

SADAŠNJA ISKUSTVA I PERSPEKTIVE PRIMENE BROMELAINA U MEDICINI

Nataša Milić, Maja Milanović, Svetlana Goločorbin Kon, Nataša Milošević
Katedra za farmaciju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad

CURRENT EXPERIENCE AND FUTURE PERSPECTIVES OF BROMELAIN APPLICATION IN MEDICINE

Natasa Milic, Maja Milanovic, Svetlana Golocorbin Kon, Natasa Milosevic
Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

SAŽETAK

Bromelain je kompleksna mešavina različitih tiol endopeptidaza koje se dobijaju iz stabljike ananasa (*Ananas comosus*, fam. Bromeliaceae). Bromelain se koristi u prehrambenoj industriji kao sredstvo za omekšavanje mesa, bistrenje piva i slično. Veliki broj sprovedenih ispitivanja na kulturama ćelija i na životinjama pokazuju da bromelain ima antiedematozni, analgetički, antikoagulantni, antiinflamatorni, imunomodulatorni i hemioprotektivni efekat. Međutim, postoji mali broj kliničkih studija koja u kliničkim uslovima nedvosmisleno dokazuju terapijske efekte bromelaina za lečenje gojaznosti, sinusitisa, bola nakon ekstrakcije zuba, osteoartritis, pitirijaze, opekotina i kardiovaskularnih oboljenja kao što su angina pectoris, prolazni ishemični napad ili tromboflebitis. Ispitivanja hemioprotektivnog dejstva tek su počela, a studije na ljudima još uvek nisu obavljene. Sva dosadašnja ispitivanja potvrđuju da se bromelain dobro podnosi i izaziva mali broj neželjenih dejstava. Stoga su neophodna nova ispitivanja koja bi potvrdila ulogu bromelaina u terapiji pojedinih patoloških promena. U ovom radu dat je pregled kliničkih istraživanja u kojima su potvrđena pojedina farmakološka svojstva bromelaina, ali i odabranih *in vitro* i *in vivo* istraživanja koja predstavljaju osnovu za buduća ispitivanja na ljudima.

Ključne reči: bromelaini; ananas; biomedicinsko ispitivanje.

Bromelain je sirov, vodeni ekstrakt stabljike i ploda ananasa (*Ananas comosus* fam. Bromeliaceae) i predstavlja kompleksnu mešavinu različitih tiol endopeptidaza, raznovrsnih glikoliziranih enzimskih vrsta papainske superfamilije enzima koji imaju različitu proteolitičku aktivnost (1, 2). Dobija se iz hladnog soka ananasa centrifugiranjem, ultrafiltracijom, liofilizacijom i drugim postupcima. Smatra se da je bromelain glikoprotein sastavljen od jednog polipeptidnog i jednog bočnog oligosaharidnog lanca koji je vezan za asparagin. Oligosaharidni lanac sadrži monosaharide: D-glukozamin, D-manozu, D-ksilozu i L-fukozu u odnosu 2 : 2 : 1 : 1. Polipeptidni lanac je sastavljen od 211 (2) rezidua i sadrži 15 lizinskih ostataka (3, 4). Bromelain ima izuzetnu termičku stabilnost i zadržava svoju proteolitičku aktivnost na temperaturi između 40 °C i 60 °C na kojoj

ABSTRACT

Bromelain is a complex mixture of different thiol endopeptidases which is derived from the pineapple stems (*Ananas comosus*, fam. Bromeliaceae). Bromelain is used in food industry for meat tenderizing, beer purification etc. A great number of studies conducted on cell cultures and experimental animals indicate that bromelain possesses anti-edematous, analgesic, anti-coagulant, anti-inflammatory, immunomodulatory and hepatoprotective effect. However, there are only a few clinical studies which, under the clinical conditions, undoubtedly prove the therapeutic effects of bromelain in obesity treatment, sinusitis, tooth extraction pain, osteoarthritis, pityriasis rosea, burns and cardiovascular diseases such as angina pectoris, transient ischemic attack (TIA) or thrombophlebitis. The studies of chemoprotective activity have just been started, while the studies on humans have not been conducted yet. All studies confirm that bromelain is well tolerated as well as that it causes few side effects. Therefore, it is necessary to conduct new studies that would confirm the role of bromelain in the therapy of certain pathological changes. An overview of the clinical studies in which some bromelain pharmacological effects have been confirmed is presented in this paper as well as selected *in vitro* and *in vivo* studies which are the base for further clinical research.

Key words: bromelains; ananas; biomedical research.

većina enzima postaje neaktivna ili se denaturiše, a stabilan je pri pH vrednosti u rasponu od 5 do 10 (5). Američka agencija za hranu i lekove (FDA) svrstava ga na listu bezbednih supstanci koje se koriste u prehrambenoj industriji kao aditiv za omekšavanje mesa. Komercijalno dostupni proizvodi uglavnom sadrže bromelain iz stabljike u obliku praška, krema, tableta ili kapsula. Danas se na tržištu nalaze preparati koji kombinuju bromelain s drugim prirodnim sastojcima, kao što su Phlogenzym[®], Wobenzym[®], BCQ[®], a postoje i preparati u kojima se bromelain nalazi samostalno npr. Ananase[®], Bromelain-POS[®] i slično (6).

Doziranje. Bromelain je bezbedan za primenu u terapijskim dozama 200–2000 mg (500–5000 FIP) dnevno tokom dužeg perioda. Utvrđena je terapijska efikasnost i u dozama 120–160 mg/dnevno. Najbolji rezultati postižu se

kada se primenjuje u dozi od 750 mg dnevno sat vremena pre obroka u obliku gastrozistentnih tableta (7), pri čemu se, što je dokazano na osnovu istraživanja, apsorbuje do 40% u nepromenjenom obliku preko creva (8).

Toksičnost. Bromelain, u dozi od 10 g/kg aplikovan oralno, pokazuje veoma malu toksičnost u eksperimentima sa miševima, pacovima i zečevima (9). Doza od 750 mg/kg dnevno data psima nije prouzrokovala nikakve toksične efekte ni posle šest meseci primene. Primenjen u dozi od 1500 mg/kg na pacovima bromelain nije uzrokovao nikakve promene unosa hrane, rasta, histologije srca, slezine i bubrega, niti promene hematoloških parametara (10). Takođe, nisu uočeni ni karcinogeni ili teratogeni efekti (8).

Interakcije sa lekovima. Bromelain povećava propustljivost tkiva za peniciline i tetracikline nakon oralne primene. Od 53 ispitivana pacijenta koji su oboleli od pneumonije, bronhitisa, tromboflebitisa, pijelonefritisa ili sa rektalnim apscesom, 23 nije reagovalo na antibiotsku terapiju. Uvođenjem bromelaina u kombinaciji s antibioticima, kod 22 od 23 pacijenta ispoljio se terapijski efekat antibiotika, što ukazuje na to da bromelain utiče na povećanje bioraspoloživosti antibiotika. Interakcije bromelaina s drugim lekovima nisu detektovane u kliničkim uslovima (7).

Neželjena dejstva. Bromelain se relativno dobro podnosi. Ozbiljna neželjena dejstva, osim alergijske reakcije na ananas, nisu saopštena. Najčešća neželjena dejstva bromelaina odnose se na gastrointestinalni trakt i uglavnom se manifestuju kao: povraćanje, dijareja, mučnina, bol u gastrointestinalnom traktu i slično, dok kod žena može da izazove pojačano menstrualno krvarenje (11). Preporučuje se oprez kod osoba sa hipertenzijom, jer velike doze mogu izazvati tahikardiju (12).

Mnogobrojni farmakološki efekti bromelaina detektovani su u *in vitro* i *in vivo* istraživanjima, ali je sprovedeno relativno malo kliničkih studija u kojima su nedvosmisleno potvrđena pojedina farmakološka svojstva bromelaina. U ovom radu sumirana su farmakološka dejstva bromelaina pokazana u kliničkim studijama i dat je osvrt na odabrana *in vitro* i *in vivo* istraživanja koja čine perspektivu primene bromelaina i daju smernice za buduća klinička ispitivanja.

Bromelain u terapiji gojaznosti. Kratkotrajno istraživanje u Koreji, sprovedeno na mladim gojaznim ženama uzrasta od 20 do 28 godina, pokazalo je da bromelain može da se koristi kao sredstvo protiv gojaznosti. Kod 10 žena koje su uzimale četiri nedelje 1 g dnevno hidrolizata bromelaina (molarne mase manje od 10.000 g/mol) u odnosu na 10 ispitanica, koje su u ovoj randomiziranoj studiji tretirane placebo, zapaženo je statistički značajno smanjenje telesne mase, smanjenje procenta idealne mase (PIBW) i indeksa telesne mase (BMI). U ispitivanoj grupi u odnosu na placebo zabeleženi su, takođe, veći gubitak masnog tkiva, manji parametri

testa kožnih nabora i manji obim struka i kukova u poređenju s početnim vrednostima. Međutim, ispitivanje je trajalo veoma kratko, na veoma malom broju ispitanica, zbog čega ove vrednosti nisu statistički značajne ($p > 0,05$), što ne umanjuje terapijski efekat bromelaina u borbi sa gojaznošću (13). Potrebno je izvesti veće multicentrično randomizirano placebokontrolisano istraživanje koje bi potvrdilo ili odbacilo mogućnost primene bromelaina kao dijetetskog suplementa protiv gojaznosti. Dobijeni rezultati potvrdili su prethodnu *in vitro* studiju na 3T3-L1 adipocitima u kojoj je utvrđeno da bromelain (u dozi 50 $\mu\text{g/ml}$ u periodu od osam dana) indukuje apoptozu i lipolizu u zrelih adipocitima (14).

Antiedematozno dejstvo. Multicentrična studija pokazala je da bromelain ima antiedematozno dejstvo i da je podjednako efikasan kao i ketoprofen u terapiji postoperativnog edema i bola kod ekstrakcije umnjaka. Ova studija sprovedena je na 46 pacijenata koji su posle 3.8 ekstrakcije zuba (umnjak leve donje vilice) dobili antibiotsku terapiju (cefazolin 1 g/12 h/i. m.) i bromelain 40 mg/6 h *per os*. Posle 60 dana obavljena je 4.8 ekstrakcija zuba (umnjak desne donje vilice) kod istih pacijenta, koji su tretirani istim antibiotikom šest dana, ali su umesto bromelaina šest dana dobijali ketoprofen (100 mg/12 h *per os*). Na osnovu VAS (*Visual Analogue Scale*) procenjeni su postoperativni bol i edemi koji su potvrdili da se antiedematozni i analgetski efekti bromelaina nisu statistički značajno razlikovali od efekata ketoprofena. Istraživanje je pokazalo da je bromelain izuzetno efikasan u smanjenju hemotakse leukocita i inhibicije produkcije citokina, da je pojačao reapsorpciju hematoma i penetraciju antibiotika u zapaljeno tkivo povećanjem kapilarne permeabilnosti (15). Dobijeni rezultati istraživanja potvrdili su ranije pretpostavke o efikasnosti bromelaina u prevenciji edema, jer je bromelain u *in vivo* ispitivanjima na životinjskim modelima bio efikasniji od indometacina, acetilsalicilne kiseline, oksifenbutazona i slično (7). Međutim, bromelain nije pokazao efekat u terapiji iščašenog gležnja. U istraživanju koje je obuhvatilo čak 721 pacijenta, osmišljeno kao dvostrukoslepo i multicentrično, ispitivan je uticaj bromelaina (Phlogenzym®), dvostrukim kombinacijama enzima: bromelain-tripsin, bromelain-rutozid, tripsin-rutozid, pojedinačnih komponenti i placeba u terapiji akutne traume gležnja u trajanju od 10 dana. Posle četvrtog dana pacijenti su dobijali i mehaničku fiksaciju zgloba. Ispostavilo se da fiksiranje zgloba uz placebo pokazuje najbolji terapijski efekat dok su hidrolitički enzimi aplikovani u kombinaciji s mehaničkom potporom oko zgloba – imali gori terapijski ishod. Jedna mala podgrupa koja je bila tretirana samo Phlogenzymom® (pacijenti su odbili mehaničku potporu za zglob) imala je značajniju redukciju bola i edema u odnosu na sve analizirane grupe, zbog čega autori uz zaključak predlažu ispitivanja u kojima bi povrede bile tretirane samo Phlogenzymom®, bez mehaničke potpore traumatizovanog zgloba.

vanog zgloba. Pretpostavlja se da je Phlogenzym® efikasniji ukoliko je zglob pokretan i da imobilizacija zgloba umanjuje njegovu terapijsku efikasnost (16).

Antiinflamatorno dejstvo. U randomiziranoj studiji na pedijatrijskoj populaciji s akutnim sinusitisom bromelain je bio efikasniji od standardne terapije i redukovao je nazalnu opstrukciju, rinoreju i inflamatorni bol. Istraživanje je obuhvatilo 116 dece do 11 godina od kojih je 62 deteta dobijalo Bromelain-POS®, 34 kombinaciju Bromelain-POS® sa standardnom terapijom, a 20 samo standardnu terapiju. Samostalno aplikovan bromelain pokazao je najbolje rezultate i najkraće vreme potrebno za povlačenje simptoma koje se statistički značajno razlikuje od vremena potrebnog za povlačenje simptoma kod pacijenata tretiranih kombinovanom terapijom, odnosno standardnom terapijom koja obuhvata antibiotike, analgetike, sekretolitike i nazalne sprejeve. Samo se kod jednog deteta pojavila blaža alergijska reakcija na bromelain, dok su ostali ispitivani pacijenti odlično podnosili terapiju (17). Iako u literaturi ne postoje druga klinička istraživanja, antiinflamatorni efekat bromelaina dokazan je u ispitivanjima na životinjama. Kod miševa kojima je ovalbuminom indukovana respiratorna alergijska reakcija, a koji su bili tretirani bromelainom smanjen je broj leukocita, eozinofila, CD4+ i CD8+ limfocita, IL-13 i odnos CD4+/CD8+ u odnosu na kontrolnu grupu tretiranu fiziološkim rastvorom (18). Bromelain je u istraživanju na miševima s inflamatornom kolitisom takođe pokazao antiinflamatorno delovanje (19).

Imunomodulatorno dejstvo. U studiji koja je objavljena 2013. godine, izvršenoj u Nemačkoj na 15 zdravih dobrovoljaca od 18 do 50 godina, utvrđeno je da oralno aplikovan bromelain u dozi od 3000 FIP izaziva promene u aktivnosti T-limfocita (prevashodno T helper limfocita) i to i Th1 i Th2 tipa. Nije poznato kakav bi efekat bromelain imao kod ovih ćelija u slučaju postojanja infekcije, ali je nedvosmisleno pokazano da i jedna doza bromelaina uzrokuje stimulaciju imunog sistema. Pretpostavlja se da ili bromelain intaktan stiže u cirkulaciju ili da deluje indirektno preko proteaza-zavisnih receptora. Bromelain stimuliše intestinalne epitelne ćelije koje zatim kaskadno menjaju aktivnost ćelija mukoznog intestinalnog imunog sistema što prouzrokuje lokalnu sekreciju sistemski aktivnih medijatora koji aktiviraju T limfocite u cirkulaciji. Interesantno je da pri dozi od 1000 FIP bromelain nije pokazao imunomodulatorni efekat. Stoga se smatra da je na doznazavisnan način uzrokovao pojačanu aktivnost imunog sistema kod zdravih dobrovoljaca (20). *In vitro* i *in vivo* ispitivanja na miševima pokazala su da bromelain simultano pojačava i umanjuje odgovor T ćelija tako što stimuliše T helper ćelije, a inhibira aktivnost T ćelija. Bromelain je u *in vitro* uslovima pojačao ekspresiju receptora za T ćelije i anti-CD-28-posredovanu proliferaciju T ćelija u kulturi splenocita povećanjem kostimulatorne aktivnosti T helper

ćelija. Međutim, bromelain je smanjio produkciju IL-2 u kulturi splenocita i nije uticao na TCR i CD28-indukovanu proliferaciju prečišćenih CD4 ćelija. U *in vivo* ispitivanju na miševima bromelain je smanjio akumulaciju IL-2 mRNA (21).

Bromelain u terapiji pitirijaze. Imunomodulatorno i antiinflamatorno dejstvo bromelaina korišćeno je u jednoj pilot studiji u Italiji koja je obuhvatila osam pacijenata sa hroničnom pitirijazom *lichenoides*. Zbog nepoznate etiologije, terapija ove bolesti je otežana, terapijski efekti su nepredvidivi, a efikasnost često nije zadovoljavajuća. Pacijenti su bili uključeni u studiju tri meseca. Prvih mesec dana uzimali su tri puta dnevno po 40 mg bromelaina, zatim mesec dana dva puta po 40 mg bromelaina i poslednjeg meseca samo po 40 mg bromelaina dnevno. Svi pacijenti su posle završene terapije izlečeni. Dva od osam ispitanika su posle šest meseci imali relaps, ali su novim ciklusom terapije opet izlečeni. Kod ostalih šest pacijenata, bolest se nije vratila ni posle 12 meseci. Ove efekte bromelaina treba potvrditi u daljim ispitivanjima (22).

Bromelain u terapiji opekotina. Najnovije multicentrično istraživanje koje je obuhvatilo oko 190 pacijenata sa opekotinama različitog stepena, kako kod dece tako i kod odraslih, pokazalo je da bromelain u patentiranoj formulaciji NexoBrid™ ima bolji terapijski efekat od standardne nege opekotina, bez obzira na to da li je bila u pitanju standardna hirurška nega ili standardna nehirurška nega sa sulfadiazinom. U ovom istraživanju učestvovali su pacijenti od 4 godine do 55 godina s termičkim opekotinama koje su obuhvatale između 5% i 30 % površine tela. Kod pacijenata tretiranih formulacijom koja sadrži bromelain nekrotično tkivo odstranjivano je u proseku posle drugog dana, a kod pacijenata sa standardnom negom tek posle sedam dana. Bromelain je takođe smanjio broj opekotina koje zahtevaju hiruršku intervenciju, odnosno površinu hirurški tretiranu u odnosu na pacijente koje su imali standardnu negu. Treba istaći da je kod dece tretirane bromelainom vreme zatvaranja rane bilo znatno kraće nego kod dece tretirane placebom, mada je, ukupno gledano, vreme zatvaranja rane i stvaranja novog tkiva bilo produženo kod pacijenata tretiranih bromelainom u odnosu na standardnu terapiju. Generalno, ožiljci koji su se formirali kasnije po svojim karakteristikama nisu se razlikovali od ranije formiranih ožiljaka. Kada su u pitanju opekotine ruku, ni kod jednog od 31 pacijenta tretiranog bromelainom nije bilo potrebe da se nekrotično tkivo uklanja hirurški, dok je kod 10 % pacijenata (4 od 41) tretiranih standardnom terapijom nekrotično tkivo hirurški odstranjeno. Pacijenti su bili praćeni još dve godine nakon tretmana da bi se utvrdili dugoročni efekti. Utvrđeno je da, bez obzira na tretman, ne postoji statistički značajna razlika u kvalitetu života pacijenata čije su opekotine tretirane na jedan ili na drugi način. Neželjena dejstva, kao što su groznica, bol, infekcija rane i pruritus bili su podjednako zastupljeni kod

pacijenata bez obzira na vrstu tretmana koji su dobijali (23). Dobijeni rezultati su u skladu s prethodno objavljenim podacima iste grupe autora, koji su dobijeni iz retrospektivne studije u kojoj je 69 pacijenata s dubokim opekotinama ruke tretirano Debrase® (formulacija bromelaina). Usled primene enzima, smanjen je broj pacijenata koji su posle dubokih opekotina ruku tretirani hirurški, a takođe je statistički znatno smanjen procenat kože koja je posle opekotina morala hirurški da se obradi (24). Dobijeni rezultati u skladu su sa in vivo istraživanjem na svinjama tretiranim formulacijom Debrase® posle opekotina uzrokovanih mesinganim češljem ugrejanim ključalom vodom. U istraživanju na svinjama bromelain je delimično očuvao neopečene međupovršine i uklonio nekrotični sloj kože nakon samo četvoročasovne aplikacije (25, 26).

Bromelain u terapiji osteoartritisa. Najviše kliničkih istraživanja sa bromelainom obavljeno je u oblasti osteoartritisa. Nekoliko nezavisnih otvorenih kliničkih studija nedvosmisleno potvrđuju analgetički efekat bromelaina koji ne zaostaje za nesteroidnim antiinflamatornim lekovima kao što je diklofenak. U studiji iz 1996. godine, 80 pacijenata sa akutnim osteoartritisom kolena obuhvaćeno je dvostrukoslepom studijom u kojoj je u periodu od 28 dana ispitivana efikasnost bromelaina (kao Wobenzym®) u poređenju s diklofenakom. Bromelain je podjednako efikasno kao i diklofenak umanjio bol u mirovanju, pokretu, kao i bol u toku noći, pri čemu nisu zabeležene promene u hematološkim parametrima. Oba leka pokazala su isti klinički potencijal. Neželjena dejstva bromelaina nisu se znatno razlikovala od neželjenih dejstava diklofenaka (27). Drugo istraživanje, koje je obuhvatilo 73 pacijenta s akutnim artritismom kolena, uporedilo je efikasnost bromelaina iz Phlogenzyma® u odnosu na diklofenak i potvrdilo je ove nalaze. Na osnovu VAS, koja je korišćena u ovom dvostrukoslepom istraživanju, pacijenti su procenjivali bol pre početka istraživanja, posle 21 dana terapije i 28 dana nakon prekida terapije. Bromelain je pokazao isti klinički potencijal kao i diklofenak ne samo posle terapije nego i dugoročno (četiri nedelje posle prekida terapije), a pacijenti su ocenili da ga podnose „dobro“ i „veoma dobro“ (28). Identični rezultati o efikasnosti bromelaina (Phlogenzyma®) u poređenju s diklofenakom u terapiji akutnog osteoartritisa kolena publikovani su na osnovu dvostrukoslepeg istraživanja sprovedenog na 50 pacijenata (29). Bromelain u kombinaciji sa tripsinom i rutozidom, primenjen kod pacijenata (n = 52) sa osteoartritisom kolena u toku šest nedelja, potvrdio je svoj analgetički efekat i bio je podjednako efikasno kao i diklofenak (n = 51) (30). U svim studijama pacijenti su prema sopstvenoj proceni „dobro“, odnosno „vrlo dobro“ podnosili bromelain, a u studiji Tilwe i saradnika (29) čak i dnevnu dozu bromelaina od oko 1890 mg u obliku Phlogenzyma®. Osim toga, bromelain je na doznazavisano način umanjio

blag bol u kolenu kod inače zdravih dobrovoljaca. U ovom istraživanju 77 zdravih muškaraca podeljeno je u dve grupe i tretirano nižom dozom od 200 mg (n = 43) ili većom dozom od 400 mg bromelaina (n = 34). Utvrđeno je da je bromelain znatno umanjio bol kod svih učesnika nakon tridesetodnevnog tretmana, ali je zapaženo da su efekti statistički značajno bili izraženiji u grupi koja je dobijala veću dozu (31). Studija koja je obavljena u Austriji (publikovana na nemačkom jeziku i citirana u preglednom radu (32)) pokazuje da je bromelain (Phlogenzym®) takođe bio efikasan u terapiji osteoartritisa ramena kod 40 pacijenata u poređenju sa diklofenakom kao „zlatnim standardom“. Ista grupa autora predvođena Kleinom, u istraživanju objavljenom 2006. godine, sprovedenom u Reumatološkom centru „Ludwig Boltzmann“ (Institut za rehabilitaciju i interne bolesti) u Salfeldenu u Austriji, potvrdila je da bromelain nije inferioran u odnosu na diklofenak ni pri terapiji osteoartritisa kuka. U ovo dvostrukoslepo istraživanje uključeno je 90 pacijenata od kojih je 45 dobijalo Phlogenzym®, a 45 diklofenak. Utvrđeno je da je, nakon šestonedeljne terapije, smanjenje bola u odnosu na početno stanje u obe grupe bilo značajno, ali se statistički nije razlikovalo između grupa. Pacijenti su neznatno bolje podnosili Phlogenzym® nego standardnu terapiju (33).

Antikoagulantno dejstvo. Ispitavanje antikoagulantnog efekta bromelaina počelo je sedamdesetih godina XX veka i s prekidima traje do danas. Pored mnogobrojnih ispitivanja na životinjama i na kulturama ćelija, objavljeno je svega nekoliko kliničkih studija. Bromelain je u oralnoj dozi od 160 do 1000 mg na dobrovoljcima sa istorijom srčanog napada ili šloga, ali i na zdravim dobrovoljcima, uticao na smanjenje agregacije trombocita kod svih ispitanika (34). U dozi od 400 do 1000 mg minimizirao je simptome angine pektoris i tranzitornog ishemičnog napada (35). U dvostrukoslepoj placebo kontrolisanoj studiji na 73 pacijenta s tromboflebitisom, bromelain se takođe pokazao kao obećavajući lek (36). Novija istraživanja potvrđuju da bromelain doznazavisno povećava fibrinolitičku aktivnost, sprečava aktivaciju trombocita i njihovu adheziju za endotelne ćelije u in vitro ispitivanjima na humanim trombocitima. U in vivo istraživanju dokazano je da bromelain inhibira formiranje tromba kod pacova sa laserski indukovanom trombozom nakon oralne (60 mg/kg) i intravenske (30 mg/kg) primene (37). Nažalost, već 40 godina nije obavljena nijedna klinička studija koja bi dodatno potvrdila ili odbacila mogućnost primene bromelaina u terapiji angine pektoris, tromboflebitisa, tranzitorne srčane ishemije ili hipertenzije.

Šta očekivati u budućnosti? Dalje studije koje treba da potvrde terapijske efekte bromelaina kao analgetika, antiedematoznog, antiinflamatornog leka, ali i antikoagulantna i leka u terapiji gojaznosti izuzetno su značajne. Zapostavljena je primena bromelaina u terapiji kardiovaskularnog sistema jer preko 40 godina nije

obavljena nijedna klinička studija o efikasnosti bromelaina u ovoj oblasti i pored dobrih početnih rezultata u terapiji angine pektoris, tromboflebitisa i prolaznog ishemičnog napada. Do sada je objavljena samo jedna klinička studija u kojoj se ispitivao bromelain kao lek za gojaznost, pa su nove multicentrične, randomizirane studije izuzetno potrebne jer bromelain pokazuje i takav terapijski potencijal. Pored navedenih efekata za koje postoje i studije na ljudima, najnovija istraživanja bromelaina urađena na kulturama ćelija i na životinjama usmerena su ka ispitivanju mehanizma njegovog hemioprotektivnog dejstva. Topikalni tretman bromelainom odložio je nastanak tumora kože, ukupan broj nastalih tumora i veličinu nastalih tumora (38). Primena ksenografta tumorskih ćelija P-388 leukemije, sarkoma, Erlihovog ascites tumora (EAT), Luisovog plućnog karcinoma, MB-F10 melanoma i ACD-755 adenokarcinoma dojke kod miševa pokazala je da intraperitonealna primena bromelaina 24 sata posle inokulacije tumorskih ćelija miševima obezbeđuje (sem u slučaju melanoma) znatno povećanje indeksa preživljavanja u odnosu na kontrolnu grupu, a efekat je najizraženiji kod EAT (39). Najnovije istraživanje na ćelijama humanog kolonrektalnog karcinoma pokazalo je da bromelain smanjuje ćelijsku proliferaciju i stvaranje reaktivnih kiseoničnih radikala, a ima i proapoptotično dejstvo (40). S obzirom na to da su ta istraživanja pionirska u ovoj oblasti i da njihovi rezultati još nisu potkrepljeni kliničkim studijama, najbrojnije kliničke studije s bromelainom treba očekivati upravo u ispitivanju hemioprotektivnog dejstva, a posebno zato što pacijenti dobro podnose bromelain i što su neželjena dejstva pri njegovoj primeni malobrojna.

ZAHVALNOST

Rad je urađen u okviru projekta TR31029 „Funkcionalni proizvodi na bazi žita namenjeni osobama sa metaboličkim poremećajima“.

KONFLIKT INTERESA

Ne postoji konflikt interesa autora koji nemaju pozitivan stav prema određenom preparatu u odnosu na drugi, već su pojedeni preparati pod zaštićenim nazivom navedeni kao što je napisano u originalnim istraživanjima.

LITERATURA

- Tochi BN, Wang Z, Xu SZ, Zhang W. Therapeutic application of pineapple protease (bromelain): a review. *Pakistan J Nutr* 2008; 7: 513–20.
- Amid A, Ismail NA, Zusof F, Salleh HM. Expression, purification and characterization of a recombinant stem bromelain from *Ananas comosus*. *Process Biochem* 2011; 46: 2232–9.
- Ritonja A, Rowan AD, Buttle DJ, Rawlings ND, Turk V, Barrett AJ. Stem bromelain: Amino acid sequence and implications for weak binding of cystatin. *FEBS Letters* 1989; 247: 419–24.
- Xue Y, Wu CY, Branford-White CJ, Ning Y, Nie HL, Zhu LM. Chemical modification of stem bromelain with anhydride groups to enhance its stability and catalytic activity. *J Mol Catal B Enzym* 2010; 63: 188–93.
- Gautam SS, Mishra SK, Dash V, Goyal AK, Rath G. Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. *Thai J Pharm Sci* 2010; 34: 67–76.
- Orsini RA. Bromelain, safety and efficacy report. *Plast Reconstr Surg* 2006; 118: 1640–4.
- Maurer HR. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 1234–45.
- Pavan R, Jain S, Shradha, Kumar A. Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnol Res Int* 2012; 2012: 1–6. 976203. (<http://dx.doi.org/10.1155/2012/976203>)
- Taussig SJ, Yokoyama MM, Chinen A. Bromelain: a proteolytic enzyme and its clinical application: a review. *Hiroshima J Med Sci* 1975; 24: 185–93.
- Moss IN, Frazier CV, Martin GJ. Bromelain – the pharmacology of the enzyme. *Arch Int Pharmacodyn* 1963; 145: 166–89.
- Balch A. Prescription for Herbal Healing: An Easy-to-use A-Z Reference to hundreds of common disorders and their herbal remedies. 1st ed. London: Penguin Books Ltd, 2002.
- Gutfreund A, Taussig S, Morris A. Effect of oral bromelain on blood pressure and heart rate of hypertensive patients. *Hawaii Med J* 1978; 37: 143–146.
- Jung EY, Kim SY, Bae SH, Chang UJ, Choi JW, Suh HJ. Weight reduction effects of yeast hydrolysate below 10kDa on obese young women. *J Food Biochem* 2011; 35: 337–50.
- Marques AY, Maróstica MR, Pastore GM. Some nutritional, technological and environmental advances in the use of enzymes in meat products. *Enzyme Res* 2010; 2010: 1–8. 480923. (<http://dx.doi.org/10.4061/2010/480923>)
- Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, et al. Clinical trial with bromelain in third molar exodontia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 771–4.
- Kerkhoffs GM, Struijs PA, de Wit C, Rahlfs VW, Zwipp H, van Dijk CN. A double blind, randomised, parallel group study on the efficacy and safety of treating acute lateral ankle sprain with oral hydrolytic enzymes. *Br J Sports Med* 2004; 38: 431–5.

17. Braun JM, Schneider B, Beuth HJ. Therapeutic use, efficiency and safety of the proteolytic pineapple enzyme Bromelain-POS® in children with acute sinusitis in Germany. *In Vivo* 2005; 19: 417–21.
18. Secor ER Jr, Carson WF 4th, Cloutier MM, et al. Bromelain exerts anti-inflammatory effects in an ovalbumin-induced murine model of allergic airway disease. *Cell Immunol* 2005; 237: 68–75.
19. Hale LP, Greer PK, Trinh CT, Gottfried MR. Treatment with oral bromelain decreases colonic inflammation in the IL-10-deficient murine model of inflammatory bowel disease. *Clin Immunol* 2005; 116: 135–42.
20. Müller S, März R, Schmolz M, Drewelow B, Eschmann K, Meiser P. Placebo-controlled randomized clinical trial on the immunomodulating activities of low- and high-dose bromelain after oral administration—new evidence on the antiinflammatory mode of action of bromelain. *Phytother Res* 2013; 27: 199–204.
21. Engwerda CR, Andrew D, Ladhams A, Mynott TL. Bromelain modulates T cell and B cell immune responses in vitro and in vivo, 2001 cellular immunology. *Cell Immunol* 2001; 210: 66–75.
22. Massimiliano R, Pietro R, Paolo S, Sara P, Michele F. Role of bromelain in the treatment of patients with pityriasis lichenoides chronica. *J Dermatolog Treat* 2007; 18: 219–22.
23. Rosenberg L, Krieger Y, Bogdanov-Berezovski A, Silberstein E, Shoham Y, Singer AJ. A novel rapid and selective enzymatic debridement agent for burn wound management: A multi-center RCT. *Burns* 2014; 40: 466–74.
24. Krieger Y, Bogdanov-Berezovsky A, Gurfinkel R, Silberstein E, Sagi A, Rosenberg L. Efficacy of enzymatic debridement of deeply burned hands. *Burns* 2012; 38: 108–12.
25. Singer AJ, McClain SA, Taira BR, Rooney J, Steinhaff N, Rosenberg L. Rapid and selective enzymatic debridement of porcine comb burns with bromelain-derived Debrase: acute-phase preservation of noninjured tissue and zone of stasis. *J Burn Care Res* 2010; 31: 304–9.
26. Singer AJ, Taira BR, Anderson R, McClain SA, Rosenberg L. Reepithelialization of mid-dermal porcine burns after rapid enzymatic debridement with Debrase®. *J Burn Care Res* 2011; 32: 647–53.
27. Singer F, Oberleitner H. Drug therapy of activated arthrosis. On the effectiveness of an enzyme mixture versus diclofenac. *Wien Med Wochenschr* 1996; 146: 55–8.
28. Klein G, Kullich W. Short-term treatment of painful osteoarthritis of the knee with oral enzymes: a randomised, double-blind study versus Diclofenac. *Clin Drug Invest* 2000; 19: 15–23.
29. Tilwe GH, Beria S, Turakhia NH, Daftary GV, Schiess W. Efficacy and tolerability of oral enzyme therapy as compared to diclofenac in active osteoarthritis of the knee joint: an open randomised controlled clinical trial. *J Assoc Physicians India* 2001; 49: 621.
30. Akhtar NM, Naseer R, Farooqi AZ, Aziz W, Nazir M. Oral enzyme combination versus diclofenac in the treatment of osteoarthritis of the knee – a double-blind prospective randomized study. *Clin Rheumatol* 2004; 23: 410–5.
31. Walker AF, Bundy R, Hicks SM, Middleton RW. Bromelain reduces mild acute knee pain and improves well being in a dose dependant fashion in an open study of otherwise healthy adults. *Phytomedicine* 2002; 9: 681–6.
32. Brien S, Lewith G, Walker A, Hicks SM, Middleton D. Bromelain as a treatment for osteoarthritis: a review of clinical studies. *Evid Based Complement Alternat Med* 2004; 1: 251–7.
33. Klein G, Kullich W, Schnitker J, Schwann H. Efficacy and tolerance of an oral enzyme combination in painful osteoarthritis of the hip. A double-blind, randomised study comparing oral enzymes with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24: 25–30.
34. Heinicke RM, van der Wal L, Yokoyama M. Effect of bromelain (ananase) on human platelet aggregation. *Experientia* 1972; 28: 844–45.
35. Nieper HA. Effect of bromelain on coronary heart disease and angina pectoris. *Acta Med Empirica* 1978; 5: 274–78.
36. Seligman B. Oral bromelain as adjuncts in the treatment of acute thrombophlebitis. *Angiology* 1969; 20: 22–6.
37. Metzger C, Grabowska E, Eckert K, Rehse K, Maurer HR. Bromelain proteases reduce human platelet aggregation in vitro, adhesion to bovine endothelial cells and thrombus formation in rat vessels in vivo. *In Vivo* 1999; 13: 7–12.
38. Bhui K, Prasad S, George J, Shukla Y. Bromelain inhibits COX-2 expression by blocking the activation of MARK regulated NF-kappa B against skin tumor-initiation triggering mitochondrial death pathway. *Cancer Lett* 2009; 282: 167–76.
39. Baez R, Lopes M, Salas C, Hernandez M. In vivo antitumoral activity of stem pineapple (*Ananas cosmosus*) bromelain. *Planta Med* 2007; 73: 1377–83.
40. Romano R, Fasolino I, Pagano E, et al. The chemopreventive action of bromelain, from pineapple stem (*Ananas cosmosus* L.), on colon carcinogenesis is related to antiproliferative and proapoptotic effects. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58: 457–65.