



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Análisis documental del potencial del propóleo como posible coadyuvante al tratamiento farmacológico para la infección por SARS-CoV-2”

TESIS

para obtener el título de:
Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Presenta:

Daniela Amairany López Mercado

ASESOR:

Dra. Betsabé Rodríguez Pérez

COASESOR:

Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional**
Análisis documental del potencial del propóleo como posible coadyuvante al tratamiento farmacológico para la infección por SARS-CoV-2

Que presenta la pasante: **Daniela Amairany López Mercado**
Con número de cuenta: **314279855** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de octubre de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. Brígida del Carmen Camacho Enriquez	
VOCAL	M. en C. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
SECRETARIO	Dra. Betsabé Rodríguez Pérez	
1er. SUPLENTE	M. en C. Erik González Ballesteros	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Iván Santillán Cano	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.

MCVB/javg

Tesis apoyada por el Laboratorio de Servicios de Análisis de Propóleos (LASAP) y por los proyectos PAPIIT IN223719: Evaluación de la potencialidad antimicrobiana de propóleos de abeja sin aguijón de México y PIAPI 2011: Investigación del propóleo de abejas nativas (abejas sin aguijón) para su aplicación en Medicina Veterinaria y Humana.



La realización del presente también se debe al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por la beca otorgada con número de folio 260021.

AGRADECIMIENTOS

La posibilidad de realizar este trabajo de investigación y la redacción de esta tesis ha sido gracias al apoyo económico y moral de muchas instituciones y personas, por ello mi agradecimiento:

A la Universidad Nacional Autónoma de México que, a través de la preparatoria número cinco y la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, permitió mi desarrollo personal y profesional.

De igual manera agradezco el apoyo y dedicación de mis asesores de tesis Dra. Betsabé Rodríguez Pérez y Dr. Tonatiuh A. Cruz Sánchez. A mis lectores de tesis, por el tiempo prestado y sugerencias para la mejora de este trabajo; por ello agradezco a Miriam Alejandra Bravo Martínez, a Janai Jared Osornio Aguilar y Adriana Elizabeth Peza Onofre.

Gracias a Janai, Guillermo, Elizabeth, Miriam, Flash, Gabriel, Rolando, Victor, Oscar y sus familias, por la incomparable e incondicional compañía, por su apoyo y sobre todo por la amistad, el tiempo, amor y paciencia que me brindan.

Muchas gracias de forma cariñosa a la familia Andrade Mercado por su apoyo y amor incondicional, y a mi tía Guadalupe que me permitió vivir con ella y me regalo consejos académicos, profesionales y personales.

Agradezco a cada una de las personas que han coincidido conmigo en este trayecto quedándose a compartir momentos de aventura, tragedia, amor y felicidad, no los puedo mencionar, pero los llevo a cada uno en la memoria y el corazón.

Finalmente, esta tesis es para mi madre Juana Paula Mercado Romero, por su lucha para sacar adelante a mi familia, por la tolerancia brindada al intentar comprenderme, pero sobre todo por su infinito e incomparable amor. A mi padre y hermanos por su comprensión, su apoyo, y por su tiempo para conmigo y sobre todo por su amor.

Tabla de contenido

AGRADECIMIENTOS _____	4
Índice de figura _____	6
Índice de tablas _____	7
Abreviaturas _____	8
RESUMEN _____	10
INTRODUCCIÓN _____	11
JUSTIFICACIÓN _____	14
OBJETIVOS _____	15
HIPÓTESIS _____	16
MARCO TEÓRICO _____	17
Generalidades del Propóleo _____	17
Historia del propóleo _____	17
Composición química del propóleo _____	18
Aplicación biomédica del propóleo _____	20
Actividad antiviral _____	24
CORONAVIRUS _____	26
Etiopatogenia _____	26
Genómica _____	27
Ciclo de replicación _____	28
Coronavirus 2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2) _____	30
Estructura genética de SARS-CoV-2 _____	31
Mecanismo de infección _____	31
Fisiopatología _____	33
Inmunidad _____	35
Diagnóstico _____	36
Tratamiento _____	39
Propóleo Frente a SARS-CoV-2 _____	40
BIBLIOGRAFIA _____	58

Índice de figuras

Figura 1. Efecto del propóleo sobre la expresión del VIH-1 en cultivos de linfocitos CD4 + y células microgliales. _____	26
Figura 2. Morfología y estructura de los coronavirus. _____	27
Figura 3. Mecanismo molecular de infección general de los coronavirus. _____	30
Figura 4. Ciclo de vida general de los coronavirus. _____	31
Figura 5. Organización genética de SARS-CoV-2. _____	33
Figura 6. Mecanismo de entrada del SARS-CoV-2. _____	34
Figura 7. Mecanismo de infección del SARS-CoV-2. _____	36
Figura 8. Respuesta inmune desencadenada por la infección de SARS-CoV-2. _____	39
Figura 9. Descripción general de las características sintomáticas radiológicas y de laboratorio para el diagnóstico de COVID-19. _____	41
Figura 10. Estructura química de los flavonoides con mayor afinidad de unión a proteínas diana del SARS-CoV-2. _____	44
Figura 11. Inhibición del ciclo viral del SARS-CoV-2 por los flavonoides del propóleo. _	45
Figura 12. Afinidad de unión con el sitio activo de la proteína S de SARS-CoV-2. _____	46
Figura 13. Energía de unión de la procianidina con la 2'-O MTasa, Proteína N y Proteína S. _____	47
Figura 14. Efecto inmunomodulador del propóleo en la infección por SARS-CoV-2. ____	49
Figura 15. Mecanismos de acción potenciales del propóleo. _____	55

Índice de tablas

Tabla 1. Composición química general del propóleo.....	19
Tabla 2. Especificaciones químicas que deben cumplir los propóleos mexicanos según la NOM-003-SAG/GAN-2017.	21
Tabla 3. Efecto del propóleo en diferentes tipos celulares.	21
Tabla 4. Principales propiedades biológicas del propóleo y compuestos responsables. ...	23
Tabla 5. Vías potenciales a través de las cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2.....	49

Abreviaturas

ACE2 Enzima convertidora de angiotensina 2

ADN Ácido desoxirribonucleico

ARN Ácido ribonucleico

ASC Proteína asociada a apoptosis

ATP Adenina trifosfato

CAPE Éster fenético del ácido cafeico

CDV Virus del moquillo canino

CG-EM Cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas

CO₂ Dióxido de carbono

CoV Coronavirus

COX Enzima ciclooxigenasa

CXCL- 10 Quimiocina CXCL ELR, también denominada IP-10

DAMP Patrones moleculares asociados a daño

EEP Extracto etanólico de propóleo

ELISA Enzimoinmunoanálisis de adsorción

ERGIC Sitios de salida del retículo endoplásmico

G-CSF Factor estimulante de colonias de granulocitos

HSV Herpes virus simple

IFN Interferón

IL Interleucina

NAAT Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos

nsps Proteínas no estructurales virales

ORF Marco de lectura abierto

PAK1 Proteína cinasa 1

RAS Sistema renina-angiotensina

RBD Dominio de unión al receptor

RdRp Enzima de ARN dependiente del ácido ribonucleico

RE Retículo endoplásmico

ROS Especies reactivas de oxígeno

RT-NASBA Amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos en tiempo real multiplex

RT-PCR Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa

RTC Complejo viral de replicación-transcripción

SDRA Síndrome de dificultad respiratoria aguda

SOD Enzima superóxido dismutasa

spOS-2 *Osteosarcoma* canino

TMPRSS2 Proteasa serina 2 transmembrana

TNF- α Factor de necrosis tumoral alfa

VIH Virus de inmunodeficiencia humana

RESUMEN

La enfermedad del coronavirus 2019 ha surgido como una pandemia grave, que se cobró en un promedio de siete días, 7.704 millones de muertes en el mundo y 284,000 solamente en México. Generalmente, los coronavirus pueden causar enfermedades respiratorias, gastrointestinales y del sistema nervioso central en humanos y animales que no van más allá de una infección moderada. Sin embargo, existen cuatro factores que colocan al organismo en alto riesgo de infección y/o mortalidad creando una disparidad: edad, comorbilidades, raza/etnia y género. Además, cabe destacar que estos virus tienen la capacidad de adaptarse a un nuevo entorno a través de mutaciones y están programados para modificar el tropismo del hospedador; por tanto, las amenazas son constantes y de largo plazo.

Por otro lado, el propóleo es un material resinoso producido por las abejas para proteger a sus colmenas. Este producto apícola es bien conocido por su efecto antibacteriano, antiviral, antiinflamatorio, inmunomodulador, antioxidante, entre otros. Algunos de los componentes activos responsables de los efectos farmacológicos de esta sustancia son: la rutina, el éster fenílico del ácido cafeico (CAPE), la quercetina, el ácido *p*-cumárico, el ácido benzoico, la galangina, la pinocembrina, entre otros.

En la presente tesis se realizó una investigación bibliográfica sobre los posibles mecanismos de acción del propóleo contra la infección causada por el SARS-CoV-2. Entre ellos se encuentra la inhibición del ciclo de vida del virus a través del acoplamiento molecular de varios compuestos del producto apícola. Por otro lado, actúa bloqueando la replicación del virus gracias a los flavonoides que, en sinergismo con algunos ésteres del propóleo, reducen la síntesis de ADN y ARN viral. Finalmente, los compuestos polifenólicos estimulan la producción de interferones, proteínas importantes que inducen gran variedad de respuestas benéficas para el sistema inmunitario.

A través de los mecanismos mencionados, se justifica un ensayo realizado por Vidal G. en donde el propóleo demostró gran potencial como tratamiento de la enfermedad causada por SARS-CoV-2 reduciendo la estancia hospitalaria de estos pacientes.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, propóleo, inmunomodulador.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, atravesamos por una pandemia causada por el SARS-CoV-2, virus que ha logrado propagarse rápidamente en el mundo, y que cabe destacar, su morbilidad y mortalidad concomitantes han promovido la colaboración global para la eliminación de la enfermedad. Como parte de este proceso, se ha potencializado la elaboración de diferentes vacunas específicas para combatir la infección viral, principalmente porque la mayoría de los fármacos preexistentes son antibacterianos o antifúngicos, es decir, son ineficaces contra los virus. (Harrison, et al., 2020; Poland et al., 2020)

En general, una vacuna no se debe administrar a un paciente que se encuentra bajo tratamiento farmacológico ya que ambos fármacos pueden interactuar y por lo tanto provocar un efecto desconocido, por esta razón, otros laboratorios han optado por buscar alternativas que coadyuven en el tratamiento de COVID-19 y entre estas se encuentra un complejo producto natural elaborado por las abejas: el propóleo. (Maruta y He, 2020)

El propóleo es un material resinoso producido por las abejas a partir de exudados vegetales, se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina tradicional y se consume ampliamente para beneficio a la salud ya que cuenta con propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales, además de estimular el sistema inmunológico. La composición química es compleja y depende de la flora presente en el área de recolección; sin embargo, se han logrado identificar compuestos como resinas y bálsamos, cera de abeja, aceites esenciales, polen, materiales orgánicos y algunos minerales. La fracción resinosa del propóleo está integrada por compuestos fenólicos y flavonoides, que son muy importantes a nivel terapéutico. (González et al., 2020)

Debido a la diversidad de propóleos, la empresa Apis Flora de Ribeirão Preto, desarrolló un producto estandarizado que contiene propóleo verde EPP-AF (R), que es química y biológicamente reproducible y único en el mercado nacional e internacional. Igualmente, en México, se impulsó la Norma Oficial Mexicana para la Producción y Especificaciones de Propóleos, aprobada por la Comisión Federal de Mejora Regulatoria y publicada en el Diario Oficial de la Federación en 2017, con el objetivo de establecer estándares de calidad para esa resina apícola. (Duarte et al., 2021; DOF, 2017)

El propóleo ha sido utilizado en medicina veterinaria en diferentes especies animales y en diversas formas farmacéuticas, una revisión realizada por González et al.

(2017) reporta los principales efectos *in vitro* del propóleo sobre los virus que causan enfermedades de los animales domésticos. En resumen, los efectos antivirales del propóleo incluyen la reducción en la multiplicación viral e incluso una acción virucida sugiriendo que el propóleo puede afectar tanto a la penetración como al ciclo de replicación.

Además, un estudio realizado por Jiménez et al. (2020), demostró que este producto también es capaz de inhibir la propagación viral. La experimentación se basó en la infección de células VERO con virus del moquillo canino de la cepa Buzzell y se les administró extracto etanólico de propóleo de *Plebeia frontalis*, al comparar la viabilidad celular, observaron que esta era mayor en los cultivos a los que se les administró propóleo una hora antes de la infección y al momento de la infección que en los que no se administró dicha sustancia.

Sin embargo, el mecanismo de acción antiviral del propóleo aún no es claro. Las primeras pistas sobre dicho mecanismo fueron aportadas por Selway en 1986, al mencionar que los flavonoides pueden estar relacionados con la inhibición de la polimerasa viral y la unión al ácido nucleico viral o a proteínas de la cápside viral. En la actualidad, los hallazgos reportados sobre el mecanismo de acción del propóleo sugieren que algunos de los componentes del propóleo pueden interferir con la expresión de la proteasa transmembrana humana TMPRSS2, que permite la adhesión y penetración del SARS-CoV-2 en las células huésped, y también podrían ayudar a reducir los procesos inflamatorios mediante la inhibición de PAK1, la cual es la principal quinasa patógena cuya activación anormal es responsable de una amplia variedad de enfermedades como cánceres, inflamación, infección viral, malaria, inmunosupresión, envejecimiento, entre otros. (González et al., 2020; Berreta et al., 2020)

Por otro lado, en un estudio realizado por Rod et al. (2020) declararon que la edad, siendo más vulnerables los adultos mayores, y las comorbilidades son los factores de riesgo más importantes para la gravedad de la enfermedad COVID-19. La diabetes es una de las comorbilidades más críticas en términos de gravedad de la enfermedad, además de que estos pacientes responden menos al tratamiento y tienen un mayor riesgo de muerte, de la misma forma, la hipertensión aumenta la mortalidad por la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 al afectar la función pulmonar y el suministro de oxígeno, debido al consumo de medicamentos con bloqueadores de receptores de angiotensina, como Losartán, que provocan el aumento en la expresión de ACE2, ya que este virus ingresa a las células a través de los receptores de esta enzima. (Rashedi et al., 2020)

Si visualizamos este panorama en México, según la Federación Internacional de Diabetes (2020), se puede observar que el país ocupa el sexto lugar en número de personas diabéticas, y según el Instituto Nacional de Salud Pública, el 45.6% de la población mexicana es tratada contra la hipertensión. Al analizar la prevalencia de solamente dos enfermedades en México, podemos concluir que una gran parte de la población se encuentra en riesgo a contraer la infección por SARS-CoV-2, aunado a ello, el tratamiento resulta ser poco competente para este sector. Por esta razón, el propóleo resulta ser una propuesta alternativa de posible tratamiento complementario, económica y accesible, además su consumo no sólo serviría como coadyuvante al tratamiento contra el SARS-CoV-2, sino que brindaría otros beneficios a la población de riesgo a dicha enfermedad. (Campos et al., 2018)

En vista de los beneficios que brinda la sustancia a la salud humana, investigadores brasileños realizaron un estudio para evaluar la efectividad del extracto de propóleo en pacientes con COVID-19 del Hospital São Rafael, ubicado en la ciudad de Salvador. El ensayo contó con 124 participantes que se sometieron al tratamiento estándar, y 40 personas recibieron 400 mg/día de propóleo; 42 recibieron 800 mg/día de propóleo; y 42 no recibieron propóleo. Además, el profesor David de Jong de la Facultad de Medicina de Ribeirão Preto y uno de los autores del estudio manifestó que: “La administración oral de la sustancia fue segura, ya que no hubo eventos negativos asociados con el uso. Además, la disminución de la estancia hospitalaria tras la intervención fue significativa. El grupo de control, que no ingirió propóleo, fue hospitalizado durante 12 días después de iniciar el tratamiento. Los grupos que recibieron las dosis más bajas y más altas fueron, respectivamente, 7 y 6 días de hospitalización”. (Vidale, G., 2021)

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, según la Dirección General de Epidemiología, el COVID-19 en México, ha cobrado un total de 297 mil 747 vidas, siendo los hombres de 60 a 70 años el sector más afectado, principalmente aquellos que presentaban hipertensión (43.91%) y diabetes (36.53%)

Una de las ventajas para utilizar propóleo como auxiliar en la prevención y tratamiento de enfermedades virales, es que ha demostrado teórica y experimentalmente una amplia gamma de actividad biológica gracias a sus más de 300 compuestos químicos, entre los que se encuentran fenoles y flavonoides. Por esta razón, al consumir dicho producto apícola, no sólo estaríamos “atacando” la infección en curso, sino que también estaríamos activando más respuestas metabólicas, permitiendo una mejoría más sinérgica del organismo.

Además, en nuestro país, la apicultura es una de las actividades de mayor relevancia por el impacto que tiene en el desarrollo sostenible, por lo que al aumentar el consumo de estos productos estaríamos beneficiando la generación de empleos en esta área, destacando que en México existen más de 43 mil apicultores. Igualmente se observaría un incremento en el interés por la investigación hacia más productos de la naturaleza, logrando impactar positivamente al medio ambiente ya que se buscaría la preservación y reproducción de esos productos.

Finalmente, México es un país megadiverso que forma parte del grupo de las naciones poseedoras de la mayor cantidad y diversidad de animales y plantas, casi el 70% de la diversidad mundial de especies y reúne las condiciones ambientales que sustentan un gran potencial néctar-polinífero para el desarrollo de la apicultura y meliponicultura. Claramente, dada la diversidad de los ecosistemas, existen regiones que podrían soportar mayor cantidad de colmenas de abejas que otras, por lo que la producción y distribución de propóleos no presentarían un gran obstáculo para utilizarse como tratamiento complementario a la enfermedad provocada por el SARS-CoV-2.

OBJETIVOS

General

Realizar una investigación bibliográfica en medios físicos y digitales que proporcione la base teórica del uso del propóleo como una propuesta para complementar el tratamiento farmacológico actual para la enfermedad COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2.

Particulares

1. Identificar las características químicas del propóleo que indiquen efecto positivo contra SARS-CoV-2 a través de la investigación bibliográfica para argumentar su uso como coadyuvante al tratamiento de COVID-19.
2. Identificar y comprender los diferentes mecanismos por los que actúan los componentes del propóleo en el ciclo de vida del SARS-CoV-2 para generar material visual para la comunidad científica.

HIPÓTESIS

La investigación bibliográfica aportará las bases teóricas que respalden el uso complementario del propóleo en el tratamiento de COVID-19.

MARCO TEÓRICO

Generalidades del propóleo

El propóleo es un material resinoso recolectado, transformado y usado por las abejas para la construcción y mantenimiento de sus colmenas. La mezcla se transporta al interior de la colmena y es utilizada como material de construcción, sellador para agujeros y grietas no deseados, defensa química contra microorganismos y como agente embalsamador para intrusos que mueren dentro de la colmena, pero no pueden ser removidos por las abejas debido a su tamaño. (Santos et al, 2019; Domínguez et. al., 2020)

La palabra propóleo se deriva del griego (“*pro*”-para o en defensa y “*polis*”-ciudad), en referencia a su función principal como protección de la colmena. Con base en que las abejas forman sus productos aprovechando la vegetación que circunda a la misma, es de esperarse que, debido a la gran diversidad de plantas en el planeta, los constituyentes de estas tendrán que reflejarse en el contenido químico de los propóleos, es decir, el origen vegetal del propóleo determina su diversidad química. (Rao et al., 2017; Penieres, 2020)

Químicamente, se define como una matriz compleja que contiene moléculas biológicamente activas con actividades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, antiparasitarias, antioxidantes, hepatoprotectoras e inmunomoduladoras. Está compuesto principalmente por resina (50%), cera (30%), aceites esenciales (10%), polen (5%) y otros compuestos orgánicos (5%). Los compuestos fenólicos, ésteres, flavonoides, terpenos, beta-esteroides, aldehídos aromáticos y alcoholes son los compuestos orgánicos importantes presentes en el propóleo. (Rao et al., 2017; Santos et al., 2019)

Historia del propóleo

Desde la antigüedad, la humanidad ha utilizado el propóleo en diferentes campos, principalmente en la medicina tradicional debido a su amplio espectro de actividad biológica. En la antigua Grecia, se utilizaba como desinfectante y antiséptico para las infecciones cutáneas y bucales. Los egipcios lo usaban principalmente para embalsamar sus cadáveres y para curar heridas. El uso de propóleos se ha ido desarrollando con el tiempo. Actualmente se emplea ampliamente en formulaciones cosméticas y productos farmacéuticos, por lo que es uno de los productos naturales más utilizados. (Osorio y Salamanca, 2017; Santos et al., 2019; Scorza et al., 2020)

El propóleo fue reconocido como un agente antibacteriano durante los siglos XVII y XX en Europa, siendo utilizado en Inglaterra como fármaco oficial para el tratamiento de heridas. Además, esta sustancia también fue utilizada durante la Guerra de los Bóer para curar heridas y regenerar tejidos; y durante la Segunda Guerra Mundial el propóleo se utilizó como agente antimicrobiano y antiinflamatorio. Otra de las aplicaciones de esta sustancia es como ingrediente de resinas para instrumentos musicales de cuerda y en la reparación de acordeones, siendo Stradivari, en el siglo XVII, el primero en utilizar el propóleo de esta forma. (Martinotti y Ranzato, 2015; Santos et. al., 2019; Ishtiaq et al., 2019)

Actualmente, el propóleo se ha posicionado como uno de los productos naturales de mayor actividad biológica conocida gracias a los trabajos e investigaciones que se han realizado a nivel mundial sobre su uso potencial como agente terapéutico. Su comercialización comprende una amplia gama de presentaciones, tales como soluciones antisépticas, dentífricos, cremas para la piel y como aditivo de alimentos o películas biodegradables para su conservación, además, su uso no sólo se ha concentrado en el ser humano, sino que también ha sido retomado en el campo de la medicina veterinaria. Finalmente, cabe destacar que el comercio de los productos elaborados es creciente y de uso habitual principalmente en Japón, Corea, Taiwán, Europa y Norteamérica. (Osorio y Salamanca, 2017; Santos et al., 2019)

Composición química del propóleo

La composición del propóleo depende de varios factores como son la región geográfica, clima, época de recolección, el relieve, la vegetación natural, las cuencas hidrográficas y las especies de abejas, entre otros, por lo que llevar a cabo su análisis químico es una tarea de bastante dificultad. En general, el contenido de propóleo incluye 55% de resinas y bálsamos, 30% de cera y 10% de polen. (Zabaiou et al., 2017; Santos et al., 2019; Rodríguez et al., 2019; Penieres, 2020)

Uno de los métodos de extracción para conocer la composición de un propóleo es a través de la maceración de un de propóleo en greña o en bruto, con una mezcla, de etanol-agua en una proporción 70:30%, para posteriormente evaporar el disolvente. Actualmente también se emplea energía de ultrasonido (sonicación) para aumentar la eficiencia del proceso de extracción, o también se emplea CO₂ supercrítico para realizar el

proceso. Cabe destacar que esta última técnica es óptima para la extracción pues se realiza a temperaturas de entre 30 y 35 °C, lo que garantiza que no haya descomposición a causa de la temperatura, de las sustancias contenidas en el propóleo, sin embargo, implica mayor gasto económico. Finalmente se realiza cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas (CG-EM) para determinar el contenido químico de los extractos de propóleo. (Chi et al., 2019; Ding et al., 2020)

Utilizando estos métodos de alto rendimiento, ha sido posible identificar varias familias de compuestos químicamente activos. En la tabla 1 se observa una clasificación de los componentes químicos del propóleo.

Tabla 1. Composición química general del propóleo. (Rivera et al., 2020; Penieres, 2020)

Componentes químicos identificados en los propóleos	
Clase de componentes	Compuestos
Resinas/Bálsamos (Solubles en etanol, 40 a 70%)	Compuestos fenólicos: fenoles, ácidos fenólicos, ésteres, flavonoides, ácidos alifáticos, alcoholes y ésteres. Aldehídos, cetonas y ácido benzoico.
Ceras (Insolubles en etanol, 20 a 35%)	Palmitato de miricilo (aproximadamente 80%), ácido cerótico (aproximadamente 15%), cerotato de miricilo, ácido lignocérico, ácido montánico, ácido psílico, entre otros.
Aceites esenciales (7%)	Monoterpenos y sesquiterpenos
Otros 5%	Minerales, polisacáridos, proteínas, aminoácidos, aminas, amidas, trazas de carbohidratos, lactonas, quinonas, esteroides y vitaminas.

Como ya se ha mencionado anteriormente, la composición general del propóleo depende del área de recolección. Las muestras de propóleos de Europa, América del Norte y otras zonas templadas están compuestas principalmente de flavonoides

(pinocembrina, pinobanksina, quercetina, crisina y galangina) y ácidos fenólicos y sus ésteres. (Rivera et al., 2020)

La composición química del propóleo mexicano ha sido estudiada por diversos grupos de investigación, pero aún son limitados. Algunos de los compuestos identificados en diferentes muestras de propóleos mexicanos son pinocembrina, éster fenílico del ácido cafeico (CAPE), crisina, naringina, kaempferol, quercetina, acacetina, luteolina, pinostrobina, izalpinina, ramnetina, galangina, alpinetina, dilenetina, ácido cinámico, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido siríngico, entre otros. (Lotti et al., 2016; Rodríguez et al., 2019; Rivera et al., 2020; Rivero et al., 2020)

Aplicación biomédica del propóleo

Stanislaw Scheller fue uno de los precursores de la investigación del propóleo a principios de la década de 1960 en Polonia. Junto con su grupo desarrolló un método para introducir extractos etanólicos de propóleos en soluciones acuosas y demostró que el propóleo actúa como antioxidante y radioprotector, además estimula la regeneración de tejidos y muestra propiedades inmunomoduladoras. Igualmente, demostró el beneficio de la aplicación de propóleo en el tratamiento de quemaduras, ulceraciones venosas, osteítis supurativa y artritis, así como complicaciones postoperatorias de heridas. (Sforcin, J., 2016; Rivera et al., 2020)

La actividad biológica de los propóleos se debe a su composición química. Como se mencionó anteriormente, la variación en la concentración de cada uno de sus componentes le confiere a cada propóleo propiedades biológicas específicas. En México se ha detectado un rico contenido de fenoles y flavonoides en diversos propóleos de diferentes orígenes de la República, siendo estos componentes el parámetro más importante para determinar la calidad de su actividad biológica. (Rodríguez et al., 2020)

Debido a la variabilidad antes mencionada, se han establecido normas de calidad nacionales e internacionales que establecen valores mínimos de aceptación en la cantidad de flavonoides y fenoles, dando por entendido que entre mayor sea su porcentaje, mejor es la calidad (Ponce, 2020). En México se ha aprobado la NOM-003-SAG/GAN-2017, PROPÓLEOS, PRODUCCIÓN Y ESPECIFICACIONES PARA SU PROCESAMIENTO, la cual, tiene como objetivo la regulación de los propóleos para que estos cumplan características físicas, químicas y biológicas necesarias para garantizar sus propiedades medicinales. En las tablas 2 se observan las especificaciones químicas

descritas por dicha norma y en la tabla 3 se observa un resumen general de las propiedades del propóleo en el metabolismo enfocado a un tipo celular específico.

Tabla 2. Especificaciones químicas que deben cumplir los propóleos mexicanos según la NOM-003-SAG/GAN-2017. (DOF, 2017)

Especificaciones químicas según la NOM-003-SAG/GAN-2017	
Determinación cualitativa	Parámetros
Flavonoides	Presencia
Fenoles totales	Presencia
Índice de oxidación	Máximo 22 segundos
Determinación cuantitativa	Parámetros
Compuestos fenólicos	Expresados como equivalentes de ácido gálico: mínimo 5% (peso/peso)
Flavonoides	Expresados como equivalentes de quercetina: mínimo 0.5% (peso/peso)
Actividad antioxidante (CA_{50})	Mínimo 100 microgramos/mililitro

El propóleo tiene numerosas actividades biológicas y las más investigadas incluyen propiedades antimicrobianas, antitumorales, antioxidantes, antiinflamatorias e inmunomoduladoras. No obstante, diferentes poblaciones han utilizado el propóleo en la medicina popular para diferentes propósitos. Un ejemplo son los egipcios, los griegos y los romanos, los primeros utilizaron propóleos para la momificación gracias a sus propiedades anti-putrefacción, los griegos y romanos usaban esta sustancia para tratar heridas, por su acción antiséptica y cicatrizante. (Santos et al., 2019; Ripari et al. 2021)

Tabla 3. Efecto del propóleo en diferentes tipos celulares. (Osorio y Salamanca, 2021)

Acción en:	Efecto
Sistema cardiovascular	Vasodilatación coronaria, antiedematoso, protección capilar, disminución del colesterol, antihipertensivo, diurético, sedante (en estenosis aórtica).
Órganos internos (Hígado, riñón y estómago)	Antitoxicidad hepática, colerético, reducción de úlcera gástrica.
Microorganismos y células	Bacteriostático, fungistático, insecticida, citotóxico, radioprotector.
Estatus fisiológico, enzimas	Espasmolítico, broncoespasmolítico, antialérgico, inhibidor de enzimas específicas.

Los primeros informes científicos sobre las actividades biológicas y la composición química del propóleo aparecieron a inicios del presente siglo. Sin embargo, es uno de los pocos productos naturales que ha mantenido y aumentado su popularidad a lo largo del tiempo. (Ripari et al. 2021) En la actualidad el propóleo se utiliza ampliamente en diferentes presentaciones comerciales para mejorar la salud humana y prevenir enfermedades, incluso se podría definir al producto apícola como uno de los productos naturales de más amplio espectro, además, es uno de los más investigados no sólo para su uso en la salud humana, sino también en el animal, por lo tanto, se justifica su alto valor comercial. (Santos et al., 2019; Almuhayawi, 2020). Su gran variedad de efectos benéficos para la salud se debe, principalmente, a los flavonoides que contiene. Estos compuestos son parte fundamental de la calidad de propóleo, se sabe que su actividad farmacológica se debe principalmente a las características estructurales como compuesto tricíclico y a la presencia de radicales unidos a sus anillos, características químicas que le confieren mayor reactividad como molécula. En la tabla 4 se observan las actividades biológicas más estudiadas del propóleo, así como los principales compuestos responsables de dicho efecto. (Braakhius, 2019; Ponce, 2020)

Tabla 4. Principales propiedades biológicas del propóleo y compuestos responsables.

Actividad	Mecanismos de acción	Compuestos responsables
Antibacteriana	Aumento de la permeabilidad de la membrana y alteración de los canales iónicos bacterianos a consecuencia de reacciones de fosforilación y desfosforilación, inhibiendo la motilidad y al mismo tiempo la virulencia del agente patógeno.	Pinocembrina, quercetina, naringenina, acacetina, apigenina, crisina, galangina, kaempferol y pinobanksina.
Antifúngica	Inhibición del crecimiento micelial por interferencia en la respiración y la homeostasis energética del patógeno, lo que conduce a la alteración de la membrana celular y al trastorno del metabolismo.	Sesquiterpenos (bisabolol) y flavanonas (pinocembrina).
Antiprotozoaria	Inhibición de la proliferación y viabilidad celular a través de cambios morfológicos y ultraestructurales en los parásitos, induciendo apoptosis.	No se han evaluado compuestos específicos <i>in vitro</i> .
Antineoplásica y antiproliferativa	Inducción de apoptosis, detención del ciclo celular, inhibición de metaloproteinasas de la matriz (enzimas de proteínas de la matriz extracelular), efecto antiangiogénico y prevención de la metástasis.	CAPE, artepillina C, y crisina
Antioxidante	Inhibición del estrés oxidativo y de la producción de radicales libres, actuando significativamente frente a las de especies reactivas de oxígeno.	Compuestos fenólicos y flavonoides.
Inmunomoduladora y antiinflamatoria	Activación de linfocitos T, citoquinas y células NK. Estimulación de la producción de linfocitos T8.	Flavonoides y polifenoles

Actividad antiviral

Los compuestos polifenólicos de los propóleos, estimulan la producción de interferones, estos son proteínas producidas por el sistema inmunitario como respuesta a patógenos y cancerígenos, fortalecen las membranas celulares, inducen a las nucleasas para destruir el genoma viral y modifican el patrón de fosforilación de la traducción de proteínas, bloqueando su producción. Por otro lado, los flavonoides en sinergismo con algunos ésteres del propóleo, reducen la síntesis de ADN y ARN viral, bloqueando la replicación del virus. Este mecanismo es posible gracias a la afinidad química de estos componentes por las membranas celulares, en cuyo caso se acoplan al núcleo y al material genético, acción que provoca alteraciones en el proceso de replicación viral, dando como resultado apoptosis celular y diseminación del virus. (Osorio y Salamanca, 2017)

En un estudio realizado por Bankova et al. (2014) se analizó una muestra de extracto de propóleo, ACF, el cual es un extracto de etanol purificado específico desarrollado en Canadá. La muestra se probó en células cultivadas contra HSV-1 y HSV-2 y se analizó su composición química. Los resultados mostraron que el extracto de propóleo ACF es marcadamente virucida *in vitro* frente a ambos virus del herpes simple. Los ácidos p-cumárico, cafeico y cinámico, componen principalmente esta muestra, los dos primeros han reportado resultados consistentes de actividad anti-HSV, y el tercero se sugiere que tiene efecto sobre los receptores celulares y en la etapa de adsorción viral. Existen datos que demuestran que los flavonoides: crisina, galangina y kaempferol presentan una elevada actividad contra el virus del herpes. (Nolkemper et al., 2010)

Por otro lado, Gekker et al. (2005) evaluaron la actividad anti-VIH-1 del propóleo en cultivos de linfocitos CD4⁺ y células microgliales de tejido cerebral fetal humano. La expresión de VIH-1 en linfocitos CD4⁺ y cultivos de células microgliales se evaluó midiendo los niveles de antígeno p24 (Ag) en sobrenadantes de cultivos celulares mediante ELISA. Como resultado se obtuvo que el propóleo inhibió de manera dependiente de la concentración (66.6 µg/mL) la expresión de VIH-1 en cultivos de linfocitos CD4⁺ y en cultivos de células microgliales. En la siguiente figura se observan gráficamente los resultados obtenidos por los investigadores mencionados.

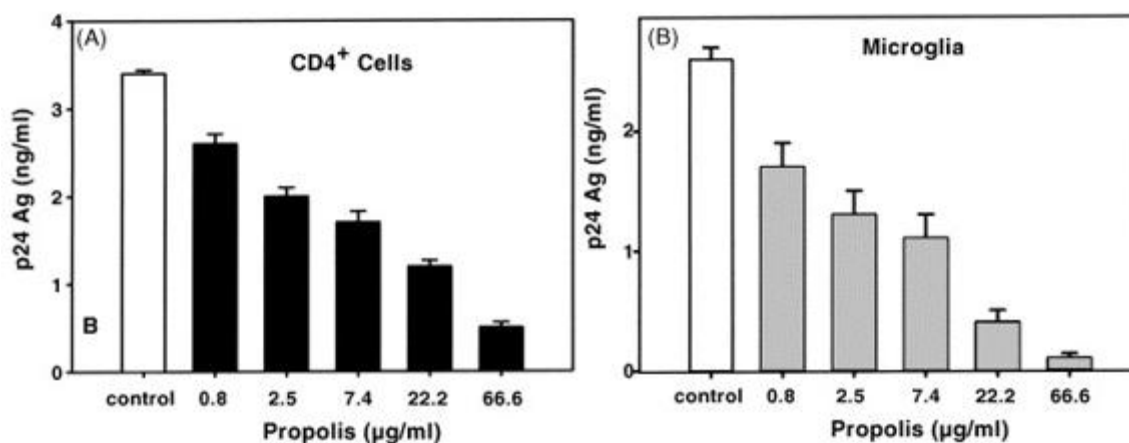


Figura 1. Efecto del propóleo sobre la expresión del VIH-1 en cultivos de linfocitos CD4+ y células microgliales. Los linfocitos CD4+ activados se infectaron con VIH-1 AT (A) y las células microgliales se infectaron con VIH-1 SF162 (B) en ausencia (control) o presencia de propóleo (preparación de Cannon Honey Bee Company) a las concentraciones indicadas. Los datos son la media \pm desviación estándar de los valores por triplicado y son representativos de tres experimentos independientes que utilizan linfocitos CD4+ de diferentes donantes y microglías aisladas de diferentes muestras de tejido cerebral. Gekker et al. (2005)

En México, González et al. (2018) llevo a cabo la comparación del efecto antiviral *in vitro* del propóleo mexicano, tres flavonoides comerciales y su mezcla contra el virus del moquillo canino (CDV). Para la experimentación se cultivaron células Vero de una sola capa (riñón de mono verde africano, ATCC CCL-81) y se utilizó la cepa Buzzell de la CDV. Primeramente, se evaluó la eficacia de los tratamientos administrados en diferentes momentos (dos horas antes, durante y dos horas después de la infección viral).

Analizando los resultados del experimento antes mencionado, se observó que se logró una mayor eficacia del EEP cuando se administró antes de la infección viral, lo que sugiere que éste interactúa directamente con las células huésped al interferir con el reconocimiento adecuado entre los receptores celulares y las proteínas del virus, evitando así la internalización del virus y, por lo tanto, disminuyendo la replicación. Por esta razón, se observó un efecto citopático menor en las células de cultivo.

Por otro lado, en el análisis individual de los flavonoides, la quercetina administrada al mismo tiempo de la infección aumentó la viabilidad celular y disminuyó la expresión de genes virales, con lo que se obtuvo la hipótesis de que actúa inhibiendo la polimerasa viral e interfiere con la síntesis del ácido nucleico viral, por lo que interrumpe la fase intracelular del ciclo de replicación del CDV. Además, su actividad antiviral se ha asociado con su capacidad para unirse a proteínas virales y bloquear la síntesis de

proteínas celulares. Por el contrario, la pinocembrina y naringenina administradas individualmente no mostraron reducción de la expresión génica viral, indicando que ambos compuestos no afectan la replicación del CDV. (Kumar y Pandey, 2013; González et al., 2018)

Finalmente, en el análisis de la administración de la mezcla de flavonoides antes de la infección, se observó el mantenimiento de la viabilidad celular y la disminución del gen viral, concluyendo que los compuestos actúan de manera sinérgica, ya que los resultados individuales para cada flavonoide fueron diferentes. (González et al., 2018)

Estos y otros estudios demuestran el gran potencial del propóleo como agente antiviral. Ofreciendo nuevas perspectivas que puede ser útiles para generar un conocimiento aún más específico sobre los efectos biológicos del propóleo y sus componentes en cultivos celulares y durante la infección viral *in vitro*.

CORONAVIRUS

Etiopatogenia

Los coronavirus son un grupo diverso de virus que infectan a una amplia gama de animales, además, el espectro de enfermedades generadas por la infección de estos virus, son principalmente respiratorias agudas y crónicas, entéricas, hematológicas y del sistema nervioso central. Desde 1968, se otorga su nombre por la morfología en corona observada en la microscopía electrónica, donde las proyecciones de la membrana del virus, conocidas como espículas, le dan la apariencia (Figura 2). (Alvarado et al., 2020; Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020)

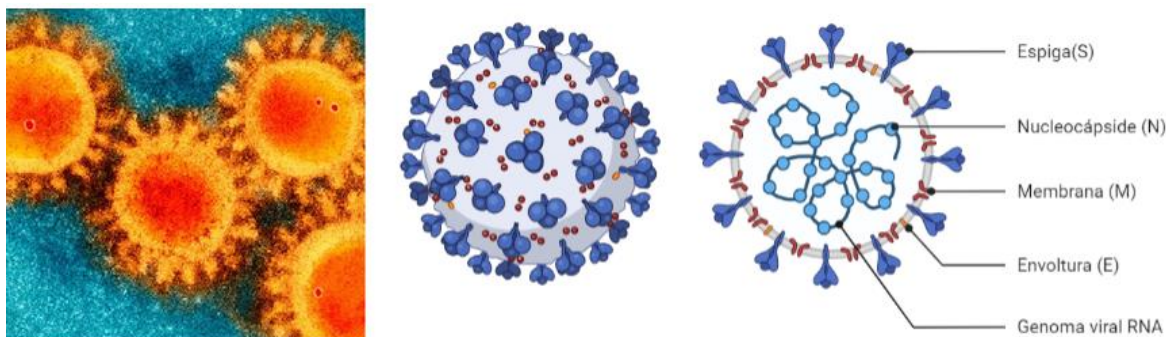


Figura 2. Morfología y estructura de los coronavirus. Izq. Microscopía electrónica de un coronavirus. Se aprecian las espículas de la corona (Fernández, J. 2020). Der. Esquematación de un coronavirus. Se pueden observar las proteínas que componen el virión de los coronavirus humanos. Imagen creada en BioRender.

El diámetro de estos virus mide entre 100 a 160 nm. Su genoma está formado por una única cadena de ARN de polaridad positiva (+ssARN); presenta una capucha metilada en el extremo 5' y una cola poliadenilada (poli-A) en el extremo 3' que le aporta un gran parecido al ARN mensajero del hospedador. (Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020; Hu et al., 2021)

Genómica

El genoma del ARN codifica dos categorías de proteínas: proteínas no estructurales virales (nsps) y proteínas estructurales y accesorias. Las proteínas estructurales son:

- Espícula (proteína S): Se ensambla en homotrímeros, y forma estructuras que sobresalen de la envuelta del virus formando las espículas de la corona; se encuentra glucosilada y es la encargada de mediar la unión del receptor y, por tanto, es la proteína determinante del tropismo del virus, además de conservar la actividad de fusión de la membrana viral con la celular.
- Proteína de membrana (M): posee dos extremos, un dominio N-terminal corto que se proyecta en la superficie externa de la envoltura y un extremo C-terminal largo interno; juega un papel importante en el ensamblaje del virus.
- Proteína de la nucleocápside (N): se asocia con el genoma de ARN para formar la nucleocápside; puede estar involucrada en la regulación de la síntesis del ARN e interactúa con la proteína M al momento de la replicación viral.
- Proteína de la envoltura (E): es una proteína que funciona como porina, formando canales iónicos, se desconoce su función específica; sin embargo, en el virus SARS-CoV esta proteína participa en el ensamblaje del virus.

La proteína N está en el interior del virión asociada al ARN viral, y las otras están asociadas a la envuelta viral. Por otro lado, para liberar las nsps individuales son necesarias las proteasas 3CLpro y PLpro. (Alvarado et al., 2020; Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020; Hartenian, 2020)

Las proteínas accesorias son específicas de cada género CoV y exhiben homología en toda la familia. A pesar de no ser esenciales para la replicación viral en células cultivadas, las proteínas accesorias presumiblemente modulan las interacciones virus-hospedador que son importantes durante la infección *in vivo*, incluida la proliferación celular, la muerte celular programada, la producción de citocinas proinflamatorias y la

señalización de IFN. Además, existe gran variabilidad de los genes accesorios entre los coronavirus, por lo que podrían estar relacionados con la patogenicidad específica del virus. (Hartenian, 2020)

Ciclo de replicación

Los coronavirus se transmiten a través de gotículas respiratorias y aerosoles de persona a persona. Una vez dentro del organismo se da la entrada de los viriones a la célula del hospedador (Figura 3), esta se logra a través de la interacción del virus con su receptor celular, en este caso ACE2. Posteriormente se fusionan las membranas viral y celular para generar vesículas endocíticas o endosomas y pierde su envoltura, depositando el ARN viral en el citoplasma del huésped, debido a su parecido con el ARNm del hospedador se adhiere directamente a los ribosomas para su traducción.

Allí, se emplea como plantilla para traducirse directamente en una poliproteína, en esta se encuentran unidas todas las proteínas que forman el complejo de replicación-transcripción. A partir de dicho complejo, se sintetizan diversos ARN sub genómicos codificantes para los polipéptidos y proteínas (estructurales y no estructurales) que determinan la biología del virus y la simetría helicoidal de su nucleocápside.

Finalmente se envuelve al virión en vesículas de doble membrana para posteriormente trasladarse al espacio extracelular por exocitosis. Las nuevas partículas virales están ahora listas para invadir las células epiteliales adyacentes, así como, para proporcionar material infeccioso fresco para la transmisión comunitaria a través de gotitas respiratorias. (Hartenian et al., 2020; Hoffman et al., 2020; Parasher, 2021)

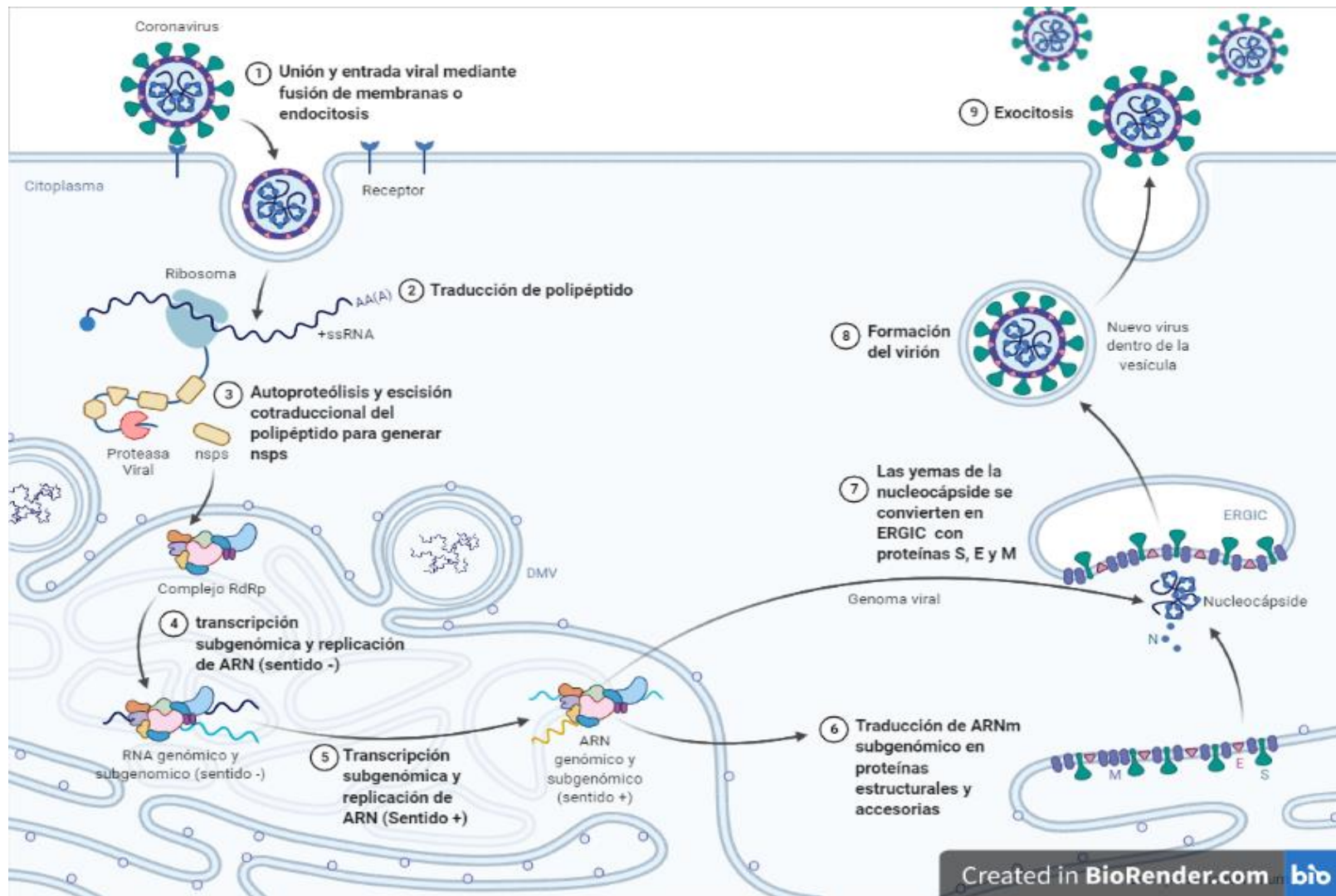


Figura 3. Mecanismo molecular de infección general de los coronavirus. Nsps: Proteínas no estructurales virales. Imagen elaborada en BioRender.com

Coronavirus 2 Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-2)

El actual brote de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 comenzó en la ciudad de Wuhan donde las autoridades locales inicialmente refirieron un origen desconocido del brote. Posteriormente, se relacionó con un gran mercado de animales vivos y mariscos de esa ciudad. El primer informe publicado por la OMS en China comunicó sobre una serie de 27 casos de neumonía “de etiología desconocida” el 31 de diciembre del 2019, identificándose como causa el virus en cuestión el día 7 de enero del 2020. El brote de COVID-19 en China alcanzó un pico epidémico en febrero. Según la Comisión Nacional de Salud de China, el número total de casos siguió aumentando drásticamente a principios de febrero a una tasa promedio de más de 3000 nuevos casos confirmados por día. (Zhao et al., 2019; Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020)

El SARS-CoV-2 se caracteriza por una alta contagiosidad que en el 85% de los casos causa una enfermedad leve o subclínica, pero en comparación con la gripe, causa más fácilmente complicaciones respiratorias en el 10-15% de los casos puede causar neumonía grave (opacidades en vidrio esmerilado) y neumonía intersticial, y en el 5% de los pacientes infectados requiere ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI). (Scorza et al., 2020)

La vía de transmisión entre humanos es a través del contacto directo con secreciones respiratorias de personas infectadas, principalmente por gotículas respiratorias de más de 5 micras emitidas a través de la tos o estornudos (capaces de transmitirse a distancias de hasta 2 metros), también se transmite por el contacto de las manos con fómites contaminados con estas secreciones seguido del contacto con la mucosa de la boca, nariz u ojos. (Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020)

Según un estudio realizado por Lauer et al. (2020), la mediana del periodo de incubación se ha estimado entre 5 y 6 días, con un rango de 1 a 14 días, desarrollándose el 97.5% de los casos sintomáticos en los próximos 11 días tras la exposición, sin embargo, se han hallado casos de hasta 27 días de incubación. Actualmente se considera que la transmisión del virus desde una persona infectada comienza 2-4 días antes de inicio de síntomas y puede prolongarse hasta 10 días después, aunque el periodo infectivo varía en función de la gravedad, la persistencia del cuadro clínico y la carga viral. (Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020; Lauer et al., 2020)

Estructura genética de SARS-CoV-2

El genoma de SARS-CoV-2 está formado por una sola cadena de ARN monocatenario positivo. Cabe destacar que esta cadena se asemeja, estructuralmente a un ARNm de células eucarióticas, ya que, presenta un capuchón metilado (cap) en el extremo 5' y una cola poli-A en el extremo 3'. El genoma de este virus se puede dividir en tres tercios (Figura 5). Cerca del extremo 5', los dos primeros tercios codifican para el gen de la replicasa viral, el cual se traduce directamente en dos poliproteínas: pp1a y pp1ab. Estas poliproteínas son procesadas proteolíticamente para generar 16 NSPs, las cuales están involucradas en una amplia gama de funciones, desde bloquear la respuesta inmune inicial hasta funcionar como cofactores para las proteínas de replicación y transcripción. El último tercio del genoma (más cerca del extremo 3') codifica los genes de las 4 proteínas estructurales principales (proteína (S), proteína (M), proteína (E) y proteína (N)) y los genes de las proteínas accesorias (proteína HE, 3, 7a, entre otras). (Hartenian et al., 2020; Pastrian, 2020)

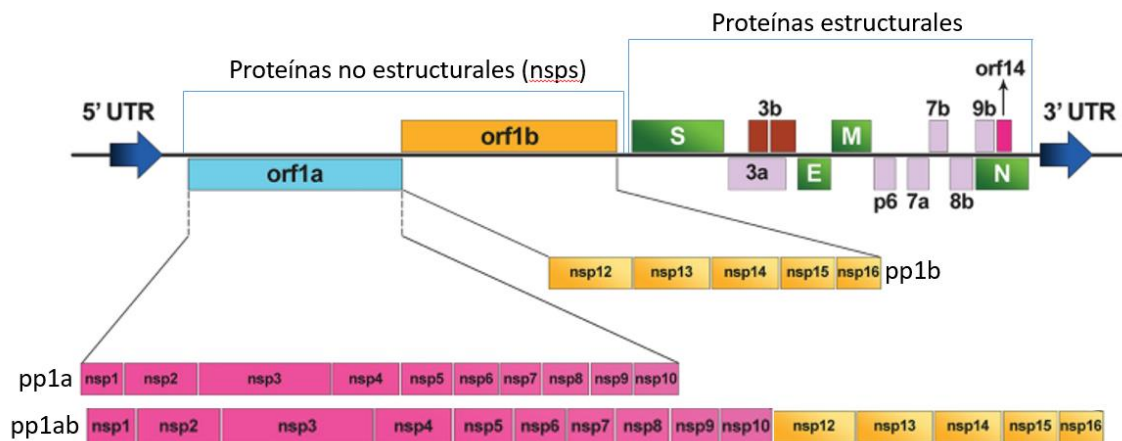


Figura 5. Organización genética de SARS-CoV-2. El genoma de ARN codifica dos categorías de proteínas: nsp y proteínas estructurales y accesorias. Las proteínas no estructurales están codificadas en ORF1a y ORF1b. Las proteínas estructurales y accesorias se sintetizan mediante la traducción de sus respectivos ARNm subgenómicos. (Modificada de Beig, et. al., 2021)

Mecanismo de infección

Primeramente, el virus penetra en la célula humana mediante la interacción de la proteína S viral y el receptor ACE2 de las células huésped, provocando la fusión de la cubierta membranosa del virus con la membrana celular. La activación de la proteína S está mediada por la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2), que suele localizarse

cerca de ACE2. Esta proteasa se encarga de cortar a la proteína S, provocando activación de proteínas de la envoltura viral que favorecen la fusión con la membrana celular. Cabe destacar que la actividad de TMPRSS2 es esencial para la diseminación viral y la patogénesis en el huésped infectado. (Tolosa, 2020; Hoffman et al., 2020; Montañó y Flores, 2020)

De forma más detallada, la proteína S del SARS-CoV-2 consta de dos subunidades: S1 y S2. Primero esta proteína se acopla con el receptor ACE2 del huésped, posteriormente es necesario que TMPRSS2 escinda en los sitios S1/S2 y S2'. Esto conduce a la activación del dominio S2 e impulsa a la fusión de las membranas viral y del huésped (Figura 6). (Hartenian et al., 2020)

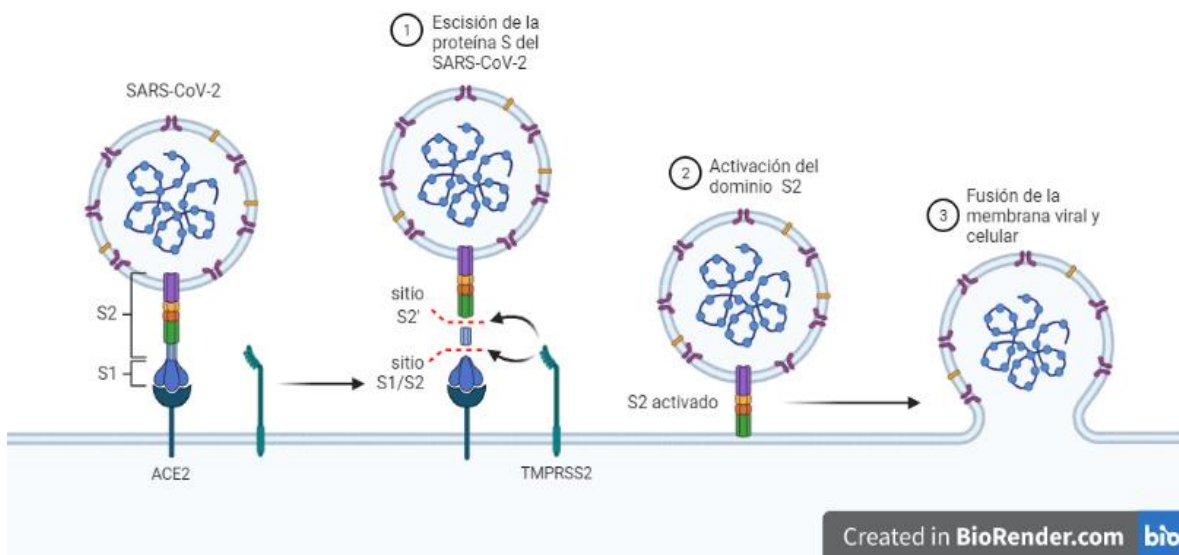


Figura 6. Mecanismo de entrada del SARS-CoV-2. Imagen elaborada en BioRender.com

ACE2 es una exopeptidasa de membrana que se encuentra fundamentalmente en riñón, pulmones y corazón, específicamente se expresa en las células alveolares tipo I y II, células epiteliales, fibroblastos, células endoteliales y macrófagos. En términos generales, se encarga de la transformación de la Angiotensina I en Angiotensina II. (Montañó y Flores, 2020)

Para que se lleve a cabo la unión entre la proteína S y ACE2, es necesaria la serina celular proteasa TMPRSS2. Posterior a la fusión de membranas, la infección por coronavirus causa regulación positiva para PAK1, cinasa encargada de mediar la inflamación y fibrosis pulmonar, además, suprime la respuesta inmune adaptativa, facilitando la replicación viral. (Barreta et al., 2020; Hoffman et al., 2020; Harrison et al., 2020)

Una vez dentro de la célula, el ARN infectante actúa como un ARNm, que es traducido por los ribosomas en proteínas virales. La ARN polimerasa dependiente de ARN codificada por el genoma del virus con actividad exonucleasa transcribe antígenomas y genomas, que a su vez sirven como ARNm y luego se incorporan directamente a las partículas del virus. (Ueffing et al., 2020)

Finalmente, las glicoproteínas virales se traducen en el retículo endoplásmico (RE) y se retienen en el sitio de gemación del compartimiento intermedio retículo endoplásmico-golgi (ERGIC). El núcleo del virión se desplaza desde el complejo viral de replicación-transcripción (RTC) para finalmente brotar hacia las membranas ERGIC, que contienen a las proteínas M, E y S, convirtiéndose en la envoltura lipídica del virión. En este sitio ocurre la nucleación, maduración de proteínas y ensamblado de la partícula viral de CoV. Por último, la partícula viral abandona la célula a través de la vía exocítica. (Hartenian et al., 2020; Romano et al., 2020)

Fisiopatología

La fisiopatología de la infección por SARS-CoV-2 depende del daño tisular causado por la replicación directa del virus, una respuesta inflamatoria agresiva y la reacción del huésped. El síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), de curso grave, se caracteriza por dificultad para respirar y niveles bajos de oxígeno en sangre. Como resultado, algunos pacientes pueden sucumbir a infecciones bacterianas y fúngicas secundarias. Cabe destacar que el SDRA puede conducir directamente a insuficiencia respiratoria, siendo la causa de muerte en el 70% de casos graves de COVID-19. (Tay et al., 2020; Ueffing et al., 2020)

La infección por SARS-CoV-2 reduce la expresión de ACE2 en las células pulmonares, causando la pérdida de su función y, por lo tanto, provocando una lesión pulmonar aguda. Además, se sabe que ACE2 regula el sistema renina-angiotensina (RAS), por lo que una reducción en la función de la ACE2 después de una infección viral podría resultar en una disfunción del RAS, lo que influye en la presión arterial y el equilibrio de líquidos/electrolitos, y aumenta la inflamación y la permeabilidad vascular en las vías respiratorias. (Tay et al., 2020; Tu et al., 2020)

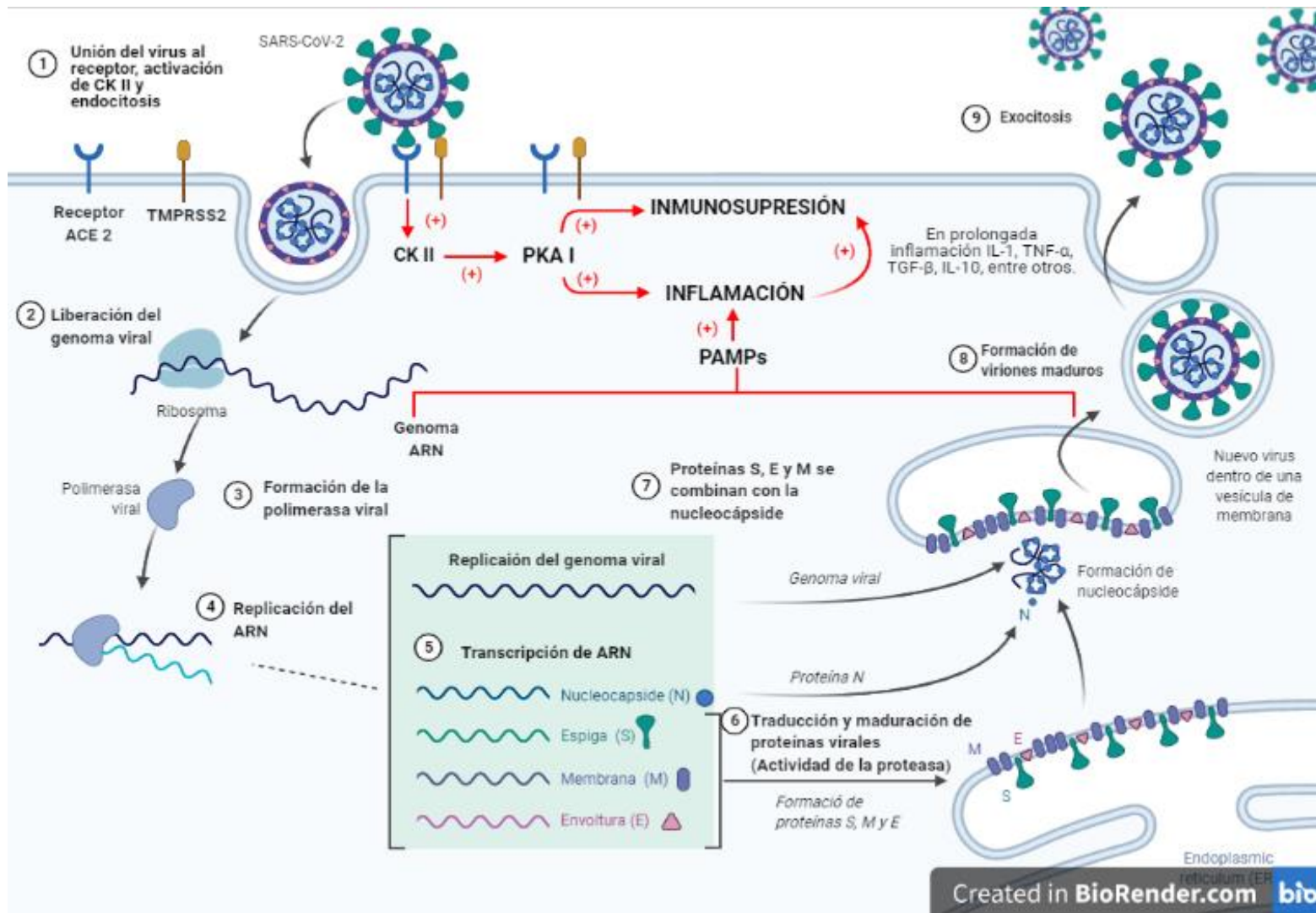


Figura 7. Mecanismo de infección del SARS-CoV-2. Caseína Kinasa II (CK II), enzima convertidora de angiotensina II (ACE II), factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1, 6 y 10 (IL-1, IL-6 e IL-10), kinasa I activada (PAK I), patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), serina proteasa transmembrana 2 (TMPRSS2). Imagen elaborada en BioRender.com

También vale la pena señalar que los síntomas gastrointestinales de COVID-19 pueden ser causados por el daño viral directo al intestino más que por la respuesta inmunopatogénica a la infección pulmonar del huésped. Dado que la enzima convertidora de angiotensina 2, se expresa en las células epiteliales gastrointestinales humanas. (Tu et al., 2020)

Por último, una reacción inmune excesiva a menudo causa daños en múltiples órganos, lo que conduce a insuficiencia orgánica del corazón, hígado y riñones. Igualmente, en cursos graves se produce activación del sistema de coagulación, del complemento, formación de microtrombos y microangiopatía progresiva. (Tu et al., 220; Ueffing et al., 2020)

Inmunidad

Actualmente se sabe que las personas que han tenido una infección por SARS-CoV-2 desarrollan anticuerpos específicos que se dirigen principalmente contra la nucleocápside y/o la proteína S. Cabe destacar que, en la mayoría de los pacientes, esta seroconversión tiene lugar en la segunda semana después del inicio de los síntomas. Las células B son las encargadas de las primeras respuestas inmunitarias, a menudo contra la proteína N, estas se identifican solo una semana después del inicio de los síntomas. Los anticuerpos contra la proteína S se detectan entre cuatro y ocho días después del inicio de los síntomas, y la mayoría de los pacientes desarrollan anticuerpos neutralizantes en la semana 3. (Tay, et al., 2020; Ueffing et al., 2020)

Cuando el SARS-CoV-2 infecta las células, la replicación activa y la liberación del virus hacen que la célula huésped sufra piroptosis, la cual es una forma altamente inflamatoria de muerte celular programada que se observa comúnmente con los virus citopáticos (Figura 8). (Tay et al., 2020)

Posterior a la piroptosis, son liberados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y patrones moleculares asociados a daño (DAMP). Estos son reconocidos por las células epiteliales alveolares, las células endoteliales y los macrófagos alveolares. Se produce una ola de inflamación local que desencadena la generación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias (incluidas IL-6, CXCL-10, proteínas inflamatorias de macrófagos 1 α (MIP1 α), MIP1 β y MCP1). Estas proteínas atraen monocitos, macrófagos y células T al sitio de infección, promoviendo una mayor

inflamación (con la adición de IFN γ producido por las células T) y estableciendo un circuito de retroalimentación proinflamatorio. (Tay et al., 2020)

En una respuesta inmunitaria defectuosa, existe una mayor acumulación de células inmunitarias en los pulmones, provocando una sobreproducción de citocinas proinflamatorias, que eventualmente dañan la infraestructura pulmonar. La tormenta de citocinas resultante circula a otros órganos, provocando daños en múltiples órganos. Además, los anticuerpos no neutralizantes producidos por las células B pueden potenciar la infección por SARS-CoV-2 a través de la potenciación dependiente de anticuerpos (ADE), exacerbando aún más el daño orgánico. (Tay et al., 2020)

Alternativamente, en una respuesta inmune saludable, la inflamación inicial atrae a las células T específicas del virus al sitio de la infección, donde pueden eliminar las células infectadas antes de que el virus se propague. Los anticuerpos neutralizantes en estos individuos pueden bloquear la infección viral, y los macrófagos alveolares reconocen virus neutralizados y células apoptóticas y los eliminan por fagocitosis. En conjunto, estos procesos conducen a la eliminación del virus y un daño pulmonar mínimo, lo que resulta en la recuperación. (Alvarado et al. 2020; Tay et al., 2020)

Diagnóstico

La liberación de la secuencia del genoma completo de SARS-CoV-2 a bases de datos públicas facilitó a los científicos el diseño de cebadores y sondas para realizar diagnósticos de laboratorio de COVID-19. Actualmente, para llevar a cabo la identificación temprana del SARS-CoV-2, se realiza amplificación aleatoria y estrategias de secuenciación profunda, además de que se utilizan diferentes enfoques bioinformáticos para el posicionamiento taxonómico del virus. (Ul-Islam e Iqbal, 2020; Yüce et al., 2021) Algunos de los métodos de diagnóstico que se utilizan son:

-Pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT): Son las pruebas de elección para hacer un diagnóstico de una infección activa por COVID-19. Estos ensayos se dirigen a diferentes genes específicos del virus. Algunos de estos ensayos son:

- Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR): Este método es muy sensible y puede detectar infecciones con niveles mínimos de patógenos presentes en las muestras. Actualmente esta técnica es el estándar de oro para la detección de SARS-CoV-2 debido a su capacidad para medir directamente las partes genómicas virales en lugar de

los biomarcadores secundarios como antígenos o anticuerpos. (González et al., 2020; Yüce et al., 2021)

- Amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos en tiempo real multiplex (RT-NASBA): Este proceso de amplificación *in vitro* implica llevar a cabo la amplificación de dos pasos, en el que el primer paso es la desnaturalización y el segundo paso es una amplificación dependiente de la polimerasa realizada de forma isotérmica. También se añaden fluorocromos a la reacción para convertirla en una observación en tiempo real. (UI-Islam e Iqbal, 2020)

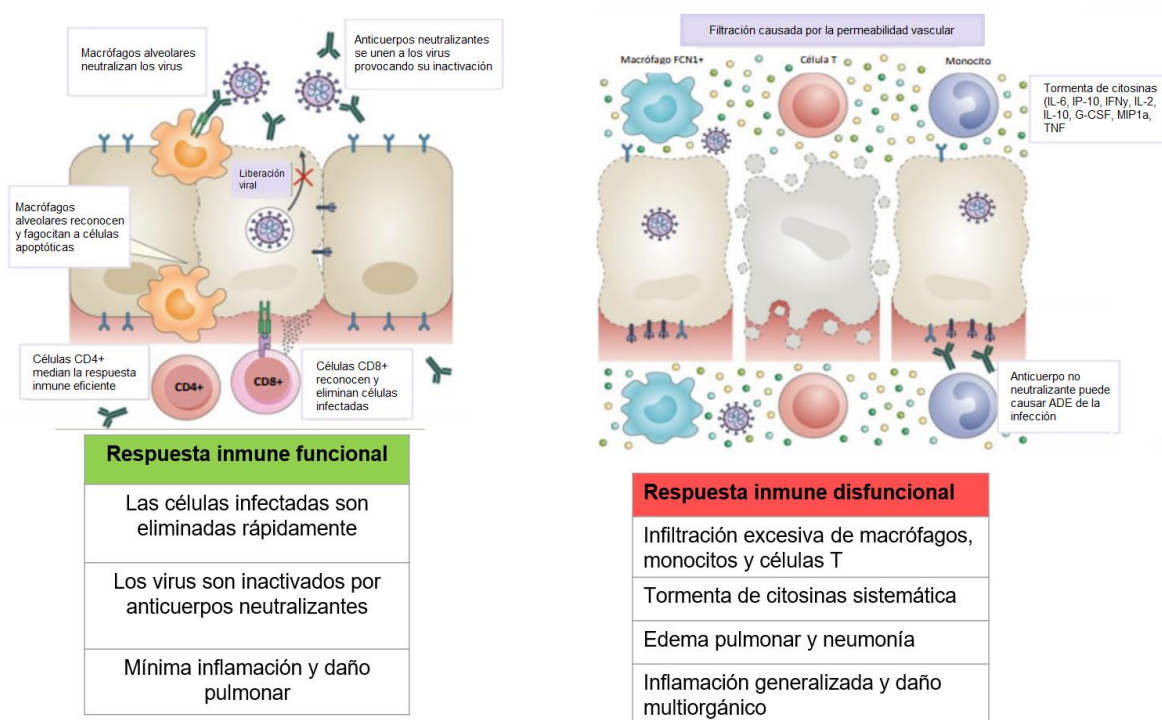


Figura 8. Respuesta inmune desencadenada por la infección de SARS-CoV-2. Izq. Respuesta inmune defectuosa. Der. Respuesta inmune saludable. Modificado de: Tay et al., 2020.

-Detección de antígenos: Estas pruebas detectan la presencia de proteínas virales del SARS-CoV-2 en muestras del tracto respiratorio. La proteína de la nucleocápside viral es la diana elegida con mayor frecuencia, ya que está presente en gran abundancia en las muestras clínicas. Las pruebas de detección de antígenos tienen la ventaja de ser sencillas de realizar y pueden dar resultados en 15 a 30 minutos. (KC Lai y Lam, 2021)

-Detección de anticuerpos: Los ensayos de detección de anticuerpos comúnmente se dirigen contra dos antígenos del SARS-CoV-2: la proteína nucleocápside (N) o espiga

(S). Sin embargo, existe un desafío de reactividad cruzada entre los anticuerpos generados contra el SARS-CoV-2 y los anticuerpos contra otros coronavirus. Además, la sensibilidad de estas pruebas no puede compararse con la sensibilidad de RT-PCR, aunado a que dos tipos de patógenos pueden provocar el mismo tipo de respuesta inmune. Por estas razones, las pruebas serológicas no se pueden considerar como indicadores específicos de la infección por SARS-CoV-2. (KC Lai y Lam, 2021; UI-Islam e Iqbal, 2020; Zhang et al., 2020)

Por otro lado, en un estudio realizado por Zhanng et al. (2020), demostraron que la estrategia actual para la detección de ARN viral en hisopos nasofaríngeos utilizados para el diagnóstico de SARS-CoV-2 no es perfecta. El virus puede estar presente en frotis anales o de sangre de pacientes cuando la detección de frotis nasofaríngeos es negativa, ya que los pacientes infectados pueden albergar el virus en el intestino en la etapa temprana o tardía de la enfermedad. Además, utilizaron pruebas serológicas de IgM e IgG virales para confirmar la infección, siendo estas positivas en casi todos los pacientes. Sin embargo, observaron que puede haber un posible cambio de positivo por vía oral durante la infección temprana a positivo por frotis anal durante la infección tardía. Esta observación implica que no se puede dar de alta a un paciente basándose únicamente en hisopos orales negativos, ya que aún puede excretar el virus por vía oral-fecal. (Zhang et al., 2020)

Cabe destacar que, el primer diagnóstico se realiza a través del análisis de la sintomatología del paciente, posteriormente se recurre a diferentes pruebas de laboratorio para confirmar la infección. En la figura 9 se describen las características sintomáticas y de laboratorio de la enfermedad causada por el SARS-CoV-2.

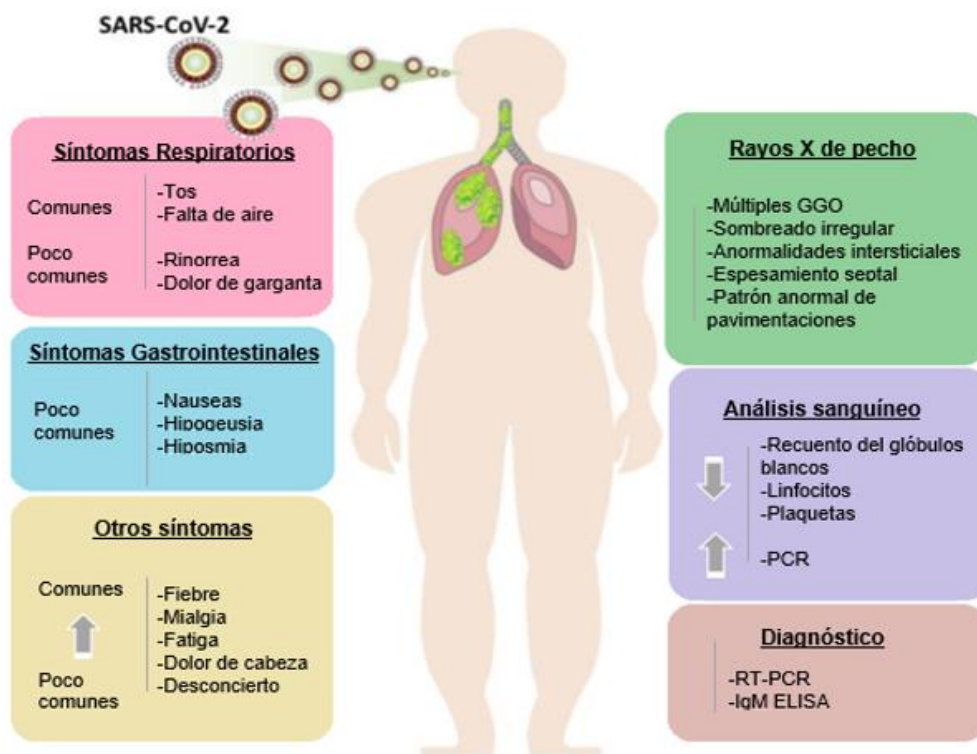


Figura 9. Descripción general de las características sintomáticas radiológicas y de laboratorio para el diagnóstico de COVID-19. (Tu et al., 2020)

Tratamiento

El tratamiento para la enfermedad causada por el SARS-CoV-2 es principalmente sintomático y de apoyo en la mayoría de los casos. El manejo clínico enfatiza la importancia de la atención de apoyo y la prevención de complicaciones y transmisión nosocomial. Inicialmente, el paciente que acude a urgencias se clasifica en enfermedad leve, moderada o grave según los síntomas que presenta. Cuando los pacientes experimentan dificultad respiratoria, se debe administrar oxígeno de inmediato. Sin embargo, si no hay signos de hipoperfusión tisular, la reanimación con líquidos debe ser relativamente conservadora, ya que puede provocar edema pulmonar y disminuir la oxigenación al organismo. Conviene destacar, no obstante, que muchas de las manifestaciones de la patología han sido manejadas clínicamente, por lo que el tratamiento debe individualizarse en base al estado del paciente y debe asegurar el soporte vital en caso de complicaciones. (Consejo General de Colegios Farmacéuticos, 2020; Parasher, 2021;)

Cabe destacar que, actualmente ya se dispone de varias vacunas que protegen al organismo de la infección causada por SARS-CoV-2. Los mecanismos de acción de estas vacunas varían según su composición:

- Vacunas con material genético viral: utilizan ARN o ADN genéticamente modificados para generar una proteína que por sí sola desencadena una respuesta inmunitaria.
- Vacunas con vectores víricos: utilizan virus genéticamente modificados que no desencadenan la enfermedad, pero da lugar a proteínas coronavíricas que inducen una respuesta inmunitaria.
- Vacunas basadas en proteínas: utilizan fragmentos inocuos de proteínas o estructuras proteínicas que imitan el virus causante de la COVID-19 con el fin de generar una respuesta inmunitaria.
- Vacunas con virus inactivados o atenuados: utilizan un virus previamente inactivado o atenuado, de modo que no provoca la enfermedad, pero aun así genera una respuesta inmunitaria.

(FDA, 2021; Francisco, 2021)

Propóleo frente a SARS-CoV-2

Durante esta pandemia, se ha buscado el diseño de fármacos anti-COVID-19 que se centren en impedir la entrada del virus en las células huésped, interrumpir la replicación viral e inhibir las interacciones proteína-virus huésped, con el objetivo de abortar las respuestas inflamatorias inducidas por la invasión viral. Sin embargo, el tratamiento utilizado para atacar el COVID-19 ha presentado diversos efectos secundarios, tales como anemia y diarrea (causas comunes de desnutrición en COVID-19). Además, los pacientes que reciben antibióticos tienen un alto riesgo de complicaciones trombogénicas, daño hepático, desnutrición e hipoproteïnemia. (Mohammed y Kunugi, 2021; Naggar et al., 2021).

Por esta razón, algunos científicos se han centrado en la búsqueda de sustancias naturales que, al ser complejas químicamente, en su mayoría muestran una amplia gama de actividades en beneficio a la salud humana. Además, actualmente muchos medicamentos comercializados provienen de productos naturales o sus derivados, lo que

representa más de la mitad de los medicamentos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (Ripari et al. 2021).

Los productos apícolas son reconocidos por sus diversas propiedades medicinales y farmacéuticas, las cuales han sido exploradas desde siglos atrás. El propóleo es una sustancia resinosa natural producida por las abejas obreras, contiene más de 300 compuestos identificados, de los cuales el 5% pertenece a compuestos orgánicos como polifenoles, flavonoides, aminoácidos, vitaminas y micronutrientes. Se sabe que la mayoría de los ingredientes activos del propóleo comprenden fitoquímicos polifenólicos como ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y taninos. (Mohammed y Kunugi, 2021)

La apiterapia implica el uso de productos de abejas para prolongar, mantener y retener la salud. Durante este siglo, ha aumentado el interés sobre estos productos, específicamente del propóleo, ya que se ha comprobado (a través de diferentes estudios) su gran potencial antiviral, inmunomodulador, antiinflamatorio, antioxidante y pro-resolutivo. Además, el propóleo ha demostrado ser seguro y no tóxico, sin efectos adversos después de su administración a humanos o animales, utilizando concentraciones de hasta 100 µg/mL. igualmente puede considerarse más seguro que muchos medicamentos sintéticos y ejerce efectos protectores sobre diversos órganos. (Kumar et al., 2020; Mohammed y Kunugi, 2021; Ripari et al. 2021)

Dado que el propóleo es una sustancia químicamente compleja, no existe un mecanismo específico que nos explique cómo actúa sobre el SARS-CoV-2. A continuación presentamos los principales mecanismos por los que diferentes compuestos del propóleo pueden intervenir en la enfermedad de COVID-19.

Inhibición del receptor ACE2

Los flavonoides existentes en el propóleo se han mostrado como potenciales candidatos terapéuticos efectivos contra COVID-19, ya que la transmisión intraespecífica o entre especies de β -coronavirus requiere una interacción entre el agente infeccioso y los receptores de la célula huésped que da como resultado la invasión del virus a las células del organismo. Los compuestos rutina, CAPE, miricetina, luteolina, quercetina, pinocembrina y hesperetina (en orden) han demostrado gran afinidad de unión con ACE2 (figura 10), incluso mayor a la de la molécula inhibidora natural de referencia MLN-4760. Cabe destacar que estas interacciones moleculares se demostraron mediante un paquete de software de dinámica molecular y otros programas de simulación. (Güler et al., 2020; Ali y Kunugi, 2021; Shawan et al., 2021)

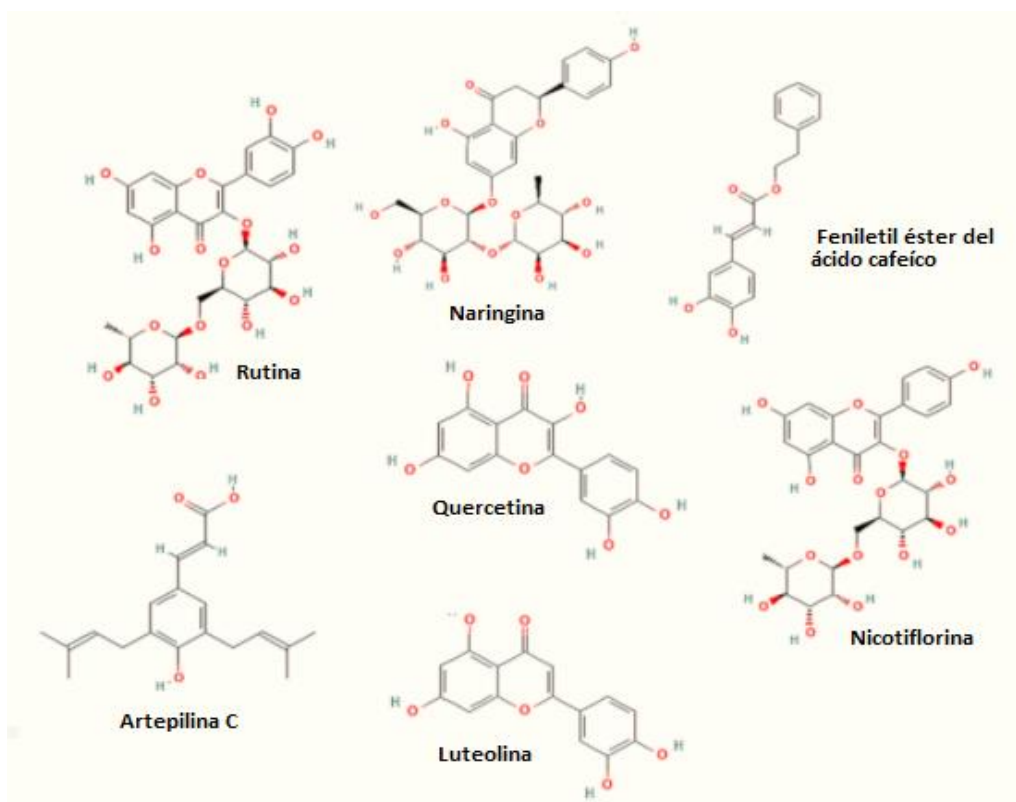


Figura 10. Estructura química de los flavonoides con mayor afinidad de unión a proteínas diana del SARS-CoV-2. Modificado de: Mohammed y Kunugi, 2021.

Las células epiteliales ricas en ACE2 en la cavidad nasal y los alvéolos son los principales sitios de entrada para el SARS-CoV-2, sin embargo, esta enzima no sólo se expresa en gran medida dentro de los órganos respiratorios, sino que, también se expresa dentro del tejido epitelial de las células intestinales, renales y cardíacas, tejidos clave en la enfermedad grave de COVID-19, ya que al entrar el virus en las células a través de la fusión de membranas conduce a la regulación negativa de ACE2 y por lo tanto la pérdida de su capacidad catalítica para degradar la angiotensina II. (Güler et al., 2020; Castro et al. 2021; Elmahallawy et al., 2021)

El alto potencial de los flavonoides en los extractos etanólicos de propóleo para unirse a los receptores ACE2 indica que este producto natural podría utilizarse en el tratamiento de COVID-19, ya que actúan evitando la unión del virus a su receptor y, por lo tanto, que se lleve a cabo el ciclo de vida del agente infeccioso (Figura 11). (Elmahallawy et al., 2021; Güler et al., 2020; Ali y Kunugi, 2021; Shawan et al., 2021)

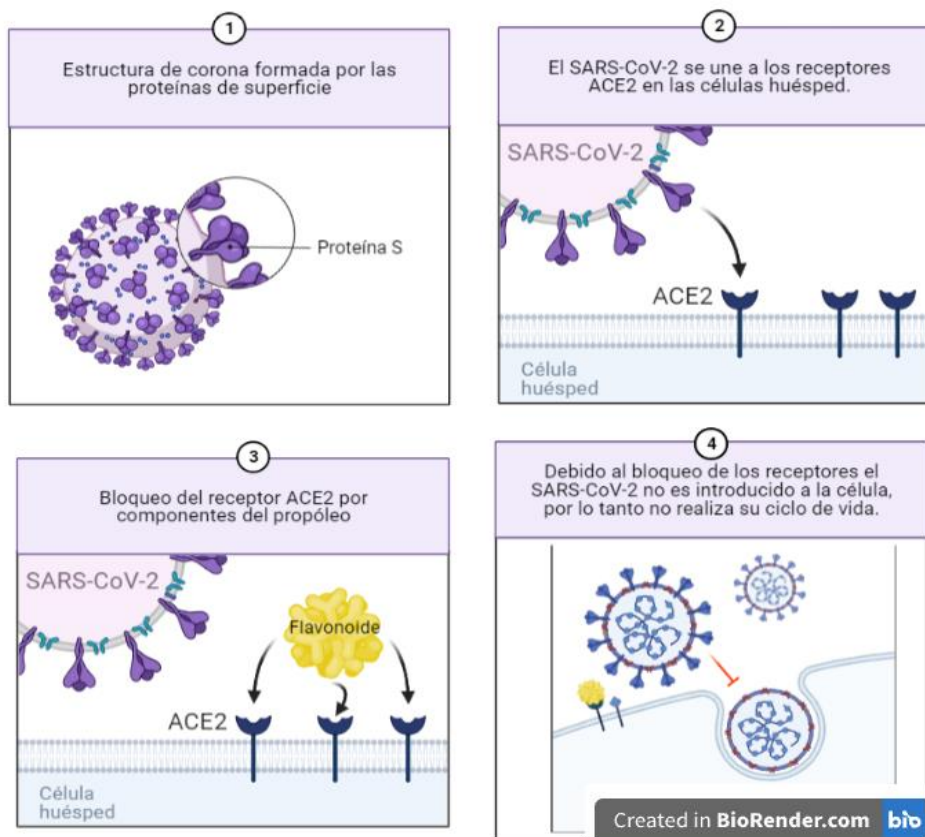


Figura 11. Inhibición del ciclo viral del SARS-CoV-2 por los flavonoides del propóleo. Los flavonoides se unen a los receptores ACE2 debido a su afinidad con estos, por lo que el virus no se puede unir y por lo tanto no puede entrar a la célula. Imagen elaborada en BioRender.com

Inhibición de la Proteína S del SARS-CoV-2

Por otro lado, se encuentra la proteína de pico de SARS-CoV-2, la cual contiene un dominio de unión a receptores (RBD) que reconoce al receptor diana que conduce al empalme de la proteína de espiga trimérica en S1 y S2. Este dominio facilita la fusión virus-célula, para que posteriormente suceda la infección viral. En un estudio realizado por Jain et al. (2021) se utilizaron herramientas y software para realizar acoplamiento molecular de varios flavonoides con la proteína S de SARS-CoV-2. Los flavonoides rutina y naringenina, que también son comúnmente hallados en propóleos, mostraron una afinidad de unión considerablemente alta en comparación con la dexametasona, que es un fármaco antiinflamatorio utilizado para el tratamiento de COVID-19. La dexametasona es un glucocorticoide sintético que, como los naturales, cruza fácilmente las membranas de las células y se une a receptores citoplasmáticos específicos, como ACE2, induciendo una serie de respuestas que modifican la transcripción y, por tanto, la síntesis de proteínas.

De la misma forma, Güler y Kara (2020) realizaron acomplamiento molecular de la misma proteína, sin embargo, ellos utilizaron 12 compuestos (catequina, pinocembrina, ácido cinámico, ácido *p*-cumarínico, crisina, rutina, éster fenético del ácido cafeico (CAPE), ácido ferúlico, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido gálico, hidroxiclороquina, ácido siríngico) extraídos previamente de polen de *Cistus L.*, encontraron que la catequina, la pinocembrina, la crisina y el CAPE, compuestos que también se encuentran en el propóleo, tienen una mejor afinidad con los sitios de reconocimiento al receptor ACE2. En la figura 12 se observa un resumen de los resultados obtenidos en ambos estudios. (Güler y Kara, 2020; Vidal Vdemecum Spain, s.f.)

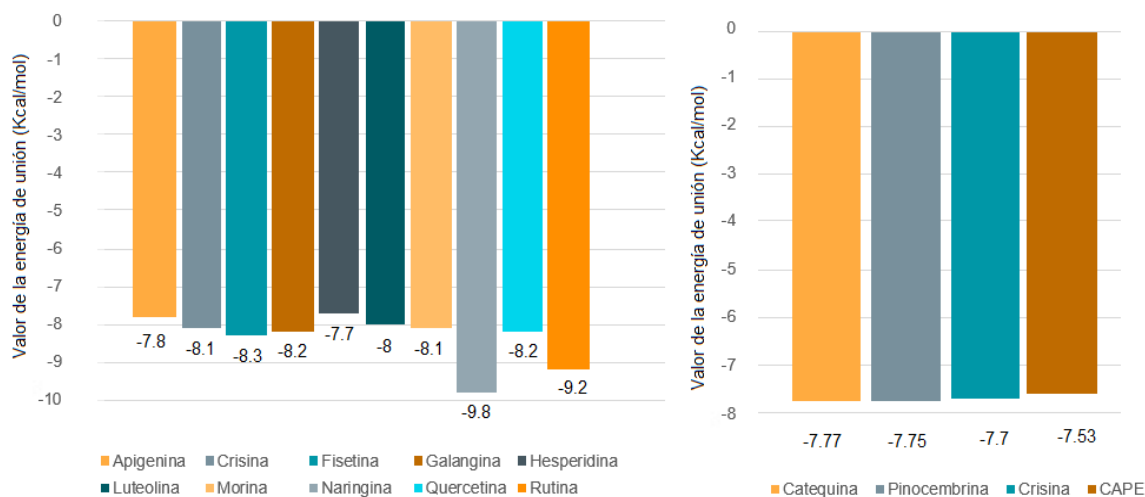


Figura 12. Afinidad de unión con el sitio activo de la proteína S de SARS-CoV-2. Izq. Se observan las energías de unión negativas (Kcal/mol) obtenidas por Jain et al. 2021. Der. Energías de unión negativas (Kcal/mol) de cuatro de los flavonoides obtenidos por Güler y Kara 2020. Un valor de energía de unión bajo indica una mejor afinidad entre la proteína y el ligando.

Inhibición de TMPRSS2

Otra proteína clave para que se lleve a cabo la infección de la célula es TMPRSS2 encargada de la activación de la proteína S, por lo que es esencial para la propagación viral y la patogénesis en el huésped infectado. En un estudio realizado por Kumar et al. (2020) examinaron el potencial de unión del CAPE y dos extractos de hierbas dentro del dominio catalítico de la enzima en comparación con su inhibidor conocido: mesilato de Camostat. Al final del estudio demostraron que CAPE podía unirse e interactuar de manera estable en el sitio catalítico de TMPRSS2 mejor a lo reportado por el mesilato de Camostat, de esta manera, se ve afectado el corte de la proteína S del virus y por lo tanto, no se lleva a cabo la entrada a la célula eucariota. Además, se ha demostrado que

TMPRSS2 es prescindible en el modelo knock out de ratones que no mostró ningún efecto significativo sobre el desarrollo, la supervivencia, la estructura o funciones normales de los órganos, lo que sugiere su redundancia funcional con otras serina proteasas transmembrana o su función no vital en caso de estrés o enfermedad. (Kim et al., 2006; Mohammed y kunugi, 2021)

Inhibición de RNA

A nivel molecular un punto clave para la maduración del ARN mensajero es la metilación del extremo 5', la cual brinda estabilidad y apoyo en el transporte hacia el citosol. También, se sabe que los eucariotas superiores y los virus a veces metilan marcadamente la estructura cap-0 en la posición de la ribosa 2'-O del primer y segundo nucleótido del mRNA a través de una ribosa 2'-O MTasa que, a su vez crean una estructura cap-1 y cap-2, respectivamente. En el campo viral, se sabe que la actividad de los virus de ADN y ARN, como el VPH, el VHB, el VEB, el SK y el VIH, está regulada por cambios de metilación del ADN. El estudio realizado por Kadioglu et al. (2020) analizó la capacidad de unión de diferentes compuestos químicos naturales y sintéticos al sitio catalítico de la 2'-O-ribosa metil transferasa (2'-O MTasa). Entre los productos naturales destacó la procianidina, compuesto que también se encuentra en algunos propóleos, ya que no sólo mostró afinidad de unión con el sitio catalítico de esta enzima, sino que también tiene afinidad para unirse a la proteína S y la proteína N del SARS-CoV-2 (Figura 13), demostrando gran potencial para inhibir el ciclo viral en dos puntos clave: la unión del virus con su receptor y la metilación del RNA. (Elnakady et al., 2017; Castro et al. 2021; Elmahallawy et al., 2021)

Posteriormente, la enzima de ARN dependiente del ácido ribonucleico (RdRp) cataliza la replicación de este ácido a partir de las plantillas de ARN maduro, por lo que se considera una enzima crucial para los coronavirus. Vardhan y Sahoo (2020) demostraron a través de acoplamiento molecular, que tres componentes de propóleos, limonina, quercetina y kaempferol (en orden), tienen potencial para unirse a RdRp y por lo tanto inhibir su actividad. (Elmahallawy et al., 2020; Feng et al., 2020)

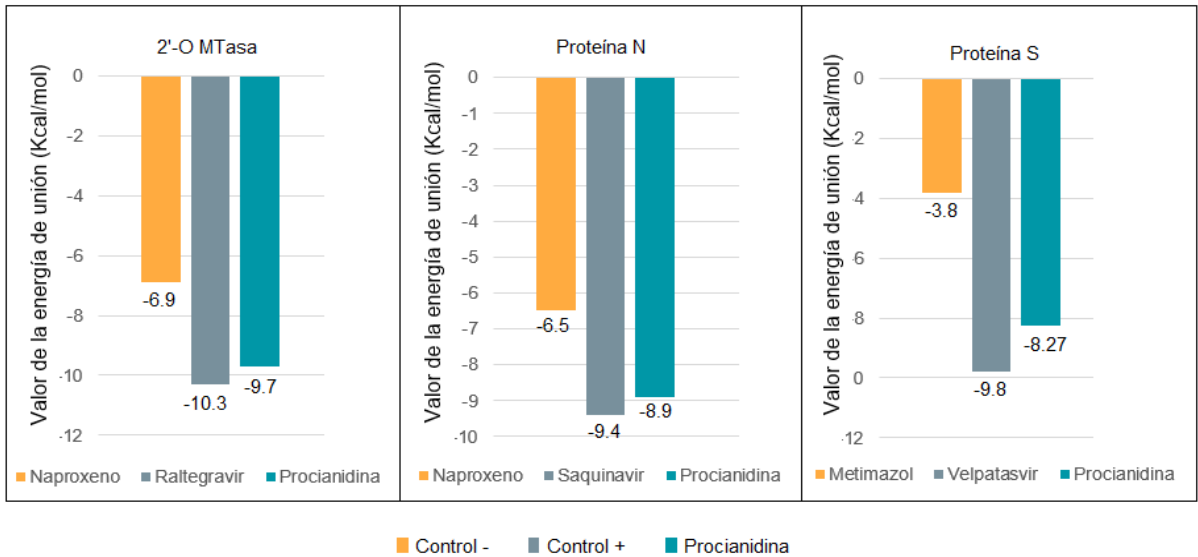


Figura 13. Energía de unión de la procianidina con la 2'-O MTasa, Proteína N y Proteína S. Se observan los gráficos de unión a las diferentes proteínas con su respectivo control negativo y positivo.

Inhibición de la proteasa Mpro

Otra proteína importante para que suceda la infección por SARS-CoV-2, es la proteasa 3CL (proteasa principal o Mpro), la cual es esencial para la maduración proteolítica del virus ya que, se encarga de escindir las poliproteínas traducidas del ARN viral en 12 proteínas más pequeñas que participan en la replicación viral. Por esta razón, esta enzima se ha examinado como una proteína diana potencial para prevenir la propagación de la infección al inhibir la escisión de la poliproteína viral. Refaat et al. (2021) demuestra en un estudio la afinidad por la proteasa 3CL de 10 flavonoides contenidos en una muestra de propóleo, siendo la rutina el flavonoide con mayor interacción, seguido del CAPE, quercetina, kaempferol, pinocembrina, galangina, crisina, ácido p-cumarico y ácido benzoico. En una investigación basada en acoplamiento molecular realizada por Jo et al. (2020) mostró que los flavonoides tienen una amplia gama de afinidad de unión a la enzima 3CLpro del SARS-CoV-2 debido a sus anillos aromáticos hidrófobos y grupos hidroxilo hidrófilos.

Inhibición de PAK

Por otro lado, la entrada de SARS-CoV-2 a la célula, causa la regulación positiva de PAK-1, la cual es la principal quinasa patógena cuya activación anormal es responsable de una amplia variedad de enfermedades. Además, es responsable de la supresión del sistema inmunológico en los huéspedes y el desencadenamiento de factores de inflamación. El CAPE tiene efecto *in vitro* inhibitorio de la vía PAK-1 con

consecuente efecto antiinflamatorio e inhibidor de la apoptosis pulmonar, esta actividad inhibitoria también se ha observado con otros polifenoles presentes en los propóleos como la artepilina C. (Bustinza, A. 2020; Ripari et al. 2021)

Asgharpour et al. (2019) demostraron que el tratamiento con extracto etanólico de propóleo inhibe significativamente la expresión de IL-1, IL-6, IL-10 y COX-2. Entre las citocinas proinflamatorias, la IL-1 β es expresada en respuesta a estímulos, por lo que su inhibición conduce a la inhibición de una cascada que activa NF- κ B, iNOS y otras citocinas proinflamatorias, en consecuencia, es bloqueada la fibrosis pulmonar inducida por los coronavirus (Figura 14). (Berreta y Jong, 2020; Maruta y He, 2020)

Inmunomodulación

La modulación inmunitaria es deseable ya que la infección por coronavirus desregula la respuesta inmune en las fases iniciales de la infección, lo que facilita la replicación viral. El propóleo puede modular la función de diferentes células involucradas en la inmunidad innata y adaptativa, demostrando su acción inmunomoduladora (Figura 14). Se ha comprobado que esta sustancia puede activar los mecanismos implicados en la destrucción de microorganismos a través de la estimulación en la generación de ROS, la expresión de TLR-2 y TLR-4, la producción de citocinas proinflamatorias y la producción de IL-1 β por macrófagos. Además, el propóleo, a diferencia de los inmunosupresores típicos, puede ayudar a evitar la inmunosupresión durante las fases iniciales de la enfermedad y, en etapas posteriores, reducir una respuesta inflamatoria exagerada del huésped, inhibiendo el exceso de señalización de IL-6, IL-2 y citocinas Janus cinasa (JAK).

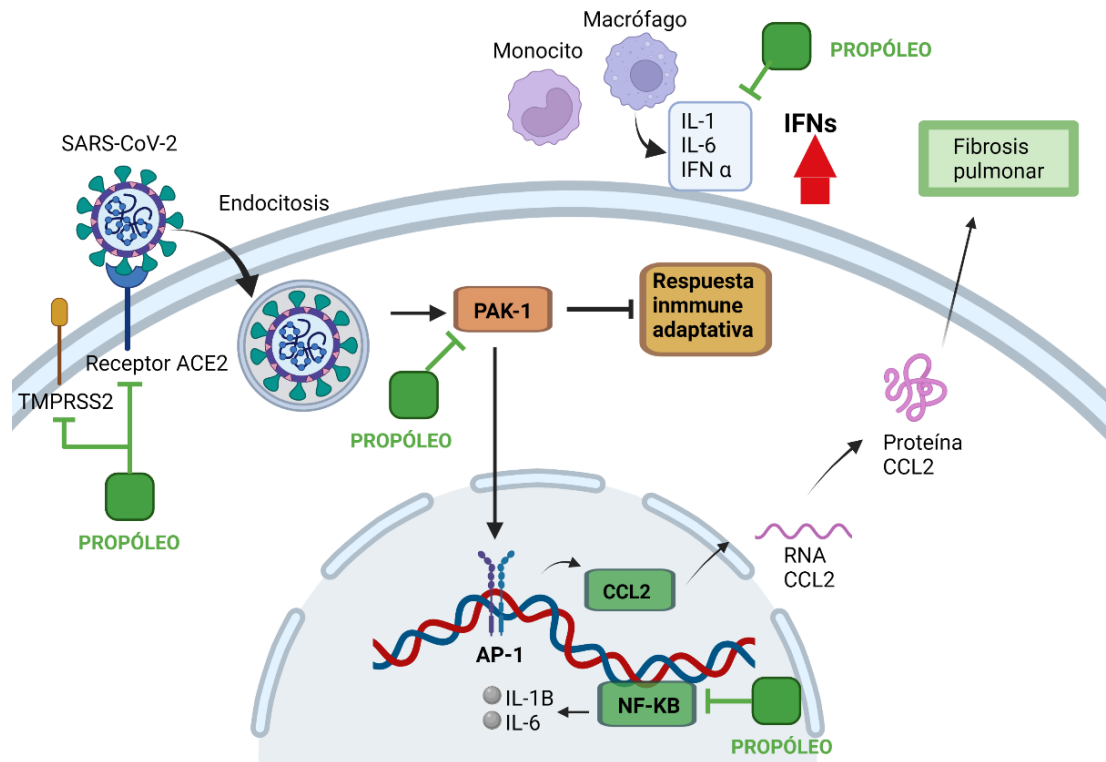


Figura 14. Efecto inmunomodulador del propóleo en la infección por SARS-CoV-2. El SARS-CoV-2 entra a la célula a través de la unión de la proteína S con ACE2 y la activación por TMPRSS2. Posteriormente se activan varias señales que permiten la endocitosis viral y la activación de PAK-1, reduciendo la respuesta inmune adaptativa y la producción de anticuerpos. Además, PAK-1 también estimula la producción de CCL2, generando una respuesta fibrótica. Igualmente, se activa la producción local de citocinas proinflamatorias, ya que se activa el factor de transcripción nuclear NF-κB. Los componentes del propóleo regulan la baja expresión de TMPRSS2 y bloquean el receptor ACE2, lo que limita la entrada del virus. Además, promueven la inmunomodulación de NF-κB y monocitos/macrófagos. Imagen elaborada en BioRender.com.

En una revisión realizada por Barretta et al. (2020) se mencionan todos los posibles mecanismos potenciales a través de los cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2, los cuales podemos observar en la siguiente tabla.

Tabla 5. Vías potenciales a través de las cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2. Barreta et al. 2020.

Objetivo	Infección por SARS-CoV-2	Efecto de los componentes	Componentes del propóleo
Polimerasa de ARN dependiente de ARNviral (RdRp)	Encargada de la transcripción de los genes virales	Alto potencial de unión a ambas proteínas y otros componentes virales (<i>in silico</i>)	Limonina, quercetina y kaempferol
Glicoproteína de pico (S)	Componente viral clave para que se lleve a cabo la unión virus-célula		Kaempferol
Proteína de canal 3 ^a	Componente viral que se adhiere a la célula huésped y permite la liberación del nuevo virus de la célula infectada	Bloqueo del canal (<i>in vitro</i>)	Kaempferol, miricetina, CAPE, hesperetina y pinocembrina
ACE2	Receptor principal para la entrada viral	Potencial inhibitorio con alta energía de unión al receptor (<i>in silico</i>)	Kaempferol quercetina
TMPRSS2	Serina proteasa que media la preparación de la proteína S para la entrada viral	Regulación negativa de la proteasa (<i>in silico</i>)	Kaempferol
PAK-1	Responsable de la supresión del sistema inmunológico en los huéspedes	Regula negativamente el PAK-1 asociado con la activación de RAC1 (encargado de la activación de PAK-1) (<i>in vitro</i>)	CAPE
		Inhibe PAK-1 directamente o en sentido ascendente, bloqueando la infección por coronavirus (<i>revisión</i>)	Ácido cafeico

Tabla 5. Vías potenciales a través de las cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2. (Continuación) Barreta et al. 2020.

Objetivo	Infección por SARS-CoV-2	Efecto de los componentes	Componentes del propóleo
Proteasa similar a 3CL	Esencial para la maduración proteolítica del virus	Inhibe la actividad de escisión de la proteasa (<i>in vitro</i>)	Hesperetina
Inmunomodulación	Respuesta inmune adaptativa contra la infección viral.	Aumenta la respuesta humoral y celular en ratones inmunizados con herpesvirus Suid tipo 1 Suprime la diferenciación de las células Th17 mediante la inhibición de la fosforilación inducida por IL-6 del transductor de señal y el activador de la transcripción 3 (STAT3) (in vivo)	Extracto de propóleo
Transcripción viral	Integridad de la replicación y del virión	Previene la regulación positiva de la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) necesaria para la replicación del virus de la hepatitis C (<i>in vitro</i>)	Quercetina
	Transcripción	Inhibe la integrasa del VIH-1 (<i>Revisión</i>)	CAPE
	Replicación	Disminuye las proteínas de choque térmico y los niveles de transcripción del virus de la hepatitis B (<i>in vitro</i>)	Ácido cafeico
	Endocitosis	Inhibe la replicación del ADN del virus de la hepatitis B (<i>in vivo e in vitro</i>) Inhibe la replicación del virus de la influenza A (IAV) y su actividad a través de las neuramidinas (<i>in vitro</i>)	

Tabla 5. Vías potenciales a través de las cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2.(continuación). Barreta et al. 2020.

Objetivo	Infección por SARS-CoV-2	Efecto de los componentes	Componentes del propóleo
Respuesta inflamatoria	Respuesta a infección viral que conduce a una lesión de órganos.	<p>Inhibe la activación de NF-KB (<i>in vitro</i>)</p> <p>Induce la señalización Ca²⁺ en las células dendríticas de las placas de Peyer, mejorando la respuesta inmunitaria (<i>in vitro</i>)</p> <p>Atenúa la respuesta inflamatoria a través de los niveles intracelulares de ROS y NO con regulación a la baja de la expresión de IL-1β e IL-6 (<i>in vitro</i>)</p> <p>Aumenta los niveles de TGF-β e IL-10, que contribuyen a la regulación del proceso inflamatorio en la Inflamación Pulmonar Aguda (<i>in vivo</i>)</p> <p>Inhibe la producción de ROS, RNS, NO, citocinas IL-1α, IL-1β, IL-4, IL-6, IL-12p40, IL-13, TNF-α, G-CSF, GM-CSF, MCP-1 , MIP-1α, MIP-1β y Quimiocina CCL5 en macrófagos de ratón estimulados (<i>in vitro</i>)</p>	Extracto de propóleo
		<p>Inhibe la activación de NF-kB en la infección por HTLV-1 (<i>in vitro</i>)</p>	Kaempferol
		<p>Reduce TNF-α, IL-6, VEGF a través de la vía ERK-NFkB-cMyc-p21 (<i>in vitro</i>)</p> <p>Modula la señalización JAK / STAT y atenúa el estrés oxidativo y la inflamación.</p>	CAPE

Tabla 5. Vías potenciales a través de las cuales el propóleo y sus componentes podrían atenuar la infección por SARS-CoV-2.(continuación). Barreta et al. 2020.

Objetivo	Infección por SARS-CoV-2	Efecto de los componentes	Componentes del propóleo
Trombosis	Desregulación de la coagulación sanguínea causada por una infección viral	Inhibe la trombina en las manifestaciones trombóticas (<i>in vitro</i>)	Quercetina
	Traducción viral	Inhibe la actividad del sitio de entrada del ribosoma interno (IRES) necesaria para la traducción de proteínas virales (<i>in vitro</i>) Inhibe la ADN polimerasa asociada a la transcriptasa inversa del virus de la inmunodeficiencia humana, así como la actividad de la ARNasa H (<i>in vitro</i>)	Kaempferol y hesperetina
	Endocitosis	Disminuye la fosforilación de la proteína quinasa B y la endocitosis viral del rinovirus (<i>in vivo</i>)	Kaempferol

Uso del propóleo en pacientes con COVID

Finalmente, Vidale G. (2021) demostró en un estudio que la administración de propóleo a personas infectadas es capaz de reducir la estancia hospitalaria hasta en un 50%. Los investigadores llegaron a esta conclusión después de evaluar el impacto de la sustancia en 124 personas con COVID-19, cabe destacar que todos los voluntarios tenían alrededor de 50 años, con comorbilidades similares, tenían síntomas durante unos ocho días y el mismo grado de afectación pulmonar (alrededor del 50%). A los pacientes que se les administró extracto de propóleo se recuperaron más rápido, con una estancia hospitalaria 40% más corta que los que solo recibieron tratamiento estándar. En otro ensayo realizado por Duarte et al. (2021), se utilizó propóleo verde brasileño (EPP-AF®) como tratamiento complementario para pacientes hospitalizados con enfermedad de moderada a grave de COVID-19. Al final del estudio encontraron una reducción en la duración de la estancia hospitalaria dependiente de la dosis, con una mediana de 7 días con 400 mg/día y 6 días con 800 mg/día, en comparación con una mediana de 12 días para el tratamiento estándar solo. Igualmente observaron una aparente tendencia en los pacientes tratados con propóleos a tener una menor necesidad de oxigenoterapia invasiva.

En un estudio observacional de más de 5000 pacientes hospitalizados con COVID 19 se informó una frecuencia general del 36% de lesión renal aguda; entre los pacientes con soporte de oxígeno no invasivo, la tasa fue del 20% y entre los que recibieron soporte con ventilador mecánico fue del 89%. Cabe destacar que, el desarrollo de lesiones renales graves en pacientes con COVID-19 es multifactorial e incluye factores de riesgo inherentes a estos pacientes. Además, muchos pacientes con COVID-19 desarrollan daño renal y luego requieren hemodiálisis incluso después del curso de la enfermedad. En el mismo estudio realizado por Duarte et al. (2021), se demostró una incidencia significativamente menor de lesión renal en los pacientes tratados con la dosis más alta de propóleo en comparación con el grupo de control. En otro ensayo de Duarte et al. (2019), se demostró el gran potencial de los efectos inmunosupresores y antiinflamatorios del propóleo al administrar EEP en una dosis de 500 mg/día durante 12 meses a pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) por diabetes o de otra etiología,

obteniendo al final del tratamiento que la proteinuria fue significativamente menor en el grupo administrado con propóleo que en el grupo de placebo.

Tal efecto del extracto de propóleo sobre la enfermedad provocada por SARS-CoV-2 se debe a los flavonoides presentes en la sustancia, como ya se ha mencionado antes, estos pueden actuar individualmente sobre diferentes proteínas diana que son clave para la replicación y maduración del virus. (Figura 15) Sin embargo varios autores han declarado que los flavonoides individualmente tienen menor efecto biológico que el extracto de propóleo, por lo que se sugiere que estos actúan en sinergismo potencializando el efecto de cada uno.

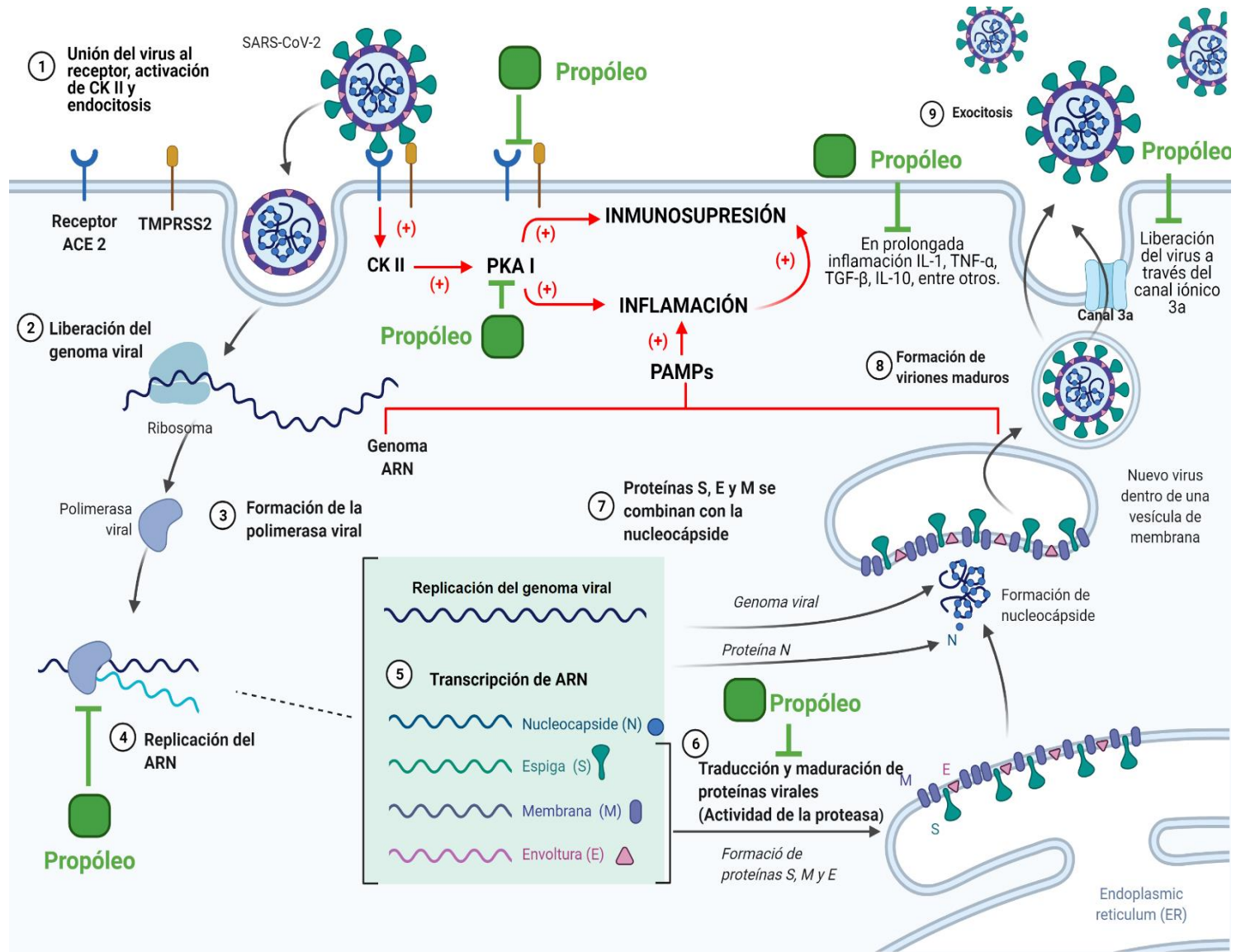


Figura 15. Mecanismos de acción potenciales del propóleo. Elaboración propia creada con BioRender.com

CONCLUSIONES

La presente investigación bibliográfica nos permitió comprender el ciclo de replicación viral del SARS-CoV-2, logrando comprender cada uno de los mecanismos en los que podría actuar el extracto etanólico de propóleo y cada uno de sus componentes para evitar que se lleve a cabo la replicación viral. Mediante modelos computarizados de predicción de interacción molecular, el CAPE se considera como potencial inhibidor de la proteína S del SARS-CoV-2, secundariamente rutina, naringina, catequina, pinocembrina y crisina pueden unirse a diferentes sitios de reconocimiento a ACE2 en esta proteína. Varios constituyentes del propóleo (rutina, CAPE, miricetina, luteolina, quercetina, pinocembrina y hesperetina) han demostrado capacidad de bloqueo de la enzima convertidora de angiotensina II. Como ya se ha mencionado anteriormente, estas proteínas son esenciales para que se lleve a cabo la entrada del virus a la célula y al unirse los diferentes componentes del propóleo a cada una de estas, se evita la unión del virus con la célula. Dado que éstos se consideran pasos tempranos del ciclo viral, el uso de propóleo también es adecuado para la quimioprofilaxis.

De manera análoga, se ven afectadas la transcripción, replicación y maduración del virus. En el primer caso tenemos la limonina, quercetina y kaempferol, que pueden unirse a sitios específicos de la proteína a RdRp (*in silico*) la cual se encarga de la transcripción de los genes virales. Posteriormente, en diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* se ha comprobado que la quercetina y el ácido cafeico actúan de diferente forma durante este proceso causando una disminución de la replicación del virus de la hepatitis B y de la influenza A. Por último, la liberación del virus se ve interferida por kaempferol, miricetina, CAPE, hesperetina y pinocembrina que bloquean a la proteína de canal 3a (*in vitro*) evitando la liberación de los nuevos virus.

En el caso de COVID-19, se ha logrado comprobar que reduce el tiempo de hospitalización de pacientes enfermos, argumentando que el extracto de propóleo es capaz de interferir en la respuesta inflamatoria gracias a que inhibe la activación de NF-KB (*in vitro*) y la producción de proteínas inflamatorias, además, induce la señalización de Ca^{2+} en células dendríticas de las placas de Peyer, regula negativamente la expresión de IL-1 β e IL-6 (*in vitro*) y aumenta los niveles de TGF- β e IL-10 (*in vivo*). Asimismo, se ha demostrado *in vivo* que aumenta la respuesta humoral y celular, y que suprime la diferenciación de las células Th17.

Por otro lado, este producto apícola también demuestra gran potencial como preventivo contra la enfermedad, sin embargo, se encontraron muchas restricciones para la aprobación y aceptación de estas sustancias como un suplemento que promueve la salud en varios países, ya que los productos de propóleo no están estandarizados y varían en sus componentes y actividad biológica entre países y a nivel regional.

Finalmente, dicha investigación nos permitió generar diagramas nuevos y más completos sobre el ciclo de replicación viral del SARS-CoV-2 y mecanismos de acción del propóleo contra dicho virus, material que puede ser extraído y utilizado como apoyo para la comunidad científica.

BIBLIOGRAFIA

- Al-Hariri, M., Eldin, T., Abu-Hozafa, B. y Elnour, A. (2011). Glycemic control and anti-osteopathic effect of propolis in diabetic rats. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 4, 377-384. DOI: <https://Doi.org/10.2147/DMSO.S24159>
- Alday, S., Diaz, G., Rascon, L., Quintero, J., Alday, E., Robles, R., Garibay, A., Astiazaran, H., Hernández, J., Velázquez, C. (2015). Sonoran Propolis and some of its chemical constituents Inhibit *in vitro* Growth of *Giardia lamblia* Trophozoites. *Planta Medica*, 81(9), 742–747. DOI: [10.1055/s-0035-1545982](https://doi.org/10.1055/s-0035-1545982)
- Almuhayawi, M. (2020). Propolis as a novel antibacterial agent. *Rev. Saudi Journal of Biological Sciences*. Vol. 27-11. DOI: <https://Doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.09.016>
- Alvarado A., Bandera A., Carreto B., Pavón R. y Alejandro G. (2020). Etiología y fisiopatología del SARS-CoV-2. *Rev Latin Infect Pediatr*. DOI: <https://dx.Doi.org/10.35366/96667>
- Bankova, V., Galabov, A., Antonova, D., Vilhelmova, N. y Di Perri, B. (2014). Chemical composition of Propolis Extract ACF® and activity against herpes simplex virus. *Phytomedicine*. Vol 21- 11, DOI: <https://Doi.org/10.1016/j.phymed.2014.04.026>.
- Beig Parikhani, A., Bazaz, M., Bamehr, H. et al. The Inclusive Review on SARS-CoV-2 Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Potential Management Options. *Curr Microbiol* 78, 1099–1114 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02396-x>
- Berreta, A., Duarte, M., Córdor, J. y De Jong, D. (2020). Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, Volume 131(110622):1-16. Doi:[10.1016/j.biopha.2020.110622](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110622)
- Braakhuis, A. (2019). Evidence on the Health Benefits of Supplemental Propolis. *MDPI. Nutrients*. Vol. 11-11. DOI: <https://Doi.org/10.3390/nu11112705>
- Campos, I., Hernández, L., Pedroza, A., Medina, C. Barquera, S. (2018), Hipertensión arterial en adultos mexicanos: prevalencia, diagnóstico y tipo de tratamiento. *Salud Pública de México*, 60(3). <https://www.insp.mx/avisos/4801-hipertension-adultos-mexicanos.html>
- Chi, Y., Luo, L., Cui, M., Hao, Y., Liu, T., Huang, X. y Guo, X. (2019). Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil of Chinese Propolis. *Rev. Chemistry y Biodiversity*. Vol. 17-1. DOI: <https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/cbdv.201900489>
- Consejo General de Colegios Farmacéuticos. (2020). Coronavirus: COVID-19. Informe técnico. Consultado en:

<https://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/Asesoramiento-salud-publica/infeccion-coronavirus-2019-nCoV/Documents/Informe-tecnico-Coronavirus.pdf>

- Diario Oficial de la Federación (DOF). (6 de octubre de 2017). Norma Oficial Mexicana: Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento. NOM-003-SAG/GAN-2017. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA). http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/6794/sagarpa11_C/sagarpa11_C.html
- Ding, Q., Rehman, A., Gu, X., Li, J., Xia, K., Sun, N., Wu, R., Luo, L., Zhang, Y. y Ma, H. (2020). Chinese Propolis: Ultrasound-assisted enhanced ethanolic extraction, volatile components analysis, antioxidant and antibacterial activity comparison. *Rev. Food Science y Nutrition*. Vol. 9-1. DOI: <https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/fsn3.1997>
- Domínguez, O., Rodríguez, B., Cruz, T., García, C., Nieto, J. y Soto, C. (2020). Evaluation of the Antiviral Activity of Propolis from Native Bees (*Plebeia frontalis*) against Canine Distemper Virus. *Open Journal of Veterinary Medicine*. Vol.10-12. Doi: [10.4236/ojvm.2020.1012018](https://doi.org/10.4236/ojvm.2020.1012018)
- Duarte, M., De Jong, D., Dos Santos, E., Caldas, J., Cerqueira, T., Aparecida, A., ..., Da Hora, (2021). Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. *Biomedicine y Pharmacotherapy*. Vol. 138. Doi: <https://Doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111526>
- Duarte, M., Teles, E., Berretta, A., Sanches, T., Eleutério, C., Seguro, A. y Andrade, L. (2019). Effects of Brazilian green propolis on proteinuria and renal function in patients with chronic kidney disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Nephrology*. Vol. 20-140. Doi: <https://Doi.org/10.1186/s12882-019-1337-7>
- El-Awady, M., El-Agamy, D., Suddek, G. y Nader, M. (2014). Propolis protects against high glucose-induced vascular endothelial dysfunction in isolated rat aorta. *Journal of Physiology and Biochemistry*. vol. 70. Doi: <https://Doi.org/10.1007/s13105-013-0299-7>
- Elmahallawy, E., Mohamed, Y., Abdo, W., El, A., Ahmed, A. y Yanai, T. (2021). New Insights Into Potential Benefits of Bioactive Compounds of Bee Products on COVID-19: A Review and Assessment of Recent Research. *Front. Mol. Biosci*. Vol. 7-618318. DOI: [10.3389/fmolb.2020.618318](https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.618318)
- Elnakady, Y., Rushdi, A., Franke, R., Abutaha, N., Ebaid, H., Baabbad, M., Mohamed, O. y Al-Ghamdi, A. (2017). Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. *Sci. Rep*. Vol. 7. Doi: [10.1038/srep41453](https://doi.org/10.1038/srep41453)

- Federación Internacional de Diabetes. (2020). Número mundial de víctimas de la diabetes. Atlas de diabetes de la FID. 9a. edición. <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>
- Feng, W., Zong, W., Wang, F., and Ju, S. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): a review. Mol. Canc. Vol. 19-1. Doi:[10.1186/s12943-020-01218-1](https://doi.org/10.1186/s12943-020-01218-1)
- Fernández, J. (2020). COVID-19: Científicos confirman que su origen es natural. Biotech, magazine y new. Consultado en: <https://biotechmagazineandnews.com/covid-19-cientificos-confirman-que-su-origen-es-natural/>
- Food and Drug Administration (2021). Aprenda más sobre las vacunas contra el COVID-19 de la FDA. Consultado en: <https://www.fda.gov/consumers/articulos-en-espanol/aprenda-mas-sobre-las-vacunas-contra-el-covid-19-de-la-fda>
- Francisco, A. (Marzo de 2021). Vacunas SARS-COV2. Sociedad Española de Nefrología. <https://www.nefrologiaaldia.org/es-articulo-vacunas-sars-cov2-marzo-2021-366>
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. y Peterson, P. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. Journal of Ethnopharmacology. Vol. 102- 2. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.045>
- González, M., Cruz, T., Soto, C., Carrillo, L. y Fonseca, S. (2017), *In vitro* activity of propolis on domestic animal viruses: a review. Rev. Interciencia. 42(5). ISSN: 0378-1844. <https://www.interciencia.net/>
- González, M., González, F., García, C., Carrillo, L., Soto, C., Canales, M., Penieres, J., Cruz, T. y Fonseca, S. (2018). Comparison between *In vitro* Antiviral Effect of Mexican Propolis and Three Commercial Flavonoids against Canine Distemper Virus. Evidence-based complementary and alternative medicine. Sitio web: Hindawi. DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7092416>
- Gonzáles, M., Mora, A., Villanueva, R., Lara, M., Vanoye, V. y Guerra, A. (2019). Diversidad de la flora de interés apícola en el estado de Tamaulipas, México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, Vol. 11, no. 3. Doi:[10.22319/rmcp.v11i3.4717](https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i3.4717)
- González, M., Soto, C. García T. (2020). Actividad antiviral del propóleo. Atlas Nacional de las Abejas y Derivados Apícolas. Sitio web: <https://atlasnacionaldelasabejasmx.github.io/atlas/index.html>
- González, N. y Chang, A. (2020). RT-PCR en tiempo real para el diagnóstico y seguimiento de la infección por el virus SARS-CoV-2. Revista Cubana de Hematología,

Inmunología y Hemoterapia, Vol. 36. Recuperado de <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1262>

- Güler, H., Tatar, G., Yildiz, O., Belduz, A. y Kolayli, S. (2020). Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study. Journal Science Open Preprints. Consultado en: <https://www.scienceopen.com/hosted-document?Doi=10.14293/S2199-1006.1.SOR-.PP5BWN4.v1>
- Güler, H. y Kara, Y. (2020). Targeting CoV-2 Spike RBD: ACE-II complex with phenolic compounds from *Cistus* (*Cistus L.*) Bee Pollen for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study. Journal of apitherapy and nature. Vol 3-1. Doi: <https://Doi.org/10.35206/jan.762734>
- Harrison, A., Lin, T. y Wang, P. (2020), Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis, Trends in Immunology, Volume 41, Issue 12, Pages 1100-1115. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471490620302337>
- Hartenian, E., Nandakumar, D., Lari, A., Ly, M., Tucker, J. y Glaunsinger, B. (2020). The molecular virology of coronaviruses, Journal of Biological Chemistry, Vol. 295- 37, Doi: <https://Doi.org/10.1074/jbc.REV120.013930>.
- Hashem, H. (2020). *In silico* Approach of Some Selected Honey Constituents as SARS-CoV-2 Main Protease (COVID-19) Inhibitors. EJMO. Vol 4-3. Doi: <https://ejmo.org/10.14744/ejmo.2020.36102/>
- Hoffman, M., Kleine, H., Schroeder, S., Müller, M., Drosten, C. y Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. Revista en línea Cell. Vol. 181-2. DOI: <https://Doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P. y Li, Z. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. Nat Rev Microbiol. Vol. 19. DOI: <https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Ishtiaq, S., Ullah, A., Ali, K., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M., Tahir, M., Ansari, M., Ghramh, H., Adgaba, N. y Dash, K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Rev. Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 26-7. DOI: <https://Doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Jain, A., Sushma, P., Dharmashekar, C., Beelagy, M., Prasad, S., Shivamallu, C., Prasad, A., Syed, A., Marraiji, N. y Prasad, K. (2021). *In silico* evaluation of flavonoids as effective antiviral agents on the spike glycoprotein of SARS-CoV-2. Saudi Journal of Biological Sciences. Vol. 28-1. Doi: [10.1016 / j.sjbs.2020.11.049](https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.049)

- Jiménez, O.V.D., Pérez, B.R., Sánchez, T.A.C., Tovar, C.G.G., Bordes, J.L.N. and Zárate, C.I.S. (2020), Evaluation of the Antiviral Activity of Propolis from Native Bees (*Plebeia frontalis*) against *Canine Distemper Virus*. Open Journal of Veterinary Medicine, 10, 207-218. Doi:[10.4236/ojvm.2020.1012018](https://doi.org/10.4236/ojvm.2020.1012018)
- Jo, K., Hae, D. y Kim, M. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry. Vol. 35-1. Doi: [10.1080/14756366.2019.1690480](https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1690480)
- Kadioglu, O., Saeed, M., Johannes, H. y Efferth, T. (2020). Identification of novel compounds against three targets of SARS CoV-2 coronavirus by combined virtual screening and supervised machine learning. Computers in biology and medicine. Vol. 133. Doi: [10.1016 / j.compbiomed.2021.104359](https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104359)
- KC Lai, C. y Lam, W. (2021). Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. Biochemical and Biophysical Research Communications. Vol 538. Doi: [https://Doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.069](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.10.069)
- Kim, T., Heinlein, C., Hackman, R., y Nelson, P. (2006). Phenotypic analysis of mice lacking the Tmprss2-encoded protease. Molecular and Cellular Biology. Vol. 26-3. Doi: [https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1128/MCB.26.3.965-975.2006](https://doi.org/10.1128/MCB.26.3.965-975.2006)
- Kumar, S. y Pandey, A. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The scientific world journal. Sitio web: Hindawi. Doi: [https://Doi.org/10.1155/2013/162750](https://doi.org/10.1155/2013/162750)
- Levy, E., Delvin, E., Marcil, V. y Spahis, S. (2020). Can phytotherapy with polyphenols serve as a powerful approach for the prevention and therapy tool of novel coronavirus disease 2019 (COVID-19)?. American journal of physiology, endocrinology and metabolism. DOI: [https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1152/ajpendo.00298.2020](https://doi.org/10.1152/ajpendo.00298.2020)
- Lotti, C., Campo, M., Lisa, A., Cuesta, O., Márquez, I. y Rastrelli, L. (2016). Chemical Constituents of Red Mexican Propolis. Rev. Agric. Food Chem. Vol. 58-4. Doi: [https://Doi.org/10.1021/jf100070w](https://doi.org/10.1021/jf100070w)
- Londoño A. O., Ávila A. J., Canales M. M., Hernández D. C., Serrano P., Flores O. C. (2010). Antibacterial comparative study extracts of Mexican propolis and of three plants which use *Apis mellifera* for its production. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9(8): 1250-1254. Doi:[10.3923/javaa.2010.1250.1254](https://doi.org/10.3923/javaa.2010.1250.1254)
- Martinotti, S. y Ranzato, E. (2015). Propolis: a new frontier for wound healing?. Rev. Burns y Trauma, Vol. 3. Doi: [https://Doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1186/s41038-015-0010-z](https://doi.org/10.1186/s41038-015-0010-z)

- Maruta, H. y He, H. (2020), PAK1-blockers: Potential Therapeutics against COVID-19. *Medicine in Drug Discovery*, Volume 6. Doi: [10.1016/j.medidd.2020.100039](https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100039)
- Mohammed, A. y Kunugi, (2021). Propolis, Bee Honey, and Their Components Protect against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review of In Silico, In Vitro, and Clinical Studies. *Molecules* 2021 Vol. 26. Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26051232>
- Montaña, L. y Flores, E. (2020). COVID-19 y su asociación con los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los antagonistas de los receptores para angiotensina II. *Revista de la facultad de medicina. UNAM.* Vol. 63-4. Doi: <http://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.63.4.05>
- Naggar, Y., Giesy, P., Abdel, M., Javed, M., Al, S. y Yahya, G. (2021). Fighting against the second wave of COVID-19: Can honeybee products help protect against the pandemic?. *Saudi Journal of Biological Sciences.* Vol. 28-3. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.031>
- Negri, P., Oliveira, P., Lima, J. y Sforcin, J. (2018). Positive effects of antitumor drugs in combination with propolis on canine osteosarcoma cells (spOS-2) and mesenchymal stem cells. *Journal Biomedicine y Pharmacotherapy.* Vol. 104. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.05.027>
- Nolkemper, S., Reichling, J., Heinz, K. y Schnitzler, P. (2010). Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytomedicine.* Vol 17- 2. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.006>.
- Osorio, M. y Salamanca, G. (2017). Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo. Consultado en: https://www.researchgate.net/profile/Monica-Osorio-3/publication/328346989_Origen_naturaleza_propiedades_fisicoquimicas_y_valor_terapeutico_del_propoleo/links/5bc7c168a6fdcc03c78b2d98/Origen-naturaleza-propiedades-fisicoquimicas-y-valor-terapeutico-del-propoleo.pdf
- Parasher A. (2021). COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal.* Vol. 97. Doi: [10.1136/postgradmedj-2020-138577](https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577)
- Pastrian, G. (2020). Genetic and Molecular Basis of COVID-19 (SARS-CoV-2) Mechanisms of Pathogenesis and Immune. *International Journal of Odontostomatology*, 14(3).331-337. Doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2020000300331>
- Penieres, J. (2020). Composición general de los propóleos. Atlas nacional de las abejas y derivados apícolas. Sitio web:

<https://atlasnacionaldelasabejasmx.github.io/atlas/cap4.html#fnref8>

- Poland, G., Ovsyannikova, I., Crooke, S. y Kennedy, R. (2020), SARS-CoV-2 Vaccine Development: Current Status. *Mayo Clin Proc.* 95(10):2172-2188 Doi: 10.1016/j.mayocp.2020.07.021 Rao, V., Sammugam, L., Ramesh, N. y Hua, S. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Rev. Oxidative medicine and celular longevity.* Vol 2017. Doi: <https://Doi.org/10.1155/2017/1259510>
- Ponce, E. (2020). Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli. Edo. De México.
- Rashedi, J., Mahdavi, P., Asgharzadeh, V., Pourostadi, M., Samadi, H., Vegari, A., ..., Asgharzade, M. (2020), Risk Factors for COVID-19. *Le Infezioni in Medicina*, n. 4, 469-474. PMID: 33257620.
- Refaat, H., Mady, F., Sarhan, H., Rateb, H. y Alaaeldin, E. (2021). Optimization and evaluation of propolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19. *International Journal of Pharmaceutics.* Vol 592. Doi: 10.1016 / j.ijpharm.2020.120028
- Rebouças, J., Celes, F., Lima, J., Barud, H., de Oliveira, C., Berretta, A. y Borges, M. (2017). Parasite Killing of *Leishmania (V) braziliensis* by Standardized Propolis Extracts. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2017, 6067172. DOI: <https://Doi.org/10.1155/2017/6067172>
- Ripari, N., Sartori, A, da Silva, M., Conte, F., Tasca, K., Santiago, K. y Sforcin, J. (2021). Propolis antiviral and inmunomodulatory acivity: a review and perspectives for COVID-19 treatment. *Journal Pharm Pharmacol.* Doi: [10.1093/jpp/rqaa067](https://doi.org/10.1093/jpp/rqaa067)
- Rivera, N. (2018). Caracterización del efecto hipoglucemiante del propóleo en un modelo experimental de diabetes. (Tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala.
- Rivera, N., Rivera, R., Pozo, G., Méndez, C., Méndez, A. y Nieto, O. (2020). Biomedical Properties of Propolis on Diverse Chronic Diseases and Its Potential Applications and Health Benefits. *Rev. Nutrients.* Vol. 2021. DOI: <https://Doi.org/10.3390/nu13010078>
- Rivero, F., Granados, J., Pedraza, J., Pérez, J., Kumar, A., Díaz, G. y Rivero, B. (2020). Phytochemical Constituents, Antioxidant, Cytotoxic, and Antimicrobial Activities of the Ethanolic Extract of Mexican Brown Propolis. *MDPI. Antioxidants.* Vol. 9-1. DOI: <https://Doi.org/10.3390/antiox9010070>
- Rod, J., Oviedo, O. y Cortes, J. (2020). A brief-review of the risk factors for COVID-19 severity. *Revista de Saúde Pública.* DOI: [10.11606/s1518-8787.2020054002481](https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2020054002481)

- Rodríguez, P., Canales, M., Penieres, J. y Cruz, T. (2020). Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria* 30. Doi: <http://Doi.org/10.15174/au.2020.2435>
- Romano, M., Ruggiero, A., Squeglia, F., Maga, G. y Berisio, R. (2020). A Structural View of SARS-CoV-2 RNA Replication Machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. Sitio web: MDPI. Doi: <https://doi.org/10.3390/cells9051267>
- Santos, L., Foseca, M., Sokolonski, A., Deegan, K., Araújo, R., Umsza, M., Barbosa, J., Portela, R. y Machado, B. (2019). Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Vol. 100-4. Doi: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/jsfa.10024>
- Scorza, C., Gonçalves, V., Scorza, F., Fiorini, A., Almeida, A., Fonseca, M. y Finsterer, J. (2020). Propolis and coronavirus disease 2019 (COVID-19): Lessons from nature, *Rev. Complementary Therapies in Clinical Practice*. Vol. 41. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2020.101227>
- Sforcin, J. (2016). Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytotherapy Research*. Vol. 30- 6. Doi: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1002/ptr.5605>
- Shawan, M., Halder, S. y Hasan, M. Luteolin and abyssinone II as potential inhibitors of SARS-CoV-2: an in silico molecular modeling approach in battling the COVID-19 outbreak. *Bull Natl Res Cent* 45, 27 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00479-6>
- Silveira, M. 2021, Estudo inédito indica benefícios do própolis no tratamento da Covid-19, *Rev Veja*, Sitio web: <https://veja.abril.com.br/saude/estudo-inedito-indica-beneficios-do-propolis-no-tratamento-da-covid-19/>
- Souza, B., Dantas, R., Abreu, G., Serra, S., Figueredo, D., Neves, H., Carneiro, J., Antonio, O., Pehas, J., Umsza, M. y Ferreira, F. (2016). Chemical Composition and Biological Activity of Extracts Obtained by Supercritical Extraction and Ethanolic Extraction of Brown, Green and Red Propolis Derived from Different Geographic Regions in Brazil. Sitio web: PLOS ONE. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145954>
- Tay, M., Poh, C., Rénia, L., MacAry, P. y Ng, L. (2020). The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. Vol. 20. Doi: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1038/s41577-020-0311-8>

- Tolosa, M. (2020). Coronavirus SARS-CoV-2: estructura, mecanismo de infección y células afectadas. Sitio web: Genotipia. https://genotipia.com/genetica_medica_news/coronavirus-estructura-infeccion-celulas/
- Tovar Betancourt N. (2017). Evaluación antimicótica *in vitro* del propóleo mexicano sobre *Malassezia pachydermatis*. (Tesis de Maestría) Universidad Nacional Autónoma de México.
- Tu, Y., Chien, C., Yarmishyn, A., Lin, Y., Luo, Y., Lin, Y., Lai, W., Yang, D., Chou, S., Yang, Y., Wang, M. y Chiou, S. (2020). A Review of SARS-CoV-2 and the Ongoing Clinical Trials. Int J Mol Sci. Doi: [10.3390/ijms21072657](https://doi.org/10.3390/ijms21072657)
- Ueffing, M., Bayyoud, T., Schindler, M. y Ziemssen, F. (2020). Basics of the replication and immunology of SARS-CoV-2. Ophthalmologist. Vol. 117. Doi: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s00347-020-01155-w>
- Ul-Islam- K. y Iqbal, J. (2020). An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. Front. Cell. Infect. Microbiol. Doi: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.560616>
- Varas, D. (2004). Analisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica HPLC. (Tesis de pregrado). Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias. Consultado en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fcv288a/xhtml/TH.2.xml>
- Vardhan, S., Sahoo, S. (2020). Searching inhibitors for three important proteins of COVID-19 through molecular docking studies. arXiv. Doi: <https://arxiv.org/abs/2004.08095>
- Vidal Vdemecum Spain. (s.f.). Dexametasona. Vademecum on-line México: <https://www.vademecum.es/>
- Yüce, M., Filiztekin, E. y Özkaya, K. (2021). COVID-19 diagnosis: A review of current methods. Biosensors and Bioelectronics. Vol. 172. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112752>
- Zabaoui, N., Fouache, A., Trousson, A., Baron, S., Zellagui, A., Lahouel, M. y Lobaccaro, J., (2017). Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product, Rev. Chemistry and Physics of Lipids. Vol. 207- B. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005>
- Zhao, J., Yuan, Q., Wang, J., Liu, W., Liao, X., Su, Y., Wang, X., Yuan, J., Li, T., Li, J., Qian, S., Hong, C., Wang, F., Liu, Y., Wang, Z., He, Q., Li, Z., He, B., Zhang, T., Fu, Y., Ge, S., Liu, L., Zhang, J., Xia, N. y Zhang, Z., (2019). Antibody Responses to SARS-

CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease. *Clinical Infectious Diseases*, Vol. 71- 16. Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>

- Zhang, W., Du, R., Li, B., Zheng, X., Yang, X., Hu, B., Wang, Y., Xiao, G., Yan, B., Shi, Z. y Zhou, P. (2020) Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes, *Emerging Microbes y Infections*, Vol. 9-1. Doi: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1729071>
- Zhu, W., Chen, M., Shou, Q., Li, Y. y Hu, F. (2011). Biological Activities of Chinese Propolis and Brazilian Propolis on Streptozotocin-Induced Type 1 Diabetes Mellitus in Rats. *Evidence-Based complementary and alternative Medicine*. Sitio web: Hindawi. Doi: <https://doi.org/10.1093/ecam/neq025>