

ANTIMIKROBIÁLNE LÁTKY MATERSKEJ KAŠIČKY

MÁRIA ŠEDIVÁ a JAROSLAV KLAUDINÝ

Chemický ústav, Slovenská akadémia vied, Dúbravská
cesta 9, 845 38 Bratislava
chemsedm@savba.sk, chemjakl@savba.sk

Došlo 19.12.14, prijaté 12.2.15.

Kľúčové slová: materská kašička, antimikrobiálne peptidy, defenzín1, jelleíny, masné kyseliny, kyselina 10-hydroxy-2-decénová, antimikrobiálne účinky, mor včelieho plodu

Obsah

1. Úvod
2. Materská kašička (MK)
3. Antimikrobiálne látky MK proteínového charakteru
4. Mechanizmy účinku antimikrobiálnych peptidov
5. Antimikrobiálne látky MK lipidového charakteru
6. Antimikrobiálna aktivita a mechanizmy účinku masných kyselín
7. Záver

1. Úvod

Súčasný trend nadmerného používania antibiotík spôsobuje neustále narastajúcu mieru rezistencie širokého spektra bakteriálnych a fungálnych patogénnych mikroorganizmov. Preto je výskum nových potenciálne terapeuticky použiteľných antimikrobiálnych látok stále aktuálny a nevyhnutný. Zdrojom mnohých prirodzených sa vyskytujúcich látok účinných voči mikrobiálnym patogénom sú rôzne rastlinné extrakty, esenciálne oleje a produkty živočíšneho pôvodu. Významným zdrojom takýchto látok sú včelie produkty, materská kašička (MK), propolis a med. Materská kašička zohráva primárnu úlohu ako potrava lariev a matiek vo včelstvách, a zároveň reprezentuje včelí produkt, ktorý obsahuje mnoho bioaktívnych látok s pozitívnymi účinkami aj na ľudský organizmus. Obsahuje tiež antimikrobiálne látky rôzneho chemického charakteru. Ich úloha v prirodzenej ochrane včelích lariev pred pôsobením mikrobiálnych patogénov spôsobujúcich choroby včelieho plodu je predmetom súčasného apidologického výskumu. Rovnako však je možné uvažovať o perspektíve využitia týchto látok v prevencii alebo liečení mikrobiálnych infekcií vo veterinárnej aj humánnej sfére.

2. Materská kašička

MK je jedinečnou zložkou výživy včely medonosnej (*Apis mellifera*), ktorú produkujú včely dojčičky. Tie produkujú dva typy kašičky: materskú kašičku pre larvy budúcich kráľovien a pre samotnú kráľovnú (matku), a včeliu kašičku (VK) pre larvy robotníč¹. MK je podávaná larvám kráľovien vo veľkých množstvách počas celého ich vývinu až do štádia predkukly na rozdiel od VK, ktorou sú kŕmené mladé larvy robotníč v menších množstvách do veku 3 dní. Staršie larvy robotníč dostávajú ako potravu zmes VK, medu a peľu. Obe larválne kašičky sú produkované v hlavách dojčičiek, v hypofaryngeálnych a mandibulárnych žľazách². MK obsahuje 12–15 % proteínov, 10–16 % cukrov, 3–6 % lipidov, voľné aminokyseliny, vitamíny, soli a zvyšok, 60–70 %, je voda³. VK sa od MK čiastočne odlišuje v množstvách niektorých komponentov; proteínov, sacharidov a nízkomolekulárnych látok^{2,4}. Tieto rozdiely v zložení neovplyvňujú významne vývojové procesy v larvách robotníč mladších ako 3 dni. Aj z týchto lariev sa môžu vyliahnúť kráľovné, ak sú počas ďalších dní vývinu kŕmené MK. Obsah niektorých látok v kašičkách môže kolísť aj v závislosti od environmentálnych podmienok.

Sacharidová frakcia MK je tvorená najmä monosacharidmi fruktózou a glukózou. Minoritne obsahuje sacharózu, maltózu a trehalózu⁵.

Lipidová frakcia pozostáva z 80–90 % z voľných masných kyselín, z ktorých najhojnejšou je kyselina 10-hydroxy-2-decénová. Zvyšok lipidovej frakcie tvoria neutrálne lipidy a steroly⁶.

Proteínová frakcia MK obsahuje vo vode rozpustné aj nerozpustné proteíny⁷, z ktorých najvýznamnejšie sú hlavné proteíny materskej kašičky MRJP1–MRJP9 (skratky z angl. major royal jelly protein). Tieto proteíny patria do MRJP/Yellow proteínovej rodiny⁸ a tvoria viac ako 80 % z celkového množstva proteínového obsahu MK (cit.⁹). Najviac zastúpené sú MRJP1-5, ktoré majú nutričnú funkciu. Analýzy MK dokázali, že obsahuje aj mnoho enzýmov; α -glukozidázu, glukózooxidázu, glukózodehydrogenázu, askorbinoxidázu, katalázu, amylázu a kyslú fosfatázu¹⁰.

Významnou zložkou MK sú antimikrobiálne látky, ktoré na základe chemickej štruktúry možno rozdeliť na dve skupiny: proteínové a lipidové. K antimikrobiálnym látkam proteínového charakteru patria peptidy defenzín1 (royalizín)^{11,12}, jelleíny¹³ a proteín apalbumín2a (cit.¹⁴). Lipidové antimikrobiálne látky sú rôzne masné kyseliny s rozdielnymi štruktúrami^{15–17}.

3. Antimikrobiálne látky MK proteínového charakteru

3.1. Defenzín1

Defenzín1 je kationický antimikrobiálny peptid (AMP) s amfipatickými vlastnosťami, ktorého prvotný názov royalizín (angl. royalisin) bol odvodený od zdroja izolácie – MK (angl. royal jelly). Patrí medzi peptidy bohaté na cysteín. Má molekulovú hmotnosť 5,5 kDa. Pozostáva z 51 aminokyselinových zvyškov, medzi ktorými sa nachádza 6 cysteínových zvyškov tvoriacich 3 intramolekulové disulfidové väzby. Je stabilný pri nízkom pH a odoláva aj teplote 100 °C (15 min)¹¹. N-Terminálna časť molekuly je relatívne hydrofóbná (pozícia 1–22), C-terminálna časť je hydrofilná (pozícia 23–45). Na rozdiel od defenzínov iných druhov hmyzu obsahuje molekula defenzínu1 na C-terminálnom konci špecifickú 11 aminokyselinovú sekvenciu, ktorá je amidovaná¹⁸. Defenzín1 mRNA kóduje ešte 52. aminokyselinu – glycín, ktorý je v maturovanom peptide donorom C-terminálneho amidu. Predpokladá sa, že helikálna štruktúra je všeobecne stabilizovaná C-terminálnym amidom¹⁹.

Klaudiny a spol.²⁰ skúmali produkciu defenzínu1 v rôznych včelstvách a zistili, že obsah defenzínu1 v MK kolíše. V testovaných vzorkách MK stanovili obsah defenzínu1 v rozmedzí 0,159–0,524 $\mu\text{g mg}^{-1}$ MK, pričom väčšie rozdiely pozorovali medzi MK z rôznych včelstiev ako medzi MK z jedného včelstva.

Defenzín1 vykazuje antibakteriálnu aktivitu voči Gram-pozitívnym baktériám (*Bifidobacterium* sp., *Lactobacillus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Eubacterium aerofaciens*) v rozsahu 0,094–0,528 mg ml^{-1} , nie však voči Gram-negatívnym baktériám¹¹. Boli popísané aj jeho antibakteriálne účinky voči *Paenibacillus larvae*^{21,22}, ktorý je pôvodcom závažného ochorenia včelstiev postihujúceho larvy včiel – mor včelieho plodu. Okrem toho bola zistená aj antifungálna aktivita defenzínu1 voči rastlinnému patogénu *Botrytis cinerea* pri minimálnej inhibičnej koncentrácii 0,027 mg ml^{-1} (cit.²¹).

3.2. Jelleíny

Jelleíny tvoria rodinu krátkych AMP izolovaných z MK. Sú zložené len z 8–9 aminokyselinových zvyškov. Na C-terminálnom konci sú amidované a majú celkový kladný náboj +1 alebo +2. Na základe analýz jelleínových sekvencií sa zistilo, že sú produkované procesingom C-koncovej časti najhojnejšieho proteínu MK – MRJP1. Existujú 4 jelleíny, ktoré sa odlišujú v aminokyselinách na N-terminálnych alebo C-terminálnych koncoch molekúl (tab. I). Okrem jelleínu IV sú všetky aktívne proti Gram-pozitívnym baktériám (*Staphylococcus aureus*, *S. saprophyticus*) v rozsahu 0,01–0,03 mg ml^{-1} a Gram-negatívnym baktériám (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) v rozsahu 0,003–0,03 mg ml^{-1} (cit.¹³).

Tabuľka I

Peptidy jelleíny, ich primárna štruktúra a antimikrobiálna aktivita¹³

Jelleín	Sekvencia aminokyselín	Antimikrobiálna aktivita
Jelleín I	PFKLSLHL-NH ₂	G+, G– baktérie
Jelleín II	TPFKLSLHL-NH ₂	G+, G– baktérie
Jelleín III	EPFKLSLHL-NH ₂	G+, G– baktérie
Jelleín IV	TPFKLSLH-NH ₂	–

3.3. Apalbumín2a

Apalbumín2a je minoritný antimikrobiálny proteín MK s molekulovou hmotnosťou 48,6 kDa. Predstavuje na oboch koncoch skrátenú formu apalbumínu2 (proteín MRJP2), ktorá je špecificky N-glykozylovaná. Apalbumín2a je aktívny proti Gram-pozitívnym baktériám, vrátane *P. larvae*, na rozdiel od apalbumínu2, ktorý nevykazuje žiadne antimikrobiálne účinky proti testovaným baktériám ani pri vyšších koncentráciách. Predpokladá sa, že antimikrobiálne vlastnosti apalbumínu2a súvisia s uvedenými modifikáciami apalbumínu2 (cit.¹⁴).

4. Mechanizmy účinku antimikrobiálnych peptidov

Základom účinnosti väčšiny AMP je ich pôsobenie na cytoplazmatickú membránu patogénov. Toto pôsobenie súvisí s ich vlastnosťami, ako sú pozitívny náboj, hydrofobicita a flexibilita, ktoré umožňujú ich interakciu s membránou²³. Prvým krokom v procese interakcie je väzba peptidových molekúl na cieľovú bunku. Je sprostredkovaná elektrostatickými silami medzi pozitívne nabitými molekulami peptidu a záporne nabitými zložkami prítomnými vo vonkajšej vrstve bunkovej steny baktérii. Peptidy sú následne včlenené do cytoplazmatickej membrány prostredníctvom hydrofóbných interakcií, kde dochádza k ich akumulácii a narušeniu integrity membrány^{24,25}. Integrita membrány môže byť narušená viacerými mechanizmami, ktoré prebiehajú na oboch jej stranách. Môže dôjsť k sfornovaniu prechodového kanála, micelarizácii a inému narušeniu membrány, alebo dochádza k translokácii AMP cez membránu do cytoplazmy. Vo všeobecnosti AMP buď zapríčinia permeabilizáciu membrány, následkom čoho nastáva smrť bunky, alebo preniknú do bunky, pričom membrána ostáva neporušená a ich cieľom sú esenciálne intracelulárne procesy, ktorých narušenie spôsobí smrť bunky²⁵.

Existuje niekoľko modelov popisujúcich rôzne mechanizmy, ktoré môžu viesť k rozrušeniu integrity membrány a smrti bunky.

4.1. Model agregácie

Model agregácie vysvetľuje permeabilizáciu cytoplazmatickej membrány tak, že sa v nej formujú kanály s variabilnou veľkosťou a životnosťou²⁶, ktoré umožňujú aj translokáciu AMP cez dvojvrstvu membrány²⁷. Podľa tohto modelu sa peptidy v membráne usporiadajú do micelám podobných agregátov tvorených komplexami peptidov a membránových lipidov, ktoré na rozdiel od iných modelov nemajú špecifickú orientáciu. Komplexy formujú nestabilné kanálové štruktúry s variabilným charakterom, ktoré umožnia preniknúť niektorým molekulám peptidov cez membránu²⁵.

4.2. Toroidálny model

Toroidálny model popisuje účinok AMP na základe vzniku agregátov peptidov, ktoré sú včlenené kolmo do membránovej dvojvrstvy, pričom dochádza k sformovaniu póru. Hydrofilné časti peptidov sú asociované

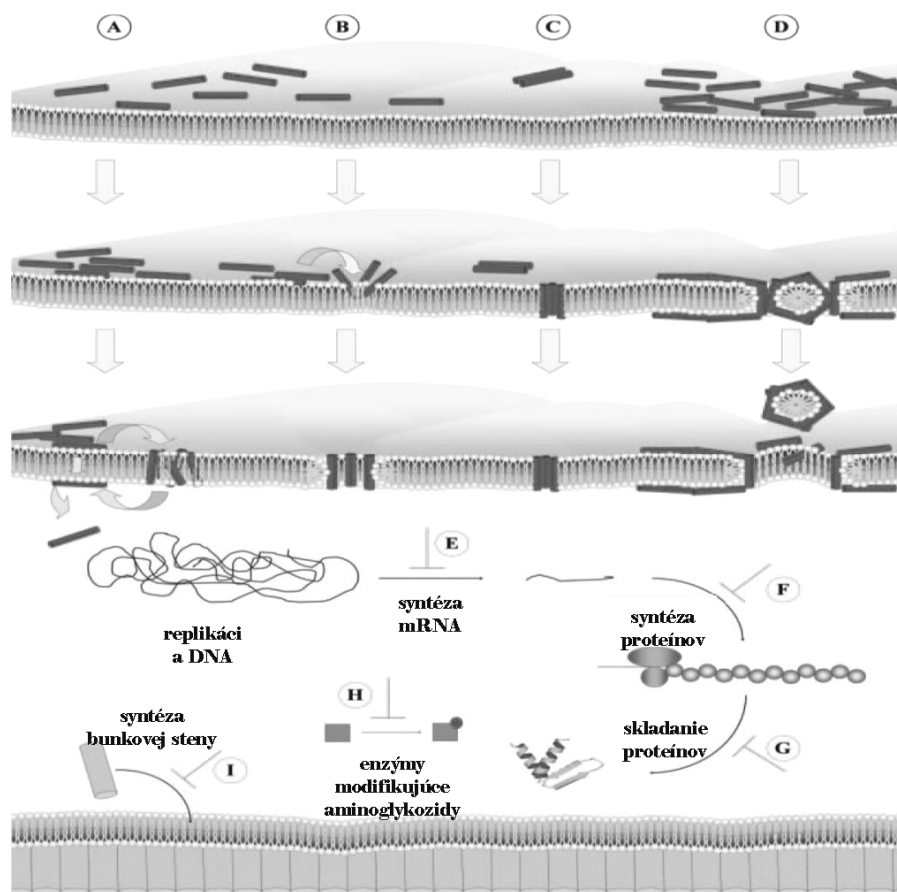
s fosfolipidovými hlavičkami membrány, hydrofóbne časti potom asociujú s jej lipidovým jadrom. Počas tohto procesu sa membrána zakrivuje a dochádza k ohnutiu a spojeniu vonkajšej a vnútornej časti membrány a vzniku otvoru, ktorý je zvnútra vystlaný vrstvou AMP interagujúcich s membránou^{28,29}.

4.3. Sudový model

Podľa tohto modelu AMP formujú dimérne, prípadne multimerne štruktúry, viažuce sa na negatívne nabitú časť membrány, ktoré sú usporiadané kolmo na membránu. Hydrofóbne oblasti sú orientované smerom k lipidovému jadru a hydrofilné časti smerujú do lumenu novovytvoreného transmembránového póru. Orientácia a usporiadanie peptidov vytvára otvor podobný sudu^{25,30}.

4.4. Kobercový model

Na rozdiel od predchádzajúcich modelov, kobercový model popisuje vznik agregátov AMP, ktoré sú usporiada-



Obr. 1. Mechanizmy účinku antimikrobiálnych peptidov: Pôsobenie na cytoplazmatickú membránu; A – model agregácie, B – toroidálny model, C – sudový model, D – kobercový model; Intracelulárne ciele AMP: E – syntéza mRNA, F – proteosyntéza, G – skladanie proteínov, H – enzýmová modifikácia aminoglykozidov, I – syntéza bunkovej steny (obrázok prebratý z publikácie²⁵, preložený)

né paralelne s membránovou dvojvrstvou a vytvárajú vrstvu podobajúcu sa kobercovej štruktúre. Po dosiahnutí dostatočnej koncentrácie agregátov dochádza k aktivite podobnej účinku detergentov, t. j. k vzniku micelárnych štruktúr a následne vytváraniu membránových pórov³¹ (obr. 1).

5. Antimikrobiálne látky MK lipidového charakteru

K týmto látkam patria masné kyseliny, ktoré sú unikátnou zložkou lipidovej frakcie MK syntetizovanou v mandibulárnych žľazách včiel³². Na rozdiel od živočíšnych a rastlinných zdrojov obsahujúcich najmä mono-, di- a triglyceridové formy masných kyselín, MK je výnimočným zdrojom veľkého počtu derivátov voľných masných kyselín (VMK) s krátkymi reťazcami zloženými z 8–12 uhlíkov^{17,33–35}. Najpočetnejšími derivátmi VMK sú rôzne hydroxyderiváty.

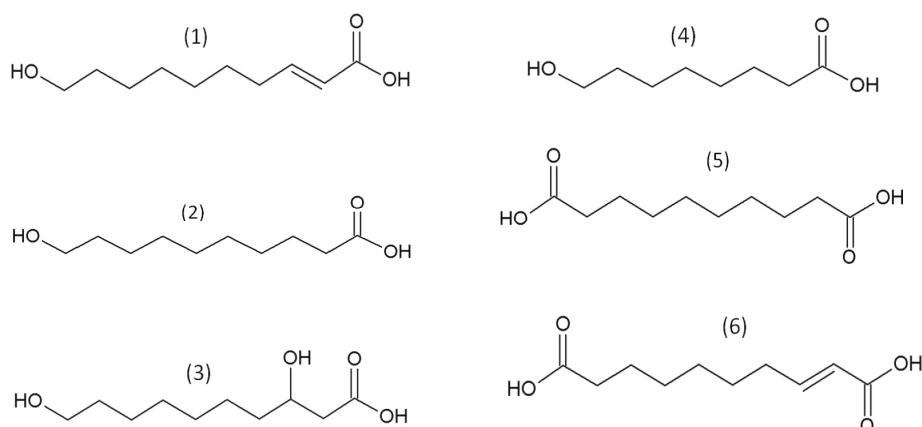
Najhojnejšou masnou kyselinou v MK je kyselina 10-hydroxy-2-decénová (10-HDA)¹⁵. Jej množstvo v MK je významným indikátorom autenticity a čerstvosti MK. Analýzy rôznych vzoriek MK ukázali, že obsah 10-HDA v kašičkách koliše v rozsahu 0,75 g – 6,4 g/100 g MK (cit.^{35–40}). Ďalšími, relatívne hojne zastúpenými masnými kyselinami v MK sú kyseliny 10-hydroxydekánová (15,9 ± 1,4 %), 3,10-dihydroxydekánová (5,9 ± 1,3 %), 8-hydroxyoktánová (4,9 ± 1,0 %), 2-decén-1,10-diová (4,1 ± 0,8 %) a sebaková (3,3 ± 0,6 %) (hodnoty stanovené v éterových extraktoch MK)³⁵ (obr. 2).

Antimikrobiálna aktivita a účinnosť bola skúmaná len u niektorých masných kyselín MK. Z majoritne zastúpených masných kyselín to boli 10-HDA, kyselina 10-hydroxydekánová, 3,10-dihydroxydekánová a kyselina sebaková. Tieto kyseliny okrem 10-hydroxydekánovej vykazovali antibakteriálne a antifungálne aktivity voči

Gram-pozitívnym aj Gram-negatívnym baktériám (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) s účinnosťami v rozsahu 0,40–1,64 mg ml⁻¹ a kvasinkám (*Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*) s účinnosťami 0,15–1,25 mg ml⁻¹. Účinnosti vykazovali rozdiely v rámci jednotlivých druhov mikroorganizmov a jednotlivých masných kyselín¹⁷. Antimikrobiálne účinky 10-HDA a kyseliny sebakovej boli testované aj na viacerých kmeňoch včelieho patogéna *P. larvae*, pričom sa zistili ich účinnosti v rozsahu 0,58–1,5 mg ml⁻¹ (cit.⁴¹). U minoritne zastúpených masných kyselín bola zistená antimikrobiálna aktivita u nasledovných kyselín: 10-acetoxyldekánovej, 10-acetoxyl-*trans*-2-decénovej, 11-oxododekánovej, (11*S*)-hydroxydodekánovej, (10*R*,11*R*)-dihydroxydodekánovej, 3,11-dihydroxydodekánovej a (11*S*),12-dihydroxydodekánovej. Tieto kyseliny vykazovali voči vyššie uvedným baktériám a kvasinkám antimikrobiálne účinnosti v podobnom rozsahu koncentrácií ako majoritné masné kyseliny MK (cit.¹⁷).

6. Antimikrobiálna aktivita a mechanizmy účinku masných kyselín

Antimikrobiálna aktivita VMK je podmienená ich štruktúrou, pričom úlohu zohráva dĺžka uhlíkového reťazca, prítomnosť alebo neprítomnosť, počet, pozícia a izoméria dvojitého väzby. V literatúre možno nájsť protichodné tvrdenia o vzťahu medzi štruktúrou VMK a ich antimikrobiálnou aktivitou, ale boli popísané niektoré všeobecné súvislosti. Dôležitú úlohu pravdepodobne zohráva –OH časť karboxylovej skupiny VMK, pretože jej metyláciou dochádza k zníženiu alebo úplnej strate antimikrobiálnej aktivity⁴⁰. Vo všeobecnosti, nenasýtené masné kyseliny majú väčší antimikrobiálny potenciál než nasýtené masné kyseliny s rovnakou dĺžkou reťazca^{40,42} a existuje



Obr. 2. Hlavné masné kyseliny materskej kašičky: (1) kyselina 10-hydroxy-2-decénová, (2) kyselina 10-hydroxydekánová, (3) kyselina 3,10-dihydroxydekánová, (4) kyselina 8-hydroxyoktánová, (5) kyselina sebaková, (6) kyselina 2-decén-1,10-diová

priama korelácia medzi počtom dvojitych väzieb a antimikrobiálnou účinnosťou. Dvojité väzby sa vyskytujú prevažne v *cis* orientácii, ktorá je spojená s vyššou antimikrobiálnou aktivitou VMK, než v prípade väzby v *trans* orientácii⁴³. Okrem schopnosti priamej inhibície rastu vytvárajú VMK nevyhovujúce podmienky pre rast mikroorganizmov pomocou udržiavania nízkeho pH, napríklad na povrchu pokožky⁴⁴.

V súčasnosti neexistujú exaktné poznatky o tom, ako pôsobia VMK na baktérie, ale boli popísané viaceré možné mechanizmy ich účinku. Cieľom VMK je cytoplazmatická membrána a rôzne esenciálne procesy spojené s membránou. Vďaka amfipatickej štruktúre môžu VMK vytvárať dočasné, prípadne trvalé póry v membránach a pri vyšších koncentráciách môžu solubilizovať časti membrán, pričom môže dochádzať k uvoľňovaniu membránových proteínov alebo väčších agregátov fosfolipidovej dvojvrstvy^{45,46}. V dôsledku toho sa permeabilizuje membrána a môže dôjsť až k celkovej lýze bunky⁴⁷. Kľúčovými membránovými procesmi, ktoré sú atakované VMK, sú elektrónový transport a s tým súvisiaca oxidatívna fosforylácia⁴⁸. Ďalšie mechanizmy inhibujúce bakteriálny rast môžu spočívať v inhibícii membránových a cytoplazmatických enzýmov zahŕňajúcich aj enzýmy potrebné pre syntézu mastných kyselín^{49,50} a v produkcii toxických peroxidov a autooxidačných produktov⁵¹ (obr. 3).

6.1. Narušenie elektrón-transportného reťazca

Elektrón-transportný reťazec baktérií je lokalizovaný na vnútornej strane plazmatickej membrány. VMK sú

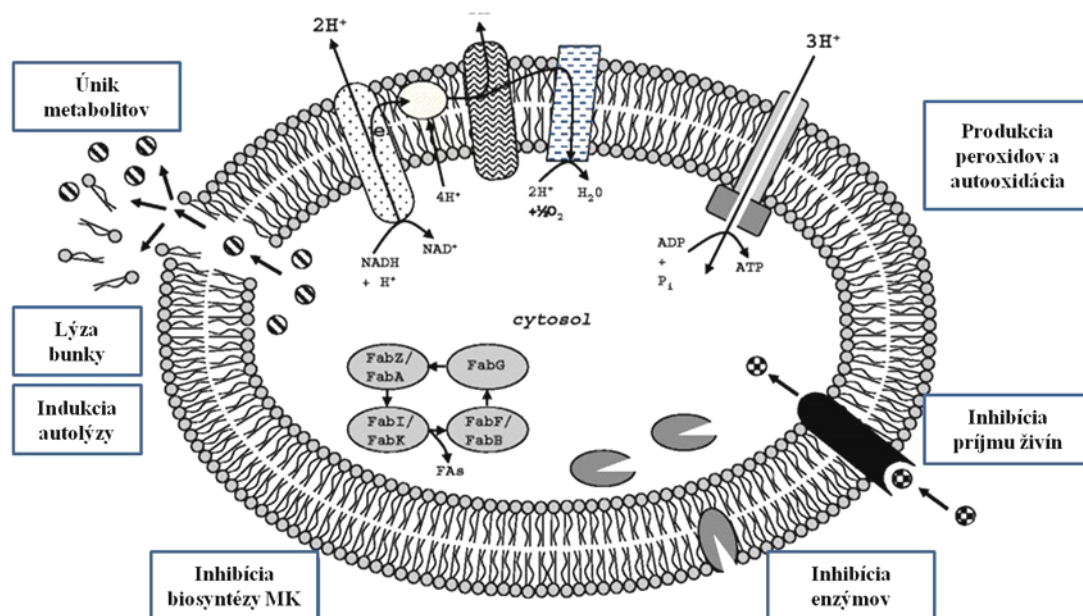
pravdepodobne schopné priamej väzby na prenášače cytoplazmatickej membrány transportujúce elektróny, prípadne sú tieto premiestnené alebo vytlačené z pôvodného miesta v dôsledku inkorporácie VMK. Narušenie reťazca môže byť spôsobené tiež inzerciou VMK medzi molekuly prenášačov, čím sa zabráni ich interakcii⁵³. Nenasýtené VMK môžu tiež zvyšovať fluiditu membrány, a to vďaka *cis*-väzbám. Tie spôsobujú prehnutie a skrútenie uhlíkového reťazca molekuly, ktoré znemožňuje pevnú inkorporáciu molekuly mastnej kyseliny do membrány⁴⁶.

6.2. Narušenie oxidatívnej fosforylácie

Tento mechanizmus je spojený s predpokladanou priamou väzbou VMK na ATP-syntázu, ktorá je lokalizovaná na vnútornej časti membrány. To môže spôsobiť obmedzenie alebo úplné vyradenie enzýmu, a tým redukciu tvorby ATP (cit.⁵⁴). Okrem toho by mohli VMK narušiť protónový gradient a membránový potenciál bunky zvýšením permeability membrány pre protóny⁵⁵.

6.3. Permeabilizácia membrány a lýza buniek

Nenasýtené VMK môžu zvyšovať fluiditu a permeabilitu membrány, čím dochádza k zníženiu jej stability. Následkom môže byť inhibícia rastu, prípadne usmrtenie bunky. Vo vysokých koncentráciách majú VMK pravdepodobne schopnosť pôsobiť ako detergenty. Destabilizujú veľké časti membrán, čo má za následok celkovú lýzu bunky⁴⁷.



Obr. 3. Možné mechanizmy účinku voľných mastných kyselín (prebraté z práce⁵², preložené, nepatrne modifikované)

6.4. Produkcia peroxidov a autooxidácia

Niektorí autori popisujú, že za antibakteriálne aktivity VMK sú zodpovedné aj ich sekundárne degradačné produkty. Významnú úlohu zohráva peroxid vodíka a voľné radikály⁵⁰, prípadne autooxidačné produkty nenasýtených VMK, konkrétne oxylipíny a aldehydy s krátkymi reťazcami, u ktorých boli pozorované antibakteriálne účinky⁵⁶.

7. Záver

Antimikrobiálne látky MK proteínového a lipidového charakteru predstavujú pomerne rozsiahlu skupinu látok. Môžu pôsobiť rôznymi mechanizmami voči Gram-pozitívnym aj Gram-negatívnym mikroorganizmom, ktoré zahŕňajú pôsobenie na povrchové, ako aj intracelulárne ciele bakteriálnych buniek. V porovnaní s antibiotikami sú menej účinné. To znižuje atraktivitu ich použitia v terapeutickú praxi. Oproti antibiotikám majú však výhodu (najmä AMP) v tom, že vytvorenie rezistencie mikroorganizmov voči týmto látkam je menej pravdepodobné⁵⁷. Z tohto dôvodu je možné uvažovať o terapeutickom využití najúčinnějších z nich, a to buď samostatne alebo ako synergických zložiek vo vhodných kombináciách s inými antimikrobiálnymi látkami a antibiotikami. Preparáty s ich obsahom by mohli pomôcť aj v boji s multirezistentnými kmeňmi patogénnych mikroorganizmov. Najperspektívnejšie sa zdá byť ich využitie pri liečení kožných infekcií. Veľký potenciál pre terapeutické účely predstavuje 10-HDA. Okrem antimikrobiálnych účinkov boli popísané jej neurogéne⁵⁸, antitumorové⁵⁹ a imunomodulačné⁶⁰ účinky, čo naznačuje možnosť jej širšieho terapeutického použitia.

Najpravdepodobnejšie sa javí využitie antimikrobiálnych látok MK v prirodzenej ochrane včelstiev pred pôsobením mikrobiálnych patogénov spôsobujúcich choroby včelieho plodu. Vyššie uvedené poznatky o účinnosti niektorých látok MK voči patogénu *P. larvae* spôsobujúcemu mor včelieho plodu naznačujú, že MK by mohla byť jedným z faktorov, ktoré by mohli mať vplyv na rezistenciu včelstiev voči tejto chorobe. Šľachtenie včelstiev smerom k ich schopnosti produkovať MK s vyššou antipatogénnou aktivitou by mohlo pomôcť v boji proti tejto závažnej chorobe spôsobujúcej významné ekonomické straty včelárom a poľnohospodárom závislým od opeľovania.

Je zrejme, že je potrebný ďalší výskum, aby sa získalo viac poznatkov o individuálnom a kombinovanom pôsobení antimikrobiálnych látok MK voči rôznym cieľovým patogénom v *in vivo* systémoch. Nové poznatky by mohli posunúť diskutované aplikačné potenciály týchto látok do oblasti ich reálneho využívania.

Táto práca bola podporená Vedeckou grantovou agentúrou ministerstva školstva Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied, projekt VEGA 2/0175/15.

LITERATÚRA

1. Beetsma J.: *Bee World* 60, 24 (1979).
2. Brouwers E. V. M., Ebert R., Beetsma J.: *J. Apicult. Res.* 26, 11 (1987).
3. Howe S. R., Dimick P. S., Benton A. W.: *J. Apicult. Res.* 24, 52 (1985).
4. Asencot M., Lensky Y.: *Insect Biochem.* 18, 127 (1988).
5. Sabatini A. G., Marcazzan G. L., Caboni M. F., Bogdanov S., Almeida-Muradian L. B.: *J. Apicult. Res.* 1, 1 (2009).
6. Lercker G., Caboni M. F., Vecchi M. A., Sabatini A. G., Nanetti A.: *Apicoltura* 8, 27 (1992).
7. Takenaka T., Echigo T.: *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 57, 1203 (1983).
8. Albert Š., Klaudiny J.: *J. Insect Physiol.* 50, 51 (2004).
9. Schmitzová J., Klaudiny J., Albert S., Schröder W., Schreckengost W., Hanes J., Júdová J., Šimúth J.: *Cell. Mol. Life Sci.* 54, 1020 (1998).
10. Schonleben S., Sickmann A., Mueller M. J., Reinders J.: *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1087 (2007).
11. Fujiwara S., Imai J., Fujiwara M., Yaeshima T., Kawashima T., Kobayashi K. J.: *Biol. Chem.* 265, 11333 (1990).
12. Klaudiny J., Albert S., Bachanová K., Kopernický J., Šimúth J.: *Insect Biochem. Mol.* 35, 11 (2005).
13. Fontana R., Mendes M. A., de Souza B. M., Konno K., César L. M., Malaspina O., Palma M. S.: *Peptides* 25, 919 (2004).
14. Biliková K., Mirgorodskaya E., Bukovská G., Gobom J., Lehrach H., Šimúth J.: *Proteomics* 9, 2131 (2009).
15. Blum M. S., Novak A. F., Taber S.: *Science* 130, 452 (1959).
16. Yatsunami K., Echigo T.: *Bull. Fac. Agric., Tamagawa Univ.* 25, 13 (1985).
17. Melliou E., Chinou I.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 8987 (2005).
18. Bulet P., Hetru C., Dimarcq J. L., Hoffmann D.: *Dev. Comp. Immunol.* 23, 329 (1999).
19. Casteels-Josson K., Zhang W., Capaci T., Casteels P., Tempst P.: *J. Biol. Chem.* 269, 28569 (1994).
20. Klaudiny J., Bachanová K., Kohútová L., Džúrová M., Kopernický J., Majtán J.: *Biologia* 67, 200 (2012).
21. Biliková K., Gusui W., Šimúth J.: *Apidologie* 32, 275 (2001).
22. Bachanová K., Klaudiny J., Kopernický J., Šimúth J.: *Apidologie* 33, 259 (2002).
23. Hancock R. E., Rozek A.: *FEMS Microbiol. Lett.* 206, 143 (2002).
24. Reddy K. V. R., Yedery R. D., Aranha C.: *Int. J. Antimicrob. Agents* 24, 536 (2004).
25. Jenssen H., Hamill P., Hancock E. W.: *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 491 (2006).
26. Wu M., Maier E., Benz R., Hancock R. E.: *Biochemistry* 38, 7235 (1999).
27. Powers J. P., Tan A., Ramamoorthy A., Hancock R.

- E.: *Biochemistry* 44, 15504 (2005).
28. Leontiadou H., Mark A. E., Marrink S. J.: *J. Am. Chem. Soc.* 128, 12156 (2006).
 29. Mihajlovic M., Lazaridis T.: *Biochim. Biophys. Acta.* 1798, 1485 (2010).
 30. Pálffy R., Gardlik R., Behuliak M., Kadasi L., Turna J., Celec P.: *Mol. Med.* 15, 51 (2008).
 31. Mátyus E., Kandt C., Tieleman D. P.: *Curr. Med. Chem.* 14, 2789 (2007).
 32. Plettner E., Slessor K. N., Winston M. L., Oliver J. E.: *Science* 271, 1851 (1996).
 33. Lercker G., Capella P., Conte L. S., Ruini F., Giordani G.: *Lipids* 16, 912 (1981).
 34. Noda N., Umebayashi K., Nakatani T., Miyahara K., Ishiyama K.: *Lipids* 40, 833 (2005).
 35. Isidorov V. A., Bakier S., Grzech I.: *J. Chromatogr. B* 885–886, 109 (2012).
 36. Bloodworth B. C., Harn C. S., Hock C. T., Boon Y. O.: *J. AOAC Int.* 78, 1019 (1995).
 37. Antinelli J. F., Zeggane S., Davico R., Rognone C., Faucon J. P., Lizzani L.: *Food Chem.* 80, 85 (2003).
 38. Ferioli F., Marcuzzan G. L., Caboni M. F.: *J. Sep. Sci.* 30, 1061 (2007).
 39. Zhou J. H., Xue X. F., Li Y., Zhang J. Z., Zhao J.: *J. AOAC Int.* 90, 244 (2007).
 40. Zheng C. J., Yoo J. S., Lee T. G., Cho H. Y., Kim Y. H., Kim W. G.: *FEBS Lett.* 579, 5157 (2005).
 41. Šedivá M.: *Dizertačná práca*. Univerzita Komenského, Bratislava 2014.
 42. Desbois A. P., Lebl T., Yan L., Smith V. J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81, 755 (2008).
 43. Feldlaufer M. F., Knox D. A., Lusby W. R., Shimanuki H.: *Apidologie* 24, 95 (1993).
 44. Takigawa H., Nakagawa H., Kuzukawa M., Mori H., Imokawa G.: *Dermatology* 211, 240 (2005).
 45. Chamberlain N. R., Mehrtens B. G., Xiong Z., Kapral F. A., Boardman J. L., Rearick J. I.: *Infect. Immun.* 59, 4332 (1991).
 46. Stulnig T. M., Huber J., Leitinger N., Imre E.-M., Angelisová N. P., Waldhäusl W.: *J. Biol. Chem.* 276, 37335 (2001).
 47. Shin S. Y., Bajpai V. K., Kim H. R., Kang S. C.: *LWT - Food Sci. Technol.* 40, 1515 (2007).
 48. Wojtczak L., Więckowski M. R.: *J. Bioenerg. Biomembr.* 31, 447 (1999).
 49. Won S. R., Hong M. J., Kim Y. M., Li C. Y., Kim J. W., Rhee H. I.: *FEBS Lett.* 581, 4999 (2007).
 50. Hamel F. G.: *Metabolism* 58, 1047 (2009).
 51. Schönfeld P., Wojtczak L.: *Free Radical Biol. Med.* 45, 231 (2008).
 52. Desbois A. P., Smith J.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 1629 (2010).
 53. Peters J. S., Chin C. K.: *Plant Physiol. Biochem.* 41, 117 (2003).
 54. Galbraith H., Miller T. B.: *J. Appl. Bacteriol.* 36, 659 (1973).
 55. Boyaval P., Corre C., Dupuis C., Roussel E.: *Lait* 75, 17 (1995).
 56. Adolph S., Bach S., Blondel M., Cueff A., Moreau M., Pohnert G., Poulet S. A., Wichard T., Zuccaro A.: *J. Exp. Biol.* 207, 2935 (2004).
 57. Bulet P., Stöcklin R.: *Protein Peptide Lett.* 12, 3 (2005).
 58. Hattori N., Nomoto H., Fukumitsu H., Mishima S., Furukawa S.: *Biomed. Res.* 28, 261 (2007).
 59. Izuta H., Chikaraishi Y., Shimazawa M., Mishima S., Hara H.: *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 6, 489 (2009).
 60. Mihajlovic D., Vucevic D., Chinou I., Colic M.: *Eur. Food Res. Technol.* 238, 881 (2014).

M. Šedivá and J. Klaudiny (*Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Bratislava*): **The Antimicrobial Substances of Royal Jelly**

Royal jelly (RJ) is an important product of bees. It is a unique source of bioactive compounds, among others of the substances with antimicrobial properties. Five antimicrobial compounds with protein and lipid structures occur in RJ: peptides defensin 1, jelleins and protein apalbumin 2a as well as various derivatives of saturated and unsaturated fatty acids with 8–12 C atoms. 10-Hydroxy-2-decenoic acid, one of the main components of RJ, shows various biological activities. Antimicrobial substances of RJ are active against the tested strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria. Their antimicrobial activity is mediated by mechanisms leading to the increased permeability of the cytoplasmic membrane or consists in the inhibition of intracellular processes. Several RJ antimicrobial compounds deserve further research due to their potential applications in medical, veterinary and apidological practice.