji su svakodnevno uzimali po 690 mg MM (ekvivalentno 2040 mg svježe MM) ili placebo tijekom 4 tjedna. Procijenjeno je povećanje funkcije vaskularnog endotela na temelju promjene indeksa reaktivne hiperemije mjerene perifernom arterijskom tonometrijom (RH-PAT), a mjerene su i promjene u funkciji jetre i lipidnim profilima na početku i nakon 4-tjedne suplementacije MM odnosno placebo. Postotak relativne promjene RH-PAT indeksa bio je značajno veći u ispitivanoj skupini koja je primala MM u odnosu na kontrolnu skupinu. Postotak relativnih promjena alanin aminotransferaze i  $\gamma$ -glutamil transpeptidaze bio je značajno niži u MM-tretiranoj skupini u odnosu na kontrolnu. Međutim, lipidni profili nisu se značajno razlikovali između dvije skupine. Autori su zaključili da bi MM mogla imati antiaterogena svojstva poboljšavajući funkciju vaskularnog endotela te da njena primjena poboljšava funkcije jetre u zdravih osoba (82).

#### 4.4. Matična mliječ i žensko zdravlje

Žensko zdravlje je širok pojam koji obuhvaća fizičke i mentalne tegobe koje pogađaju isključivo žene, a velikim se dijelom odnosi na reproduktivno zdravlje. S obzirom da predmenstrualni sindrom negativno utječe na žensko zdravlje i ponekad zahtijeva terapiju, provedena je randomizirana, trostruko-slijepa, placebo kontrolirana studija na 110 studentica medicine u Iranu, s ciljem istraživanja učinkovitosti primjene MM. Dobiveni rezultati studije pokazali su da svakodnevna primjena 1000 mg matične mliječi tijekom 2 uzastopna menstruacijska ciklusa učinkovito smanjuje predmenstrualni sindrom (83).

MM se tradicionalno koristi za ublažavanje menopauzalnih tegoba. Potencijalna estrogena svojstva MM ispitivana su različitim pristupima te je ustanovljeno da se natječe s 17- $\beta$  estradiolom za vezanje za humane estrogene receptore alfa i beta, ali da djeluje slabije od fitoestrogena i dietilstilbestrola. Klinička studija provedena na 200 postmenopauzalnih žena u dobi od 45 do 65 godina pokazala je da je svakodnevna oralna primjena po 1000 mg MM tijekom 8 tjedana učinkovito ublažava simptome menopauze. Utvrđena je značajno niža ozbiljnost simptoma menopauze u tretiranoj skupini u odnosu na kontrolnu. Srednja vrijednost ocjene simptoma menopauze prije i nakon intervencije značajno se razlikovala. Međutim, prosječni rezultat menopauze nije se razlikovao među skupinama, stoga su potrebna daljnja istraživanja kako bi se potvrdili takvi učinci MM (84).

Studija koju su proveli Seyedi i sur. imala je za cilj vrednovati utjecaj vaginalno primijenjene MM i estrogena na kvalitetu života i problem vaginalne atrofije u žena u postmenopauzi (85). Dvostruko slijepo, randomizirano, kontrolirano kliničko ispitivanje uključivalo je 90 ispitanica u dobi 50-65 godina koje su tijekom 3 mjeseca koristile kremu s 15 % matične mliječi ili estrogenom (0,625 mg) ili placebo. Ustanovljeno je da MM poboljšava kvalitetu života žena, značajno bolje nego druga dva tretmana, no za razliku od estrogene kreme koja je najviše ublažila vaginalnu atrofiju, učinci MM i lubrikanta koji su koristile žene u kontrolnoj skupini nisu se značajno razlikovali. S obzirom na različita svojstva MM i njezin utjecaj na kvalitetu života i atrofiju rodnice u žena u postmenopauzi, potrebna su daljnja ispitivanja u svrhu

postizanja jednoznačnih zaključaka. Rezultati su u skladu s rezultatima druge studije iste skupine autora koja je pokazala da je vaginalno primijenjena matična mliječ ublažava urinarne i seksualne tegobe te poboljšava kvalitetu života žena u postmenopauzi (86).

Randomizirano, dvostruko slijepo kliničko istraživanje provedeno na 72 zdrave žene u postmenopauzi pokazalo je da primjena MM može ublažiti smanjenje mineralne gustoće bedrene kosti i poboljšati njenu snagu. Studija je provedena u Japanu, na ženama u dobi od 45-60 godina koje su unutar 5 godina u menopauzi, te su tijekom 6 mjeseci svakodnevno uzimale po 3 kapsule s 334 mg praška matične mliječi, što je odgovaralo ukupnoj dnevnoj količini od 3000 mg svježe MM, dok je kontrolna skupina primala placebo (87).

Prijelaz u menopauzu povezan je s kroničnim stanjima kao što su osteoporoza i kardiovaskularne bolesti, pa su grčki znanstvenici Lambrinoudaki i suradnici (88) ispitali učinak suplementacije MM na kardiovaskularne i koštane markere u klinički zdravih žena u postmenopauzi. Prospektivno kohortno istraživanje uključivalo je 36 sudionica koje su dnevno primale 150 mg MM te su im na početku i nakon 3-mjesečnog tretmana uspoređeni pokazatelji kardiovaskularnog rizika (profil lipida, antitrombin-III, proteini C i S, inhibitor aktivatora plazminogena-1) kao i parametri koštane pregradnje (ukupni kalcij, fosfat, parathormon, N-terminalni propeptid prokolagen tipa 1, osteokalcin i C-terminalni telopeptid kolagena tip I). Primjena MM rezultirala je značajnim povećanjem lipoproteina visoke gustoće (HDL-C, +7,7 %) te značajnim smanjenjem lipoproteina niske gustoće (LDL-C, - 4,1 %) kao i ukupnomg kolesterola (-3.09 %), dok za ostale praćene parametre nisu utvrđene statistički značajne promjene. Značajno poboljšanje lipidnog profila žena u postmenopauzi uslijed suplementacije MM ukazuje na njenu moguću primjenu u kontroli dislipidemije povezane s menopauzom.

#### 4.5. Matična mliječ i autoimune bolesti

Zahran i suradnici proveli su prvu studiju koja se bavila ispitivanjem imunomodulatornog učinka svježe MM na **sistemski eritemski lupus** (SLE) u ljudi. Ova otvorena studija uključivala je 20-ero djece sa SLE-om koji su svakodnevno tijekom 12 tjedana primali po 2 g svježe MM. Ustanovljeno je da suplementacija MM dovodi do poboljšanja pokazatelja kliničke težine bolesti i određenih laboratorijskih markera (CD4+ i CD8+ regulatorne T stanice i apoptoza T limfocita). Iako obećavajući, rezultati dobiveni u samo jednoj studiji i na malom broju pacijenata ukazuju na potrebu za opsežnijim, randomiziranim, kontroliranim studijama kako bi se kritički procjenila učinkovitost MM u liječenju SLE (89).

Kronične bolesti čest smanjuju kvalitetu života pacijenata, baš poput **multiple skleroze** (MS) koja dovodi i do tjelesnog invaliditeta. Neki od najvažnijih terapijskih ciljeva kod oboljelih od MS-a su sprečavanje mišićne slabosti te smanjenja svakodnevnih aktivnosti kao i poboljšanje kvalitete života. Randomizirana klinička studija provedena u Iranu na 100 osoba oboljelih od MS pokazala je da primjena dodataka prehrani s MM može biti učinkovita u poboljšanju kvalitete života. Eksperimentalna skupina je tijekom 90 dana svakodnevno pod nadzorom neurologa dobivala kapsulu od 500 mg MM, a kontrolna skupina placebo. Zaključeno je da MM jača imunosti sustav i poboljšava zdravstveno stanje oboljelih (90).

**Reumatoidni artritis** je kronična, upalna, sistemska autoimuna bolest. Mobedi i sur. proveli su randomiziranu, dvostruko slijepu, placebom kontroliranu studiju na 65 ispitanika kako bi procijenili utjecaj suplementacije MM na oboljele od te bolesti. Rezultati 3-mjesečnog tretmana MM pokazali su značajno smanjenje jutarnje ukočenosti zglobova i poboljšanja aktivnosti oboljelih u odnosu na pacijente u kontrolnoj skupini (91). Pretklinička istraživanja sugeriraju da 10-hidroksi-2-decenska kiselina iz MM ima potencijalnu terapijsku vrijednost u sprječavanju razaranja zglobova karakterističnog za reumatoidni artritis (43).

#### 4.6. Utjecaj suplementacije na sportaše i starije zdrave osobe

Saritas i suradnici proveli su istraživanje utjecaja suplementacije MM na biokemijske parametre kod **plivača**. Studija je uključivala 40 nasumično izabranih, mladih plivača u dobi od 18 do 25 godina, s istom vrstom treninga, te su im izmjereni tjelesna visina, masa i sastav tijela. Ispitanici su podijeljeni u 3 eksperimentalne i jednu kontrolnu skupinu te su primali različite doze (500 mg ili 1 ili 2 g dnevno) kapsulirane MM, odnosno kukuruzni škrob kao placebo, 20-30 minuta prije doručka tijekom 4 tjedna. Trenirali su plivanje 5 dana u tjednu po 20 km u trajanju od 2 sata. Usporedbom biokemijskih parametara (glukoza, ukupni kolesterol, HDL, LDL, laktat dehidrogenaza, kreatin kinaza, aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza i urea nitrat) iz krvnih uzoraka plivača prije i 30 dana nakon unosa MM nije ustanovljen statistički značajan učinak MM. Također, nisu ustanovljene značajne promjene u tjelesnoj masi, indeksu tjelesne mase i postotku masnog tkiva između plivača u kontrolnoj i eksperimentalnim skupinama prije i nakon vježbanja (92).

Suprotno gore navedenim rezultatima, studija u kojoj je vrednovan utjecaj suplementacije MM u mladim **nogometaša** rezultirala je značajnim povećanjem tjelesne visine i mase te mišićne komponente, kao i značajnim smanjenjem masnog tkiva (93). Istraživanje je provedeno na 25 nogometaša starih 12 godina, od kojih je 15 njih uzimalo MM 5 puta tjedno tijekom 2 mjeseca uz redovite treninge 4 puta tjedno, dok je ostalih 10 činilo kontrolnu skupinu. Također je ustanovljen statistički značajan porast opsega iznad koljena i opsega potkoljenice u eksperimentalnoj skupini na kraju eksperimentalnog tretmana. Rezultati govore u prilog dviju starijih studija koje su istaknule pozitivan utjecaj matične mliječi na tijelo nogometaša te poboljšanje rasta i razvoja tijela (93). Osim malog broja ispitanika, glavni nedostatak studije je potpuni nedostatak podataka o vrsti, dozi i sastavu primjenjene MM.

Ispitivani su i učinci MM na razvoj mišića i hipertrofiju mišića u zdravih muških pušača podvrgnutih **treningu za inspiratorne mišiće**. U studiju je bilo uključeno ukupno 40 muškaraca u dobi između 20 i 22 godine, podijeljenih u 4 grupe: kontrolnu skupinu (prirodno

sjedilačkog tipa), skupinu koja je suplementirana MM, skupina koja je imala inspiratorni mišićni trening (IMT) te skupina koja je imala IMT i suplementirana je s MM. Suplementirane skupine dobivale su 1000 mg MM svako jutro između 8 i 10 sati kroz 4 tjedna. Istraživanje je pokazalo da dodatak MM utječe na mehanizam energetskog sustava, povećavajući razinu LDH, kreatin kinaze (CK) i hormona testosterona te da trening inspiratornih mišića utječe na vrijednosti LDH, CK i kortizola (94).

Morita i suradnici (95) proveli su randomizirano, placebom kontrolirano, dvostruko slijepo ispitivanje s ciljem da procijene učinke dugotrajnog uzimanja matične mliječi. U studiju je bio uključen 61 **zdrav dobrovoljac** u dobi od 42 do 83 godine koji su nasumično podijeljeni u skupinu koja je primala MM (n = 31) i kontrolnu skupinu (n = 30). Ispitanici su u 100 mL tekućine svakodnevno tijekom 6 mjeseci primali 3000 mg MM ili placebo. Ustanovljene su statistički značajne razlike između dviju skupina u broju crvenih krvnih stanica, hematokritu, razini glukoze u plazmi natašte, inzulinogenom indeksu, razini dehidroepiandrosteron sulfata, testosterona i njihovom omjeru kao i mentalnom zdravlju. Studija je pokazala da je 6-mjesečna suplementacija MM kod zdravih osoba poboljšava niz zdravstvenih pokazatelja, poput procesa proizvodnje crvenih krvnih stanica, tolerancije na glukozu i mentalnog stanja te poboljšava kvalitetu života ispitanika. Studija upućuje na to da MM također može modulirati spolne hormone u ljudi. Dehidroepiandrosteron sulfat (DHEA-S), koji opada tijekom normalnog starenja, može poslužiti kao potencijalni biljeg dugovječnosti. Kod muškaraca s višim serumskim razinama DHEA-S uočen je dulji životni vijek u baltimorskom longitudinalnom istraživanju starenja (96). U istraživanju provedenom na 40 ispitanika s blagom hiperkolesterolemijom, koji su svakodnevno tijekom 3 mjeseca uzimali po 9 kapsula MM (350 mg MM/kapsuli), također je pored ostalih učinaka uočeno značajno poboljšanje koncentracije spolnog hormona dehidroepiandrosteron sulfata (DHEA-S) (80).

Rezultati istraživanja o utjecaju proteazama-obrađene MM (pMM) na mišićnu snagu **starijih osoba** koje su Meng i sur. objavili 2017. godine govore da unos matične mliječi tijekom 3 mjeseca nije značajno utjecao na fizičku snagu starijih osoba i njihove svakodnevne

aktivnosti. Studija je provedena na 163 starije osobe u domu za starije i nemoćne kroz godinu dana. Ispitanici su podijeljeni u 3 skupine od kojih je jedna primala placebo, druga 1,2 g pMM/dan, a treća 4,8 g pMM/dan. Rezultati studije sugeriraju da se primjena pMM možda neće poboljšati mišićnu snagu kod starijih osoba, ali može umanjiti progresiju smanjenja. Autori nisu ustanovili da intervencija pMM može postići poboljšanje ili umanjiti smanjenje tjelesnih performansi (97).

#### **4.7. Ostali učinci primjene matične mliječi**

##### ***Učinak na kožu***

Provedena je kliničko ispitivanje djelotvornosti kreme s vazelinom i glicerolom koja je kao aktivnu tvar sadržavala 0,01 % hidroksidecina<sup>®</sup>, sintetskog analoga 10-hidroksi-2-decenske kiseline iz matične mliječi. Ova neintervencijska studija uključivala je 10 dobrovoljaca starosti 25-42 godina, sa zdravom kožom fototipa II i IIIa, koji nisu primjenjivali nikakve topikalne pripravke niti se sunčali mjesec dana prije praćenja. Studija je trajala 5 tjedana, obuhvaćajući 12-dnevni period induciranja kseroze UV-zračenjem te 3-tjedno trajanje primjene/neprijemne kreme. Krema (2 mg/cm<sup>2</sup>) je nanošena dvaput dnevno, na jedno od dva ozračena kserotična područja, dok je drugo služilo kao netretirana kontrola. Na tretiranim je područjima nakon 7 dana indeks hidratacije povećan za +28,8 %, odnosno za +60,4 % nakon 21 dana, što dokazuje da hidroksidecin<sup>®</sup> *in vivo* hidratizira suhu kožu. Pretklinički rezultati ukazali su na njegovu sposobnost poticanja diferencijacije keratinocita i obnavljanja funkcije kožne barijere kao i smanjenja upale *ex vivo* (98).

##### ***Učinak na alergiju***

Andersen i suradnici (99) proveli su istraživanje s ciljem da procijene utječe li primjena MM na razvoj alergijskih simptoma u djece s alergijom na pelud. U placebo kontroliranoj, dvostruko slijepoj, randomiziranoj studiji sudjelovalo je 80-ero djece u dobi od 5 do 16 godina sa simptomima peludne groznice uzrokovane brezom, travom i/ili pelinom. Ispitanici su

uzimali MM ili placebo 3-6 mjeseci, prije i tijekom sezone peludi. Svi su pacijenti u obje skupine, ispitivanoj i kontrolnoj, tijekom sezone peludi razvili podjednako jake simptome peludne groznice, rinitis i konjuktivitis, te pokazali potrebu za dodatnim liječenjem. Ustanovljeno je da suplementacija MM ne utječe na pojavu peludne groznice u sezoni peludi, niti mijenja težinu razvijenih simptoma.

### ***Učinak na suho oko***

Bolest suhog oka je multifaktorska bolest koju karakteriziraju očne nelagode, umor i smetnje vida. Nastavno na obećavajuće rezultate dobivene na animalnom modelu suhog oka koji su pokazali da MM može ponovno potaknuti izlučivanje suza, Inoue i suradnici (100) proveli su prospektivnu, randomiziranu, dvostruko slijepu, placebo kontroliranu studiju na 43 japanska pacijenta u dobi od 20 do 60 godina sa subjektivnim simptomima suhog oka. Ispitanici su tijekom 8 tjedana svakodnevno uzimali 6 tableta koje su sadržavale po 1200 mg MM (400 mg enzimima obrađene, što odgovara 1200 mg sirove), dok je kontrolna skupina dobivala placebo. Matična mliječ tretirana enzimima standardizirana je na sadržaj najmanje 3,5 % (E)-10-hidroksi-2-decenske kiseline i najmanje 0,6 % 10-hidroksidekanske kiseline. Učinak je procijenjen na temelju rezultata praćenja objektivnih pokazatelja suhog oka (oštećenje epitela keratokonjunktive, vrijeme raspadanja suznog filma, volumen izlučivanja suza, izlučivanja Meibomovih žlijezda, biokemijski parametri) i subjektivnih simptoma suhog oka na temelju upitnika ispitanika, prikupljenih na početku ispitivanja te nakon 4. i 8. tjedna intervencije. Dokazano je da oralno primijenjena MM sigurno i učinkovito povećava volumen suza u osoba sa simptomima suhog oka. Ova je studija imala nekoliko ograničenja: 1) kratko razdoblje istraživanja, koje je moglo biti potencijalni razlog za izostanak poboljšanja simptoma suhog oka; 2) veličina uzorka je možda bila premala, a razdoblje istraživanja prekratko da bi više praćenih parametara postiglo statističku značajnost, međutim optimalna veličina uzorka i razdoblje istraživanja za određivanje poboljšanja površine oka nisu poznati; 3) pacijenti su imali subjektivne simptome, prikladniji bi bili oni sa suhim okom uzrokovanim manjkom vode. S obzirom na aktualnu, sve veću izloženost elektroničkim vizualnim



zaslonima, kao što su pametni telefoni i prijenosne igrice, osobe svih životnih dobi pod povećanim su rizikom od razvoja sindroma suhog oka koji pogađa sve veći broj pacijenata, a trenutno liječenje ograničeno je samo na pomoćne mjere poput primjene kapi za oči i punktalnih čepića. Standardizirani, oralni pripravak MM oblikovan u obliku kapsula pokazao je obećavajući terapijski potencijal no za postizanje dovoljne snage dokaza potrebne su daljnje studije s duljim razdobljima praćenja i većim uzorkom.

### ***Učinak na mušku neplodnost***

Egipatski znanstvenici proveli su unakrsnu studiju na 99 parova pogođenih astenozoospermijom s ciljem da procijene učinkovitost intravaginalne primjena smjese egipatskog pčelinjeg meda i MM u sredini ciklusa u svrhu liječenja neplodnosti. Ispitanice su koristile smjesu 100 g pčelinjeg meda pomiješanog s 3 g MM i 1 čajne žličice pčelinjeg kruha razrijeđene u fiziološkoj otopini te ju aplicirale intravaginalno prije ili nakon spolnog odnosa, počevši 1 dan nakon zadnje menstruacije. Protokol je ponavljan 2 tjedna. Ukupno su analizirana 553 ciklusa, tijekom kojih su zabilježene 23 (8,1%) trudnoće po ciklusu u parova tretiranih pčelinjim proizvodima u odnosu na 7 (2,6%) trudnoća u parova podvrgnutih standardnoj intrauterinoj inseminaciji. Ishod studije pokazuje da bi intravaginalna primjena smjese egipatskog meda i MM mogla poslužiti kao jednostavna i djelotvorna metoda liječenja astenozoospermije (101).

### ***Učinak na dobroćudnu hiperplaziju prostate***

Pajovic i suradnici (102) dokazali su pozitivan utjecaj tromjesečne terapije MM na bolesnike s novodijagnosticiranom dobroćudnom hiperplazijom prostate, koji nisu uzimali nikakvu drugu terapiju. Otvorena, pilot studija uključivala je 40 muških ispitanika, starih prosječno 68,5 godina, s vrijednostima prostata-specifičnog antigena (PSA) većim od 5. Pacijenti su svakodnevno uzimali po 38 mg smrznute svježe MM te su nakon 1. i 3. mjeseca terapije kod njih mjereni sljedeći parametri: razina PSA, volumen prostate i volumen tranzicijske zone prostate, volumen zaostalog urina nakon mokrenja (PVR) i međunarodni indeks simptoma

prostata (IPSS). Rezultati su pokazali da primjena MM dovodi do smanjenja razine PSA, krvnog markera hiperplazije prostate te poboljšava kvalitetu života pacijenata, dok na ostale praćene parametre nije utvrđen utjecaj. U usporedbi s najčešćom fitoterapijskom terapijom (ekstrakt vrste *Serenoa repens*) i konvencionalnom terapijom, MM je pokazala slično pozitivno djelovanje na kvalitetu života bolesnika, no i značajno bolji učinak na smanjenje razine PSA te nisu zamijećene nuspojave tijekom primjene. S obzirom da je MM značajno smanjila razinu PSA, bez promjene drugih pokazatelja zdravlja prostate, ova studija upućuje na to da je važno isključiti prisutnost raka prostate prije njene dugotrajne primjene kako bi se izbjegao rizik prikrivanja rezultata probira za rak pomoću PSA testa. Ova studija je imala nekoliko ograničenja – provedena je na malom uzorku bolesnika, nije uključivala kontrolnu skupinu tretiranu placeboom kao ni razdoblje praćenja pacijenata nakon lijećenja. Autori su izostanak kontrolne skupine obrazložili nemogućnošću formulacije placeba s obzirom na karakterističan okus i miris MM.

Tablica 3. Usporedni sažeti pregled kliničkih istraživanja učinkovitosti primjene matične mliječi (MM)

Dijagnoza/status ispitanika	Učinak	Broj ispitanika	Doza i vrsta pripravka MM	Trajanje primjene	Ref.
<b>Tumor</b>	Smanjenje učestalosti <b>gubitka apetita</b> u bolesnika s rakom bubrega na terapiji sunitinibom	23 (12 ispitivana, 11 placebo)	Podatak nije dostupan	3 mjeseca	60
	Smanjena veličina tumora te učestalost <b>anoreksije i umora</b> , poboljšana učinkovitost i sigurnost molekularno ciljane terapije u bolesnika s karcinomom bubrežnih stanica i njihovo psihičko stanje	33 (16 ispitivana, 17 kontrolna)	3600 mg/dan (4x900 mg/dan, kapsule)	3 mjeseca	61
	Smanjenje <b>anoreksije i umora</b> putem složenih mehanizama povezanih s čimbenicima upale u bolesnika s karcinomom bubrežnih stanica liječenih inhibitorima tirozin kinaze	33 (16 ispitivana, 17 kontrolna)	3600 mg/dan (4x900 mg/dan, kapsule)	3 mjeseca	62
	Poboljšanje <b>mukozitisa</b> i skraćivanje vremena zacjeljivanja u bolesnika na kemo/radioterapiji	103	1000 mg/dan (tekući pripravak)	tijekom liječenja, do zacjeljivanja	65
	Profilaktička primjena smanjuje <b>mukozitis</b> izazvan kombinacijom kemo- i radioterapije u oboljelih s karcinomom glave i vrata	13 (7 ispitivana, 6 kontrolna)	3000 mg/dan, mast za lokalnu primjenu	za vrijeme liječenja	66
	Smanjenje <b>umora i anoreksije</b> te skraćivanje vremena smanjenja ili prekida terapijske doze TKI-a	33	2400 mg/dan (kapsule)	3 mjeseca	67
	Smanjenje <b>nefrotoksičnosti</b> cisplatine u bolesnika s rakom liječenih kemoterapijom na bazi cisplatina, nije statistički značajna	32	2 kapsule MM/dan	tijekom kemoterapije	70
	Poboljšanje simptoma <b>umora</b> uzrokovanog zloćudnom bolesti	52 (26 ispitivana, 26 kontrolna)	5 ml/dan MM u smjesi s medom	4 tjedna	71
<b>Dijabetes tipa 2</b>	Povoljan utjecaj na <b>serumsku razinu glukoze</b> , koncentracije Apo-A-I i omjere ApoB / ApoA-I u	50	3000 mg/dan	8 tjedana	72

	oboljelih				
	Povoljan učinak na serumske parametre oksidativnog stresa (porast ukupnog antioksidativnog kapaciteta) i <b>inzulinsku rezistenciju</b>	46	3000 mg/dan (3x1000 mg/dan)	8 tjedana	73
	Smanjenje <b>prosječne razine glukoze u krvi</b> natašte i oksidativnog stresa u žena	50	1000 mg/dan	8 tjedana	74
	Nema značajnih učinaka na glikemijske čimbenike u oboljelih	40	10 g svježe MM	jednokratno	75
	Smanjenje prosječnog dnevnog unosa ukupne energije i ugljikohidrata	50 (25 ispitivana, 25 kontrolna)	1000 mg /dan (meki gel)	8 tjedana	76
	Nema učinka na liječenje dijabetičkog stopala	25	5 % topikalni pripravak MM	3xtjedno, 12 tjedana/do zarastanja	77
	Povećanje stope potpunog zacjeljivanja rana dijabetičkog stopala	119	PEDYPHAR® mast (s faktorima rasta MM)	12 tjedana	78
<b>Metabolički sindrom</b>	Nema značajne promjene tjelesne mase, smanjenje ukupnog kolesterola smanjenjem VLDL-a u zdravih volontera	15	6000 g/dan	4 tjedna	79
	Smanjenje razine ukupnog kolesterola i LDL-a u zdravih ispitanika s blagom hiperkolesterolemijom	40	3150 mg/dan (9 kapsula po 350 mg)	3 mjeseca	80
	Smanjenje ukupnog kolesterola i LDL-a, smanjenje upale (CRP markera i povećanje protuupalnog adiponektina) i oksidativnog stresa, negativnog raspoloženja i apetita, bez utjecaja na trigliceride i HDL-a te tjelesnu masu i količinu masnog tkiva u asimptomatskih osoba s prekomjernom tjelesnom masom u dobi 25-50 g.	60	666 mg/dan (2 kapsule s 333 mg organske liofilizirane MM, standardizirane na min. 4% 10-HDA, što odgovara 1000 mg svježe)	8 tjedana	81
	Antiaterogena svojstva temeljena na poboljšanju funkcije vaskularnog endotela te poboljšanoj funkciji jetre u zdravih osoba	100	690 mg MM (tablete, ekvivalent 2040 mg svježe MM/dan)	4 tjedna	82

<b>Ženske tegobe – PMS, menopauza</b>	Smanjenje simptoma predmenstrualnog sindroma ( <b>PMS-a</b> ) u studentica	110	1000 mg/dan (kapsula)	8 tjedana	83
	Ublažavanje simptoma <b>menopauze</b>	200	1000 mg/dan	8 tjedana	84
	Poboljšanje kvalitete života, no bez značajnog utjecaja na vaginalnu atrofiju u <b>postmenopauzalnih</b> žena u dobi 50-65 g.	90	krema s 15 % MM za vaginalnu primjenu	3 mjeseca	85
	Poboljšanje urinarnih i seksualnih tegoba te kvalitetu života u <b>postmenopauzalnih</b> žena u dobi 50-65 g.	90	krema s 15 % MM za vaginalnu primjenu	3 mjeseca	86
	Usporavanje gubitka mineralne gustoće kostiju u žena u <b>menopauzi</b>	72	3000 mg/dan	6 mjeseci	87
	Poboljšanje lipidnog profila u zdravih žena u <b>postmenopauzi</b>	36	150 mg/dan	3 mjeseca	88
	<b>Autoimuna bolest</b>	Imunomodulatorni učinak MM kod djece oboljele od <b>sistemskog eritemskog lupusa</b>	20	2000 mg/dan svježe MM	12 tjedana
<b>Zdravi sportaši</b>	Jačanje imunskog sustava i poboljšanje stanja oboljelih od <b>multiple skleroze</b>	100	500 mg/dan (kapsula)	90 dana	90
	Smanjenje jutarnje ukočenosti zglobova u oboljelih od <b>reumatoidnog artritisa</b>	65	nedostupan podatak	3 mjeseca	91
	Nema značajnih utjecaja na biokemijske parametre <b>plivača</b>	40	500 mg, 1000 mg i 2000 mg /dan (kapsule)	4 tjedna	92
<b>Zdrave osobe</b>	Porast tjelesne visine, mase te mišićnog i koštanog tkiva u mladih <b>nogometaša od 12 g.</b>	25	5 x tjedno (nepoznat oblik i doza)	2 mjeseca	93
	Utjecaj na mehanizam energetskog sustava povećavajući razinu laktat dehidrogenaze, kreatin kinaze i hormona testosterona u muškaraca pušača u dobi od 20 do 22 godine	40	1000 mg/dan	4 tjedna	94
	Poboljšanje proizvodnje crvenih krvnih stanica, tolerancije na glukozu i mentalno stanje te <b>poboljšanje kvalitete života</b> zdravih ispitanika	61	3000 mg/dan	6 mjeseci	95

	Poboljšanje koncentracije spolnih hormona poput DHEA-S (dehidroepiandrosteron-sulfat, nadbubrežna žlijezda) u ispitanika s blagom hiperkolesterolemijom	40	3150 mg/dan (9 kapsula po 350mg/dan)	3 mjeseca	96
<b>Starije osobe</b>	Smanjenje progresije gubitka mišićne mase u starijih osoba	163	1200 mg i 4800 mg pMM/da (proteazama-obrađena)	3 mjeseca	97
<b>Suha koža</b>	Hidratizacija kože s UV zračenjem-induciranom kserozom u ispitanika sa zdravom kožom	10	krema s 0,01% hidroksidecina®, sintetskog analoga 10-hidroksi-2-decenske kis.	3 tjedna	98
<b>Peludna alergija</b>	Nema utjecaja na pojavu peludne groznice u sezoni peludi u djece stare između 5 i 16 godina	80	MM (podatak o količini nije dostupan)	3-6 mj. prije i tijekom sezone peludi	99
<b>Suho oko</b>	Povećanje volumena suza u osoba sa simptomima suhog oka	43	7200 mg/dan (6 tableta po 1200 mg), stan. min 3,5% 10-HDA	8 tjedana	100
<b>Muška neplodnost</b>	Povećanje broja trudnoća kod parova s dijagnozom <b>astenozoospermije</b>	99 parova (553 menstruacijska ciklusa)	3000 mg/dan u smjesi s egipatskim medom i pčelinjim kruhom, intravaginalno prije ili nakon spolnog odnosa	2 tjedna	101
<b>Dobročudna hiperplazija prostate</b>	Smanjenje razine PSA u muškaraca s benignom <b>hiperplazijom prostate</b>	40 (bez kontrolne skupine)	38 mg/dan, smrznuta svježe MM	3 mjeseca	102

#### **4.8. Sigurnosni profil matične mliječi**

Iako je primjena matične mliječi vrlo raširena i koristi se za brojna stanja u odraslih, ali i djece, važno je informirati o mogućim nuspojavama i oprezu prilikom korištenja ovog prirodnog pčelinjeg proizvoda.

Još su Takahashi i sur. (103) istaknuli pojavu alergijskog kontaktnog dermatitisa uzrokovanog matičnom mliječi u pacijenata koji su na nju osjetljivi. Pokazalo se da u pojedinih ljudi (prethodno senzibiliziranih biljkama porodice Asteraceae) može izazvati i teške sistemske reakcije - anafilaksiju i generaliziranu urtikariju/angioedem, zbog prisutnosti brojnih proteina. Ograničena je i mogućnost njene primjene kod stanja kao što su kriza bronhijalne astme, Adisonova bolest, akutne zarazne bolesti i bolesti nadbubrežne žljezde te tumor u akutnoj fazi. Istraživanje provedeno na gotovo 1500 bolničkih zaposlenika pokazalo je da je gotovo trećina njih tijekom života uzimala MM, a nuspojave je primjetilo samo njih 9, a radilo se o urtikariji, ekcemu, rinitisu i akutnoj astmi (23, 104, 105).

Najnovija studija također ističe alergiju kao zabrinjavajući problem koji se veže uz primjenu MM, i to posebno u bolesnika s atopijskim dermatitisom (AD) i astmom. U nekim slučajevima se alergijske reakcije javljaju nakon prvog uzimanja MM, što ukazuje na postojanje alergena koji križno reagiraju s njom. Analizirajući uzorke seruma 30 AD pacijenata koji nikada nisu bili izloženi MM, Hata i suradnici (106) su dokazali da MM uzrokuje alergijske simptome kod osoba koje pate od alergija putem svoje unakrsne reakcije s uzročnim alergenima, osobito alergenima grinja i drugih artropoda, iako su uobičajeni epitopi i dalje nejasni. Stoga osobe s poviješću alergijskih bolesti kao što su AD, astma ili alergijski rinitis trebaju biti oprezne pri uzimanju preparata matične mliječi kako bi se osigurala njihova sigurna i učinkovita primjena.

## 5. ZAKLJUČAK

Matična mliječ je visokovrijedni pčelinji proizvod koji je danas vrlo cijenjen i popularan sastojak farmaceutskih, prehrambenih i kozmetičkih proizvoda dostupnih na svjetskom tržištu. Zbog duge tradicije primjene u prevenciji i liječenju različitih bolesti kao i brojnih bioloških i farmakoloških učinaka dokazanih nekliničkim znanstvenim istraživanjima, često joj se pripisuju moćna terapijska svojstva. Biološke i farmakološke funkcije matične mliječi i njena potencijalna primjena bili su predmetom velikog broja istraživanja na *in vivo* i *in vitro* eksperimentalnim modelima, no znatno manjeg broja kliničkih studija kojima su znanstvenici nastojali procijeniti učinkovitost njene oralne ili lokalne primjene u oboljelih ili zdravih osoba. Utjecaj primjene matične mliječi na onkološke bolesnike, osobe oboljele od dijabetesa tipa 2, ispitanike s metaboličkim sindromom, pacijente s autoimunim bolestima, muškarce s hiperplazijom prostate, žene s predmenstrualnim sindromom i menopauzalnim tegobama, ali i utjecaj njene primjene na fizičko i mentalno stanje zdravih osoba i sportaša klinički su vrednovani u 40-tak studija obuhvaćenih ovim radom. Najveći broj kliničkih ispitivanja bavio se utjecajem suplementacije na oboljele od dijabetesa tipa 2 i onkološke pacijente, ali i utjecajem na ispitanike s metaboličkim sindromom te na zdravlje žena. Matična mliječ je u studijama primjenjivana u širokom rasponu, od 38 mg pa sve do 10 g, no najčešće je dnevna oralna doza iznosila 1000 - 3000 mg, a suplementacija trajala 2-3 mjeseca. Analiza dosadašnjih istraživanja kliničke učinkovitosti matične mliječi ukazuje na nehomogenost rezultata i mali broj studija provedenih uglavnom na malom broju ispitanika, tako da za svaku od indikacija još uvijek ne postoji dovoljna snaga dokaza koja bi nedvojbeno potvrdila preventivne i/ili terapijske učinke matične mliječi.

Uzevši u obzir globalni rastući trend uporabe prirodnih produkata u prevenciji i liječenju bolesti, usvajanje novih znanja o matičnoj mliječi i mogućnostima njene primjene temeljene na dostupnim kliničkim studijama doprinosi podizanju stručnih kompetencija nutricionista, ljekarnika, liječnika i drugih zdravstvenih djelatnika u cilju kvalitetnijeg savjetovanja pacijenata te također može biti koristan za usmjeravanje budućih kliničkih istraživanja.



## 6. LITERATURA

1. Melliou E, i Chinou I. Chemistry and bioactivities of royal jelly. U: ur-Rahman A. ur. Studies in natural products chemistry. Elsevier, 2014;43:261-290.
2. Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. Microb Res 2016;192:130–141.
3. Collazo N, Carpena M, Nuñez-Estevez B, Otero P, Simal-Gandara J, Prieto MA. Health promoting properties of bee royal jelly: food of the queens. Nutrients 2021;13:543.
4. Ahmad S, Campos MG, Fratini F, Altaye SZ, Li J. New Insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. Int J Mol Sci 2020;21:382.
5. Pasupulet VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: A comprehensive review of their biological actions and health benefits. Oxid Med Cell Longev 2017;2017:1259510.
6. Kunugi H, Mohammed Ali A. Royal jelly and its components promote healthy aging and longevity: from animal models to humans. Int J Mol Sci 2019;20: 4662.
7. Guo J, Wang Z, Chen Y i sur. Active components and biological functions of royal jelly. J Funct Foods 2021;82:104514.
8. Kanelis D, Tananaki C, Liolios V i sur. A suggestion for royal jelly specifications. Arh Hig Rada Toksikol 2015;66(4):275–284.
9. Garcia-Amoedo LH, de Almeida-Muradian LB. Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. Quim Nova 2007;30(2): 257-259.
10. Nabas Z, Haddadin MSY, Haddadin J, Nazer IK. Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. Polish J Food Nutr Sci 2014;64(3):171–180.
11. Kolayli S, Sahin H, Can Z, Yildiz O, Malkoc M, Asadov A. A member of complementary medicinal food: Anatolian royal jellies, their chemical compositions, and antioxidant properties. J Evid Based Complementary Altern Med 2016;21(4):43–48.
12. Oršolić N. Učinkovitost biološki aktivnih sastavnica matične mliječi: analiza i standardizacija. Arh Hig Rada Toksikol 2013;64(3):445-461.
13. Schonleben S, Sickmann A, Mueller MJ, Reinders J. Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. Anal Bioanal Chem 2007;389:1087–1093.
14. Ramanathan ANKG, Nair AJ, Sugunan VS. A review on royal jelly proteins and peptides. J Funct Foods 2018;(44):255–264.

15. Albert S, Klaudiny J. The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*: identification of new members in the EST library. *J Insect Physiol* 2004;50:51–59.
16. Furusawa T, Rakwai R, Nam Hw i sur. Comprehensive royal jelly (RJ) proteomics using one- and two-dimensional proteomics platforms reveals novel RJ proteins and potential phospho/glycoproteins. *J Proteome Res* 2008;7:3194–3229.
17. Kashima Y, Kanematsu S, Asai S i sur. Identification of a novel hypocholesterolemic protein, major royal jelly protein 1, derived from royal jelly. *PLoS One* 2014;9:e105073.
18. Kimura M, Kimura Y, Tsumura K i sur. 350-kDa royal jelly glycoprotein (apisin), which stimulates proliferation of human monocytes, bears the  $\beta$ 1-3galactosylated N-glycan: Analysis of the N-glycosylation site. *Biosci Biotechnol Biochem* 2003;67:2055–2058.
19. Tamura S, Amano S, Kono T i sur. Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly protein 1 oligomer. *Proteomics* 2009(9):5534–5543.
20. Furusawa T, Arai Y, Kato K, Ichihara K. Quantitative analysis of apisin, a major protein unique to royal jelly. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016;2016:5040528.
21. Fontana R, Mendes MA, De Souza BM i sur. Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides* 2004;25:919–928.
22. Melliou E, Chinou I. Chemistry and bioactivity of royal jelly from Greece. *J Agric Food Chem* 2006;53(23):8987–8992.
23. Zheng HQ, Hu FL, Dietemann V. Changes in composition of royal jelly harvested at different times: consequences for quality standards. *Apidologie* 2011;42:39-47.
24. López-Gutiérrez N, del Mar Aguilera-Luiz M, Romero- González R, Vidal JLM, Frenich AG. Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlow™-liquid chromatography-Orbitrap high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2014;973C:17–28.
25. Kamakura M, Fukuda T, Fukushima M, Yonekura M. Storage-dependent degradation of 57-kDa protein in royal jelly: a possible marker for freshness. *Biosci Biotechnol Biochem* 2014;65(2):277–284.
26. Sabatini AG, Marcazzan G, Caboni MF, Bogdanov S, Almeida-Muradian LB. Quality and standardisation of royal jelly. *J ApiProd ApiMed Sci* 2009;1:1–6.
27. Brudzynski K, Sjaarda C i Lannigan R. MRJP1-containing glycoproteins isolated from honey, a novel antibacterial drug candidate with broad spectrum activity against multi-drug resistant clinical isolates. *Front Microbiol* 2015;6:711.

28. Bagameri L, Baci G-M, Dezmirean DS. Royal jelly as a nutraceutical natural product with a focus on its antibacterial activity. *Pharmaceutics* 2022;14(6):1142. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061142>
29. Liu JR, Yang YC, Shi L-S, Peng CC. Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *J Agric Food Chem* 2008;56(23):11447–11452.
30. Nakajima Y, Tsuruma K, Shimazawa M, Mishima S, Hara H. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complement Altern Med* 2009;9:4.
31. Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T i sur. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses *in vitro* and *in vivo*. *Life Sci* 2003;73(16):2029–2045.
32. Kohno K, Okamoto I, Sano O i sur. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Biosci Biotechnol Biochem* 2004;68(1):138–145.
33. Nakaya M, Onda H, Sasaki K, Yukiyoishi A, Tachibana H, Yamada K. Effect of royal jelly on bisphenol A-induced proliferation of human breast cancer cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007;71(1):253–255.
34. Yang YC, Chou WM, Widowati DA, Lin IP, Peng CC. 10-hydroxy-2-decenoic acid of royal jelly exhibits bactericide and anti-inflammatory activity in human colon cancer cells. *BMC Complement Altern Med* 2018;18(1):202.
35. Fan P, Han B, Feng M i sur. Functional and proteomic investigations reveal major royal jelly protein 1 associated with anti-hypertension activity in mouse vascular smooth muscle cells. *Sci Rep* 2016;6(1):30230.
36. Mohamed AAR, Galal AA, Elewa YH. Comparative protective effects of royal jelly and cod liver oil against neurotoxic impact of tartrazine on male rat pups brain. *Acta Histochem* 2015;117:649–658.
37. Watanabe K, Shinmoto H, Kobori M i sur. Stimulation of cell growth in the U-937 human myeloid cell line by honey royal jelly protein. *Cytotechnology* 1998;26(1):23–27.
38. Lin Y, Shao Q, Zhang M, Lu C, Fleming J, Su S. Royal jelly-derived proteins enhance proliferation and migration of human epidermal keratinocytes in an *in vitro* scratch wound model. *BMC Complement Altern Med* 2019;19:175.
39. Gu H, Song IB, Han HJ i sur. Antioxidant activity of royal jelly hydrolysates obtained by enzymatic treatment. *Korean J Food Sci Anim Resour* 2018;38:135.
40. You MM, Chen YF, Pan YM, Liu YC, Tu J, Wang K, Hu FL. Royal jelly attenuates LPS-induced inflammation in BV-2 microglial cells through modulating NF- $\kappa$ B and p38/JNK signaling pathways. *Mediators Inflamm* 2018;2018:7834381.

41. Vucevic D, Melliou E, Vasilijic i sur. Fatty acids isolated from royal jelly modulate dendritic cell-mediated immune response *in vitro*. *Int Immunopharmacol* 2007;7:1211–1220.
42. Mihajlovic D, Rajkovic I, Chinou I, Colic, M. Dose-dependent immunomodulatory effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid on human monocyte-derived dendritic cells. *J Funct Foods* 2013;5:838–846.
43. Yang XY, Yang DS, Zhang W i sur. 10-Hydroxy-2-decenoic acid from royal jelly: a potential medicine for RA. *J Ethnopharmacol* 2010;128:314–321.
44. Sugiyama T, Takahashi K, Tokoro S, Gotou T, Neri P, Mori H. Inhibitory effect of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid on LPS-induced IL-6 production via reducing IkappaB-zeta expression. *Innate Immun* 2012;18:429–437.
45. Chen YF, Wang K, Zhang YZ, Zheng YF, Hu FL. *In vitro* anti-inflammatory effects of three fatty acids from royal jelly. *Mediat Inflamm* 2016;2016:3583684.
46. Zhang S, Shao Q, Geng H, Su S. The effect of royal jelly on the growth of breast cancer in mice. *Oncol Lett* 2017;14:7615 7621.
47. Filipic B, Gradisnik L, Rihar K, Soos E, Pereyra A, Potokar J. The influence of royal jelly and human interferon-alpha (HuIFN-alpha N3) on proliferation, glutathione level and lipid peroxidation in human colorectal adenocarcinoma cells *in vitro*. *Arh Hig Rada Toksiko* 2015;66:269–274.
48. Gismond A, Trionfera E, Canuti L, Di Marco G, Canini A. Royal jelly lipophilic fraction induces antiproliferative effects on SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Oncol Rep* 2017;38:1833–1844.
49. Abandansari RM, Parsian H, Kazerouni F, Porbagher R, Zabihi E, Rahimipour A. Effect of simultaneous treatment with royal jelly and doxorubicin on the survival of the prostate cancer cell line (PC3): an *in vitro* study. *Int J Cancer Manag* 2018;11:e13780.
50. Premratanachai P, Chanchao C. Review of the anticancer activities of bee products. *Asian Pac J Trop Biomed* 2014;4:337–344.
51. Kamakura M, Sakaki T. A hypopharyngeal gland protein of the worker honeybee *Apis mellifera* L. enhances proliferation of primary-cultured rat hepatocytes and suppresses apoptosis in the absence of serum. *Protein Expr Purif* 2006;45(2):307–314.
52. Bucekova M, Sojka M, Valachova I i sur. J. Bee-derived antibacterial peptide, defensin-1, promotes wound re-epithelialisation *in vitro* and *in vivo*. *Sci Rep* 2017;7:7340.

53. Park HM, Hwang E, Lee KG, Han SM, Cho Y, Kim SY. Royal jelly protects against ultraviolet B–induced photoaging in human skin fibroblasts via enhancing collagen production. *J Med Food* 2011;14:899–906.
54. Narita Y, Nomura J, Ohta S i sur. Royal jelly stimulates bone formation: physiologic and nutrigenomic studies with mice and cell lines. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70(10):2508-2514.
55. Moutsatsou P, Papoutsis Z, Kassi E i sur. Fatty acids derived from royal jelly are modulators of estrogen receptor functions. *PLoS One* 2010;5:e15594.
56. Ab Hamid N, Abu Bakar AB, Mat Zain AA i sur. Composition of royal jelly (RJ) and its antim androgenic effect on reproductive parameters in a polycystic ovarian syndrome (PCOS) animal model. *Antioxidants* 2020;9(6):499-513.
57. Cavusoglu K, Yapar K, Yalcin E. Royal jelly (honey bee) is a potential antioxidant against cadmium induced genotoxicity and oxidative stress in albino mice. *J Med Food* 2009;12(6):1286-1292.
58. Clarke M i McDonald P. Australian royal jelly-market opportunity assessment based on production that uses new labour saving technology; rural industries research and development corporation: Wagga, NSW, Australia 2017;4:
59. Isidorov VA, Bakier S, Grzech I. Gas chromatographic-mass spectrometric investigation of volatile and extractable compounds of crude royal jelly. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2012;885-886:109–116.
60. Ohba K, Miyata Y, Nakamura Y i sur. Intake of royal jelly prevents sunitinib-induced appetite loss in patients with renal cell carcinoma: correlation with serum levels of transforming growth factor- $\beta$  and macrophage colony-stimulating factor. *J Urol* 2018;199(4S):e875.
61. Miyata Y, Araki K, Ohba K i sur. Oral intake of royal jelly improves anti-cancer effects and suppresses adverse events of molecular targeted therapy by regulating TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$  in renal cell carcinoma: A preliminary study based on a randomized double-blind clinical trial. *Mol Clin Oncol* 2020;13:29
62. Yuno T, Miyata Y, Mukae Y i sur. Mechanisms underlying the inhibition of tyrosine kinase inhibitor-induced anorexia and fatigue by royal jelly in renal cell carcinoma patients and the correlation between macrophage colony stimulating factor and inflammatory mediators. *Med Sci* 2020;8:43.
63. Miyata Y, Sakai H. Anti cancer and protective effects of royal jelly for therapy induced toxicities in malignancies. *Int J Mol Sci* 2018;19(10):3270.

64. Münstedt K, Männle H. Using bee products for the prevention and treatment of oral mucositis induced by cancer treatment. *Molecules* 2019;24:3023.
65. Erdem O, Güngörmüs Z. The effect of royal jelly on oral mucositis in patients undergoing radiotherapy and chemotherapy. *Holist Nurs Pract* 2014;28:242–246.
66. Yamauchi K, Kogashiwa Y, Moro Y, Kohno, N. The effect of topical application of royal jelly on chemoradiotherapy-induced mucositis in head and neck cancer: a preliminary study. *Int J Otolaryngol* 2014;2014:974967.
67. Araki K, Miyata Y, Ohba K i sur. Oral intake of royal jelly has protective effects against tyrosine kinase inhibitor induced toxicity in patients with renal cell carcinoma: A randomized, double blinded, placebo controlled trial. *Medicines* 2018;6:2.
68. Yamaura K, Tomono A, Suwa, Ueno K. Topical royal jelly alleviates symptoms of pruritus in a murine model of allergic contact dermatitis. *Pharmacogn Mag* 2013;9:9–13.
69. Khazaei M, Ansarian A, Ghanbari E. New findings on biological actions and clinical applications of royal jelly: A review. *J Diet Suppl* 2018;15:757–775.
70. Osama H, Abdullah A, Gamal B i sur. Effect of honey and royal jelly against cisplatin-induced nephrotoxicity in patients with cancer. *J Am Coll Nutr* 2017;36:342–346.
71. Mofid B, Rezaeizadeh H, Termos A i sur. Effect of processed honey and royal jelly on cancer-related fatigue: a double-blind randomized clinical trial. *Electron Physician* 2016;8(6):2475-2482.
72. Khoshpey B, Djazayeri S, Amiri F i sur. Effect of royal jelly intake on serum glucose, apolipoprotein A-I (ApoA-I), apolipoprotein B (ApoB) and ApoB/ApoA-I ratios in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind clinical trial study. *Can J Diabetes* 2016;40(4):324–328.
73. Shidfar F, Jazayeri S, Mousavi SN, Malek M, Hosseini AF, Khoshpey B. Does supplementation with royal jelly improve oxidative stress and insulin resistance in type 2 diabetic patients? *Iran J Public Health* 2015;44(6):797–803.
74. Pourmoradian S, Mahdavi R, Mobasseri M i sur. Effects of royal jelly supplementation on glycemic control and oxidative stress factors in type 2 diabetic female: A randomized clinical trial. *Chin J Integr Med* 2014;20:347–352.
75. Mobasseri M, Ghiyasvand S, Ostadrahimi A, Ghojazadeh M, Noshad H, Pourmoradian S. Effect of fresh royal jelly ingestion on glycemic response in patients with type 2 diabetes. *Iran Red Crescent Med J* 2015;17(9):e20074.

76. Pourmoradian S, Mahdavi R, Mobasser M i sur. Effects of royal jelly supplementation on body weight and dietary intake in type 2 diabetic females. *Health Promot Perspect* 2012;2(2):231–235.
77. Siavash M, Shokri S, Haghghi S, Shahtalebi MA, Farajzadehgan Z. The efficacy of topical royal jelly on healing of diabetic foot ulcers: a double-blind placebo-controlled clinical trial. *Int Wound J* 2015; 12(2):137-42.
78. Yakoot M, Abdelatif M, Helmy S. Efficacy of a new local limb salvage treatment for limb-threatening diabetic foot wounds - a randomized controlled study. *Diabetes Metab Syndr Obes* 2019;12:1659-1665.
79. Guo H, Saiga A, Sato M i sur. Royal jelly supplementation improves lipoprotein metabolism in humans. *J Nutr Sci Vitaminol* 2007;53(4):345–348.
80. Chiu HF, Chen BK, Lu YY i sur. Hypocholesterolemic efficacy of royal jelly in healthy mild hypercholesterolemic adults. *Pharm Biol* 2017;55(1):497-502.
81. Petelin A, Kenig S, Kopinč R, Deželak M, Černelić Bizjak M, Jenko Pražnikar Z. Effects of royal jelly administration on lipid profile, satiety, inflammation, and antioxidant capacity in asymptomatic overweight adults. *Evid Based Complement Altern Med* 2019: 2019:4969720.
82. Fujisue K, Yamamoto E, Sueta D i sur. A randomized, double-blind comparison study of royal jelly to augment vascular endothelial function in healthy volunteers. *J Atheroscler Thromb* 2021;28
83. Taavoni S, Barkhordari F, Goushegir A, Haghani H. Effect of royal jelly on premenstrual syndrome among Iranian medical sciences students: a randomized, triple-blind, placebo-controlled study. *Complement Ther Med* 2014;22(4):601-606.
84. Sharif SN, Darsareh F. Effect of royal jelly on menopausal symptoms: a randomized placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Clin Pract* 2019;37:47-50.
85. Seyyedi F, Rafiean-Kopaei M, Miraj S. Comparison between vaginal royal jelly and vaginal estrogen effects on quality of life and vaginal atrophy in postmenopausal women: a clinical trial study. *Electron Physician* 2016;8(11):3184-3192.
86. Seyyedi F, Rafiean-Kopaei M, Miraj S. Comparison of the effects of vaginal royal jelly and vaginal estrogen on quality of life, sexual and urinary function in postmenopausal women. *J Clin Diagn Res* 2016; 10(5):QC01-5.
87. Matsushita H, Shimizu S, Morita N, Watanabe K, Wakatsuki A. Effects of royal jelly on bone metabolism in postmenopausal women: a randomized, controlled study. *Climacteric* 2021;24(2):164-170.

88. Lambrinouadaki I, Augoulea A, Rizos D i sur. Greek-origin royal jelly improves the lipid profile of postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol* 2016;32: 835-839.
89. Zahran AM, Elsayh KI, Saad K i sur. Effects of royal jelly supplementation on regulatory T cells in children with SLE. *Food Nutr Res* 2016;60: 32963.
90. Oshvandi K, Aghamohammadi M, Kazemi F, Masoumi SZ, Mazdeh M, Vardanjani MM. Effect of royal jelly capsule on quality of life of patients with multiple sclerosis: a double-blind randomized controlled clinical trial. *Iran Red Crescent Med J* 2020;22(10):e74
91. Mobedi Z, Soleimani F, Rafieian-Kopaei M, Parvin N, Taheri E. The effect of oral royal jelly on clinical disease activity index (CDAI) and morning stiffness in patients with rheumatoid arthritis (RA): a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Isfahan Med Sch* 2013;31(252):1428-1434.
92. Saritas N, Yildiz K, Büyükipekci S, Coskun B. Effect of different levels of royal jelly on biochemical parameters of swimmers. *Afr J Biotechnol* 2011;10(52):10718-10723.
93. Joksimović A, Stanković D, Joksimović I i sur. Royal jelly as a supplement for young football players. *Sport Sci* 2009;1:62-67.
94. Pancar Z. Effect of inspiratory muscle training and royal jelly supplement on muscle hypertrophy markers in male smokers. *EJMI* 2020;4(4):495–500.
95. Morita H, Ikeda T, Kajita K i sur. Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutr J* 2012;11(1):77.
96. Roth GS, Lane MA, Ingram DK i sur. Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science* 2002;297(5582):811-811.
97. Meng G, Wang H, Pei Y i sur. Effects of protease-treated royal jelly on muscle strength in elderly nursing home residents: a randomized, double-blind, placebo controlled, dose-response study. *Sci Rep* 2017;7(1):11416.
98. Questel E, Hernandez-Pigeon H, Galliano MF i sur. Effects of Hydroxydecine ® (10-hydroxy-2-decenoic acid) on skin barrier structure and function. *Eur J Dermatol* 2011;2:906–915.
99. Andersen AH, Mortensen S, Agertoft L, Pedersen S. Double-blind randomized trial of the effect of Bidro on hay fever in children. *Ugeskr Laeg* 2005;167(38):3591-3594.
100. Inoue S, Kawashima M, Hisamura R i sur. Clinical evaluation of a royal jelly supplementation for the restoration of dry eye: a prospective randomized double blind placebo controlled study and an experimental mouse model. *PLoS One* 2017;12(1):0169069.
101. Abdelhafiz AT, Muhamad JA. Midcycle pericoital intravaginal bee honey and royal jelly for male factor infertility. *Obstet Gynecol* 2008;101(2):146-149.



102. Pajovic B, Radojevic N, Dimitrovski A, Tomovic S, Vukovic M. The therapeutic potential of royal jelly in benign prostatic hyperplasia. Comparison with contemporary literature. *Aging Male* 2016;19(3):192-196.
103. Takahashi M, Matsuo I, Ohkido M. Contact dermatitis due to honeybee royal jelly. *Contact Derm* 1983;9(6):452-455.
104. Dzopalic T, Vucevic D, Tomic S, Djokic J, Chinou I, Colic M. 3,10-Dihydroxy-decanoic acid, isolated from royal jelly, stimulates Th1 polarising capability of human monocytederived dendritic cells. *Food Chem* 2011;126:1211-1217.
105. Rosmilah M, Shahnaz M, Patel G i sur. Characterization of major allergens of royal jelly *Apis mellifera*. *Trop Biomed* 2008;25:243-51.
106. Hata T, Furusawa-Horie T, Arai Y, Takahashi T, Seishima M, Ichihara K. Studies of royal jelly and associated cross-reactive allergens in atopic dermatitis patients. *PLoS One* 2020;15(6):e0233707.