



**Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**

**Efecto del propóleo de abejas nativas en
dislipidemias**

T E S I S

Que para obtener el título de

Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Presenta:

Marlen Guadalupe Ponce Espino

ASESORES:

**Dra. Betsabé Rodríguez Pérez
Dr. Tonatíuh Alejandro Cruz Sánchez
MC. Elisa Gutiérrez Hernández**

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 2021



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.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
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 el Trabajo de : Tesis

Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias.

Que presenta la pasante: Marlen Guadalupe Ponce Espino
Con número de cuenta: 313349647 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 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Esther Revuelta Miranda	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	Dra. Betsabé Rodríguez Pérez	
1er. SUPLENTE	QFB. Ladislao Palomar Morales	
2do. SUPLENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
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 el Trabajo de : **Tesis**

Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias.

Que presenta la pasante: **Marlen Guadalupe Ponce Espino**
Con número de cuenta: **313349647** 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 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. Maria Esther Revuelta Miranda	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	Dra. Betsabé Rodríguez Pérez	
1er. SUPLENTE	QFB. Ladislao Palomar Morales	
2do. SUPLENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	

NOTA: los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMG/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
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 el Trabajo de : **Tesis**

Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias.

Que presenta la pasante: **Marlen Guadalupe Ponce Espino**
Con número de cuenta: **313349647** 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 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Esther Revuelta Miranda	
VOCAL	QFB. René Damián Santos	
SECRETARIO	Dra. Betsabé Rodríguez Pérez	
1er. SUPLENTE	QFB. Ladislao Palomar Morales	
2do. SUPLENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
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 el Trabajo de : **Tesis**

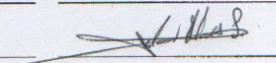
Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias.

Que presenta la pasante: **Marlen Guadalupe Ponce Espino**
Con número de cuenta: **313349647** 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 26 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dra. María Esther Revuelta Miranda	_____
VOCAL	QFB. René Damián Santos	_____
SECRETARIO	Dra. Betsabé Rodríguez Pérez	_____
1er. SUPLENTE	QFB. Ladislao Palomar Morales	
2do. SUPLENTE	MFC. Beatriz de Jesús Maya Monroy	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
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 el Trabajo de : **Tesis**

Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias.

Que presenta la pasante: **Marlen Guadalupe Ponca Espino**
Con número de cuenta: **313349647** 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 25 de abril de 2021.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. María Esther Revuelta Miranda</u>	_____
VOCAL	<u>QFB. René Darrián Santos</u>	_____
SECRETARIO	<u>Dra. Hetsabé Rodríguez Pérez</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>QFB. Ladislao Palomar Morales</u>	_____
2do. SUPLENTE	<u>MFC. Beatriz de Jesús Maya Manroy</u>	

NOTA: los suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

EMCF/javg



Tesis apoyada por los proyectos:

- **PAPIIT IN223719:** Evaluación de la potencialidad antimicrobiana de propóleos de abeja sin aguijón de México
- **PIAPI2011:** Investigación del propóleo de abejas nativas (abejas sin aguijón) para su aplicación en Medicina Veterinaria y Humana
- **Agradezco al Programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica PAPIIT por la beca otorgada para el desarrollo de mi tesis, beca con folio 175021**

Este trabajo ha sido presentado en los siguientes eventos:

- Encuentro estudiantil de Investigación en los productos de la colmena, con la ponencia en: “Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias”, que se llevó a cabo el 10 de abril de 2021, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.



- 6° Congreso de ciencia, educación y tecnología, en la modalidad de cartel con el trabajo “Efecto del propóleo de abejas nativas en dislipidemias”, que se llevó acabo del 9 al 11 de diciembre del 2020 en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.



UNAM
CUAUTITLÁN



6° CONGRESO
DE CIENCIA, EDUCACIÓN Y TECNOLOGÍA



2° ENCUENTRO
DE BUENAS PRÁCTICAS DOCENTES
en ciencia, humanidades y tecnología

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Otorgan la presente

CONSTANCIA a:

Marlen Guadalupe Ponce Espino, Betsabé Rodríguez Pérez, Tonatíuh Alejandro Cruz Sánchez, Elisa Gutiérrez Hernández

POR SU PARTICIPACIÓN EN MODALIDAD CARTEL CON EL TRABAJO:

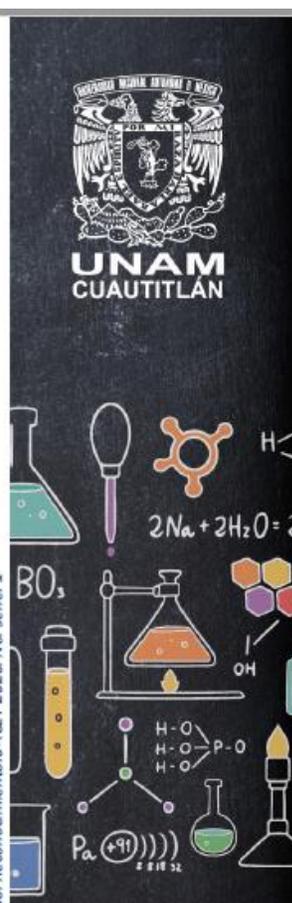
EFFECTO DEL PROPÓLEO DE ABEJAS NATIVAS EN DISLIPIDEMIAS

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cuautitlán Izcalli a 11 de diciembre del 2020



Dra. Alma Lúlea Revilla Vázquez
Jefa de la División de Ciencias Químico Biológicas

No. Reconocimiento: 68. CET-2020. No. serie: 1



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la UNAM por brindarme tanto durante estos años, a los profesores que durante la carrera me brindaron su conocimiento y las herramientas necesarias para mi formación, a mis asesores de tesis la Dra. Betsabé, el Dr. Tonatiuh y la Maestra Elisa por brindarme su confianza, paciencia y apoyo, gracias a la colmena por las gratas experiencias y a los sinodales por tomarse el tiempo de revisar mi trabajo.

Agradezco a las personas que se cruzaron en mi camino y que de alguna u otra forma se involucraron en este increíble proceso, a mis amigos a los que están desde el día uno y los que se fueron incorporando, los cuales hoy en día considero una parte muy importante de este viaje y que me dejaron enseñanzas para toda la vida.

Quiero agradecer a mis padres Maribel y Miguel por ser mi soporte y nunca dejar que me diera por vencida, por sus consejos, guía y amor infinito; a mis hermanos Brisa y Miguel por siempre apoyarme, por confiar en mí, por sacarme una sonrisa cuando lo necesitaba, por escucharme y darme palabras de aliento. Gracias a la vida por colocarme en dónde estoy ahora, porque a pesar de todos los caminos que pude tomar, escogí este esperando que fuera el mejor o el adecuado y viví una experiencia inigualable.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	1
CAPÍTULO I.....	2
1.1 INTRODUCCIÓN.....	2
1.2 JUSTIFICACIÓN	4
1.3. OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.1 OBJETIVOS PARTICULARES	5
1.4 HIPÓTESIS	5
CAPITULO 2	6
2. METODOLOGÍA	6
CAPÍTULO 3	7
MARCO TEÓRICO	7
3. 1 LAS ABEJAS.....	7
3.2. PROPÓLEOS	11
3.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA	12
3.2.2 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL PROPÓLEO	15
3.2.3 TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS PRESENTES EN EL PROPÓLEO	17
3.3 ENFERMEDADES CRÓNICAS NO TRANSMISIBLES EN MÉXICO	20
3.4 METABOLISMO DE LIPOPROTEÍNAS	22
3.5 DISLIPIDEMIAS	25
3.5.1 EPIDEMIOLOGÍA	25
3.5.2 CLASIFICACIÓN.....	26
3.5.3 DIAGNÓSTICO	27
3.5.4 TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO.....	28
3.5.5 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.....	29
3.6 RADICALES LIBRES.....	33
3.6.1 ESTRÉS OXIDATIVO	34
3.6.2 ANTIOXIDANTES	34
3.6.3 PROPÓLEO COMO ANTIOXIDANTE.....	35
CAPITULO 4	38
PROPÓLEO Y DISLIPIDEMIAS	38

4.1 PROPÓLEO Y DISLIPIDEMIAS EN MODELOS ANIMALES	38
4.2. PROPÓLEO DE ABEJAS NATIVAS SIN AGUIJÓN Y DISLIPIDEMIAS	48
4.3 EFECTO DEL PROPÓLEO EN EL PERFIL LIPÍDICO.....	51
4.4 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DEL PROPÓLEO.....	54
4.5. EFECTOS ADVERSOS DEL PROPÓLEO.....	55
4.6 ENSAYOS CLÍNICOS CON PROPÓLEO.....	58
CAPITULO 5	61
CONCLUSIONES, PROSPECTIVAS, REFERENCIAS Y ANEXOS	61
5.1 CONCLUSIONES.....	61
5.2 PROSPECTIVAS	62
5.3 REFERENCIAS	63
5.4 ANEXOS.....	72
5.4.1 Aloxano y Estreptozotocina	72
5.4.2 Triton-WR1339.....	73
5.4.3 NORMA Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento.....	73
NORMA Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento	82
5.4.4 NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.....	82
5.4.5 NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Abeja cubierta de polen (Arnold et al., 2018)	7
Figura 2. Clasificación de las abejas (Arnold et al., 2018)	8
Figura 3. Dios abeja Ah Mucen Kaab (Medellin, 2007).	9
Figura 4. Regiones melipónicas de México (González, 2012).	10
Figura 5. Flavonoides. Estructura básica y tipos (Martínez-Flórez et al, 2002).	13
Figura 6. Constituyentes químicos del propóleo con actividad biológica (Salamanca, 2017).	14
Figura 7. Complicaciones por sobrepeso y obesidad (modificada) (Shamah et al. 2015).	21
Figura. 8. Esquema grafico de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y de baja densidad (LDL) (Badimón & Padró, 2009).	22
Figura 9. Metabolismo de las lipoproteínas (Aguillón-Osma et al, 2019).	24
Figura 10. Ejemplo de algunas estructuras de estatinas (Chegwin-Angarita et al, 2012).	30
Figura 11. Estructura química de Ezetimiba. (National Center for Biotechnology Information, 2020b).....	31
Figura 12. Estructura química fenofibrato. (National Center for Biotechnology Information, 2020c).	32
Figura 13. Estructura química de clorofibrato. (National Center for Biotechnology Information, 2020a).....	32
Figura 14. Ácidos grasos. (Modificado de Carrero, 2005)	32
Figura 15. Estructura básica de los flavonoides (Martínez-Flórez et al, 2002).	36
Figura 16. Efecto del propóleo sobre niveles de TG y TC en ratones hiperlipidémicos inducidos por Triton-1339W reportado por Huang et al (2018).	40
Figura 17. Efecto del propóleo sobre niveles de HDL y LDL en ratones hiperlipidémicos inducidos por Triton-1339W reportado por Huang et al (2018).	40
Figura 18. Graficas del efecto del propóleo en el perfil lipídico en ratones reportado por Al Ghamdi y colaboradores (2015).....	46
Figura 19. Expresión relativa de genes relacionados con el metabolismo hepático en comparación con el grupo control reportado por Chen y colaboradores en 2018.	48
Figura 20. Grafica del efecto del propóleo de Trigona, en el perfil lipídico de ratas a las que se les indujo isquemia cardiaca reportado por Amed et al (2017).	50
Figura 21. Principales acciones del propóleo en las dislipidemias	60

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades y compuestos químicos del propóleo.	16
Tabla 2. Dislipidemias: Clasificación de Friedrickson (Aguirre et al, 2016).	26
Tabla 3. Niveles de concentración sanguínea de lípidos en mg/dL y clasificación de las dislipidemias como enfermedad (Secretaría de salud, 2003).	28
Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno generadas en el cuerpo (Aguilar- Paredes et al, 2018; Sánchez-Valle & Méndez Sánchez, 2018).	33
Tabla 5. Efecto del tratamiento de ratas diabéticas inducidas por aloxano sobre hemoglobina glicosilada, VLDL y HDL reportado por Oladayo (2016).	39
Tabla 6. Efecto del tratamiento de propóleo sobre perfil lipídico en ratones alimentados con una dieta alta en grasas reportada por Oršolić et al (2019).	41
Tabla 7. Efecto del extracto hidroalcohólico de propóleo y glibenclamida en el perfil lipídico de ratas diabéticas y no diabéticas reportado por El Menyiy et al, 2019.	43
Tabla 8. Efecto del propóleo encapsulado sobre TG en ratas con DM2 ($X \pm SD$) reportada por Li et al (2012).	44
Tabla 9. Efecto del propóleo encapsulado sobre Colesterol total, C-HDL, C-LDL en ratas con DM2 ($X \pm SD$) reportado por Li et al (2012).	45
Tabla 10. Efectos del extracto de propóleo verde de Taiwan en los perfiles bioquímicos del suero de la octava semana en ratas tratadas con STZ y una dieta alta en grasas reportado por Chen y colaboradores en 2018.	47
Tabla 11. Efecto del propóleo iraní en el perfil lipídicos de pacientes con DM2 después de 90 días reportado por Zakerkish et al (2019).	59
Tabla 12. Tabla del efecto de propóleo en colesterol total, C-LDL, C-HDL, y Triacilglicéridos reportados por Mujica et al (2017).	60

ABREVIATURAS

AGL	Ácidos grasos libres
ALT	Alanina aminotransferasa
Apo	Apolipoproteínas
AST	Aspartato aminotransferasa
CAPE	Éster fenético del ácido cafeico
C-HDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
C-LDL	Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad
CT	Colesterol total
DPPH•	1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
ECNT	Enfermedades crónicas no transmisibles
ENEC	Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FRAP	Ferric reducing/ antioxidant power
g	gramos
HbA1	Hemoglobina glicosilada
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia
LPL	Lipoproteinlipasa
MAG	2-monoacilgliceroles
mg/dL	miligramos por decilitro
mL	mililitros
PCSK9	Proteína convertasa subtilisina/ kexina tipo 9
SOD	Superóxido dismutasa
TG	Triacilglicéridos
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

El propóleo es una sustancia resinosa y altamente adhesiva, recolectada, transformada y utilizada por las abejas en la estructura de la colmena y como protección contra microorganismos; desde la antigüedad este producto ha sido utilizado por las propiedades farmacéuticas antimicrobiano, antioxidante, hepatoprotector, por mencionar algunas, que se le han atribuido (Baldi, 2019).

Sin embargo, la composición química del propóleo y en consecuencia su actividad biológica depende de factores como origen geográfico, fuente botánica, raza de abejas, época de muestreo y condiciones climáticas de la región; por lo que, los datos de efectividad varían.

Pensando en las propiedades biológicas del propóleo se buscaron las que podían dar la posibilidad de proponerlo como tratamiento complementario en pacientes con dislipidemia, entendiéndose por dislipidemia a las alteraciones de lípidos en sangre; el interés en esta población viene dado por el aumento de personas que la padecen en México y el mundo. Y la inclinación por el propóleo de *abejas nativas sin aguijón* viene de la alta presencia de estas abejas en territorio mexicano, y la poca investigación de las propiedades biológicas de este propóleo. Por lo anterior se realizó una revisión bibliográfica en diferentes fuentes digitales como Pubmed, ScieinceDirect, Elsevier, Scielo y Google scholar buscando el efecto del propóleo en el perfil lipídico, enfatizando en el propóleo de *abejas nativas sin aguijón* (Román, 2019).

Diversas investigaciones han demostrado que el propóleo de *abejas nativas sin aguijón* y del género *Apis* tiene efecto similar sobre las dislipidemias en modelos animales y en algunos ensayos clínicos, ya que el mecanismo de acción es disminuir los niveles de triacilglicéridos y colesterol total, aumenta el colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, disminuye el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, con la reducción de la placa arterioesclerótica y actúa como quelante de las sales biliares, principalmente; lo que demuestra que puede ser un posible tratamiento complementario en pacientes con dislipidemias (Lisbona-Gonzales et al, 2020; Mujica et al, 2017; Domínguez-Ávila et al, 2016).

CAPÍTULO I

1.1 INTRODUCCIÓN

La palabra propóleo se deriva del griego “*pro*” (en defensa de) “*polis*” (la ciudad); este es una sustancia resinosa y altamente adhesiva, recolectada, transformada y utilizada por las abejas para sellar los agujeros, fijar los panales, pulir las paredes interiores y proteger la entrada contra los intrusos (Baldi, 2019).

La composición química es compleja y depende de la flora presente en el área de recolección, así como de otros factores; sin embargo, se han identificado como principales componentes: alcoholes, aldehídos, aminoácidos, ácidos alifáticos, ácidos aromáticos, ésteres aromáticos, flavonoides, ácidos grasos, ácidos p-cumáricos prenilados, ácidos cafeoilquínicos, lignanos, ácidos diterpénicos, triterpenos, esteroides y azúcares (Baldi, 2019).

Este producto de la colmena ha sido utilizado desde la antigüedad por las propiedades farmacéuticas que se le han atribuido, tales como: antibacteriano, antifúngico, antiviral, antiinflamatorio, antiulceroso, hepatoprotector, antitumoral, antioxidante, entre otras. Algunas de estas propiedades han sido relacionadas con el contenido de compuestos fenólicos, especialmente flavonoides, ésteres del ácido cafeico, entre otros (Baldi, 2019).

Generalmente se relaciona el propóleo con la abeja *Apis mellifera* por ser la productora apícola más común, sin embargo, existen otras especies de abejas en nuestro país llamadas *abejas nativas sin aguijón* (Apidae: *Meliponini*) que se distribuyen ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo; se han descrito más de 400 especies, reportándose 46 en México, agrupadas en 16 géneros. Oaxaca, Chiapas, Veracruz, y Quintana Roo son los estados que tienen mayor número de especies en su territorio (Arnold et al, 2018).

Estas abejas han sido relevantes en la cultura humana por proveer recursos funcionales para diferentes sociedades, son las únicas abejas, junto con las abejas melíferas (tribu *Apini*), que son altamente sociables, por lo que, se ha desarrollado una técnica de manejo para ellas denominada “meliponicultura” (Cauch et al, 2015).

Sobre el propóleo de *Apis mellifera* autores como Primon de Barros et. al, (2008) hablan de las propiedades antiulcerosas, otros como Hu, et. al., (2005) hablan de la propiedad antiinflamatoria y algunos más como Herrera, et. el., (2010) evidencian el efecto hepatoprotector.

Las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) se constituyen como uno de los más grandes retos que enfrenta el sistema de salud debido al gran número de casos, su creciente contribución a la mortalidad general, la aparición en edades cada vez más tempranas lo que deriva en una incapacidad prematura, así como su complejidad y costo elevado de tratamiento (Barba, 2018).

Entre estas enfermedades destaca la obesidad, una patología crónica, multicausal, sistémica que de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) es la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser por influencia genética y ambiental. Algunas de sus consecuencias son: dislipidemias, hipertensión, enfermedades coronarias, entre otras patologías (García & Ledezma, 2018).

El enfoque principal de esta investigación son las dislipidemias, trastornos de los lípidos en sangre. Patologías frecuentes en la práctica médica, que acompañan a diversas alteraciones como la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), la gota, el alcoholismo, la insuficiencia renal crónica, el hipotiroidismo, el síndrome metabólico (SM) y el empleo de algunos fármacos (Miguel, 2009).

En pacientes que padecen esta patología, lo indispensable es la modificación del estilo de vida, pero en algunos casos no son suficientes para reducir los niveles de lípidos y por lo tanto el riesgo cardiovascular, por ello es necesario emplear tratamiento farmacológico; este representa un papel importante en la prevención de un evento fatal para el paciente (Secretaría de salud Mexicana, 2013).

El abanico terapéutico farmacológico actual empleado en las hiperlipemias durante la atención primaria comprende fibratos, resinas y estatinas, siendo las estatinas, en un gran número de casos un arma terapéutica imprescindible para el correcto manejo de los pacientes, el propóleo supone un tratamiento más accesible desde un punto de vista económico (Cabré Vila et al, 2001).

Considerando todas las propiedades positivas del propóleo y a las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT) como un problema de salud pública en México y en el mundo, este trabajo representa una opción a la propuesta del propóleo de abejas nativas sin aguijón como un posible tratamiento complementario para algunas de ellas, pero específicamente para dislipidemias.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el estilo de vida de la mayoría de las personas representa un factor de peligro para su salud; la alimentación pobre en nutrientes y alta en calorías sumada a una escasa o nula actividad física desencadenan problemas como obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, dislipidemias entre otros; y las anteriores se convierten en un importante problema que afecta múltiples sectores sociales por lo que se vuelve un tema de salud pública.

Estas patologías presentes pueden ser factores predisponentes para otras enfermedades o fallos sistémicos que podrían desencadenar en la muerte, estos problemas son parte importante del panorama actual ante la pandemia por COVID-19 ya que las personas que padecen alguna de estas enfermedades tiene más probabilidades de complicaciones al presentar el virus.

En este trabajo indagamos particularmente sobre las dislipidemias, las cuales como ya se mencionó suelen ser acompañadas de alguna o varias de las enfermedades antes enlistadas. Algunas de las variantes de dislipidemias como la hiperlipidemia aumenta el riesgo de padecer arterioesclerosis. Por lo tanto, el enfrentarse a una dislipidemia representa un problema de carácter mayor para la vida de cualquier persona (Miguel, 2009).

Particularmente en los últimos años México ha presentado un incremento progresivo en los niveles medios de colesterol y triacilglicéridos plasmáticos, debido a las modificaciones en la forma de vida, como ejemplo puntual tenemos que, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT), revelo cifras en la población entre 20 y 69 años, que indicaban que al menos seis de cada 10 mexicanos tienen alguna forma de dislipidemia; siendo un dato alarmante (Díaz et al, 2018).

Aunque existen en el mercado fármacos para tratar dislipidemias el uso de propóleo de abejas nativas sin aguijón supone un posible tratamiento complementario económico y accesible, así como un impulso a futuras investigaciones e incluso apoyar al crecimiento económico de un sector poco conocido como es la meliponicultura en México.

“La prevención y tratamiento de todas las formas de dislipidemia son tareas fundamentales que evitan o retrasan el desarrollo de arterioesclerosis y de otras complicaciones de los trastornos de los lípidos; estas tareas recaen en todos los profesionales de la salud.” por lo anterior hablar de este tema como Bioquímico o a fin supone una responsabilidad y un área de oportunidad para ayudar a la sociedad (Díaz et al, 2018).

El insistir con la prevención de las dislipidemias y/o un tratamiento temprano, representa un gran esfuerzo, pero mucho menor comparado con el que se genera a partir de las complicaciones clínicas de las dislipidemias. Este trabajo recolectó información que permite la propuesta del propóleo de *Apis mellifera* y *abejas nativas sin aguijón* como posible tratamiento complementario para dislipidemias y sentar bases para ensayos en modelos animales en un futuro (Díaz et al, 2018).

1.3. OBJETIVO GENERAL

Conocer el efecto del propóleo de abejas nativas sin aguijón en dislipidemias a través de la investigación documental, para proponerlo como posible tratamiento complementario.

1.3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Advertir sobre el panorama en México respecto a las dislipidemias y/o enfermedades crónicas.
2. Identificar a las abejas nativas sin aguijón como parte de la riqueza natural de México, además de las abejas *Apis mellifera*
3. Conocer las diferentes características químicas de un propóleo que indiquen un efecto positivo en una dislipidemia.
4. Explicar el efecto del propóleo sobre el perfil lipídico.
5. Conocer los posibles efectos tóxicos del propóleo.

1.4 HIPÓTESIS

El propóleo dada su composición química y presencia de múltiples compuestos bioactivos con efecto antioxidante puede modificar el metabolismo lipídico disminuyendo colesterol total y triacilglicéridos.

CAPITULO 2

2. METODOLOGÍA

En el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica, en dos periodos de finales de enero a marzo y de junio a octubre del 2020, consultando fuentes como: Pubmed, Google scholar, Science Direct, Elservier, Scielo.

Aceptando artículos publicados principalmente en los últimos años, de 2015 a la fecha, la búsqueda se ha realizado principalmente en inglés, con palabras clave: *propolis*, *geopropolis*, *lipids*, *Dyslipidemia*, *propóleo*, *propóleo de abejas nativas*, *dislipidemias*, *dislipidemias en México*, *abejas nativas sin aguijón*, *toxic propoli*, *stingless bee propolis*, *stingless bee propolis in Dyslipidemia*..

Criterios de inclusión y exclusión: se incluyeron aquellos artículos que tocaran el efecto del propóleo en el perfil de lipídico de forma directa o indirecta, los que hablaran de investigación en la toxicidad del propóleo y ensayos clínicos con propóleo todos referentes al perfil lipídicos; incluidos tanto de Apis como de Abejas Nativas sin aguijón.

No se tomaron en cuenta aquellos que no estuvieran disponibles por cuestiones de compra o permisos con los que no se contaran, menores a 2015, con excepción de campos menos explorados como la toxicidad del propóleo o los que tocaran algún punto innovador en la investigación.

CAPÍTULO 3

MARCO TEÓRICO

3. 1 LAS ABEJAS

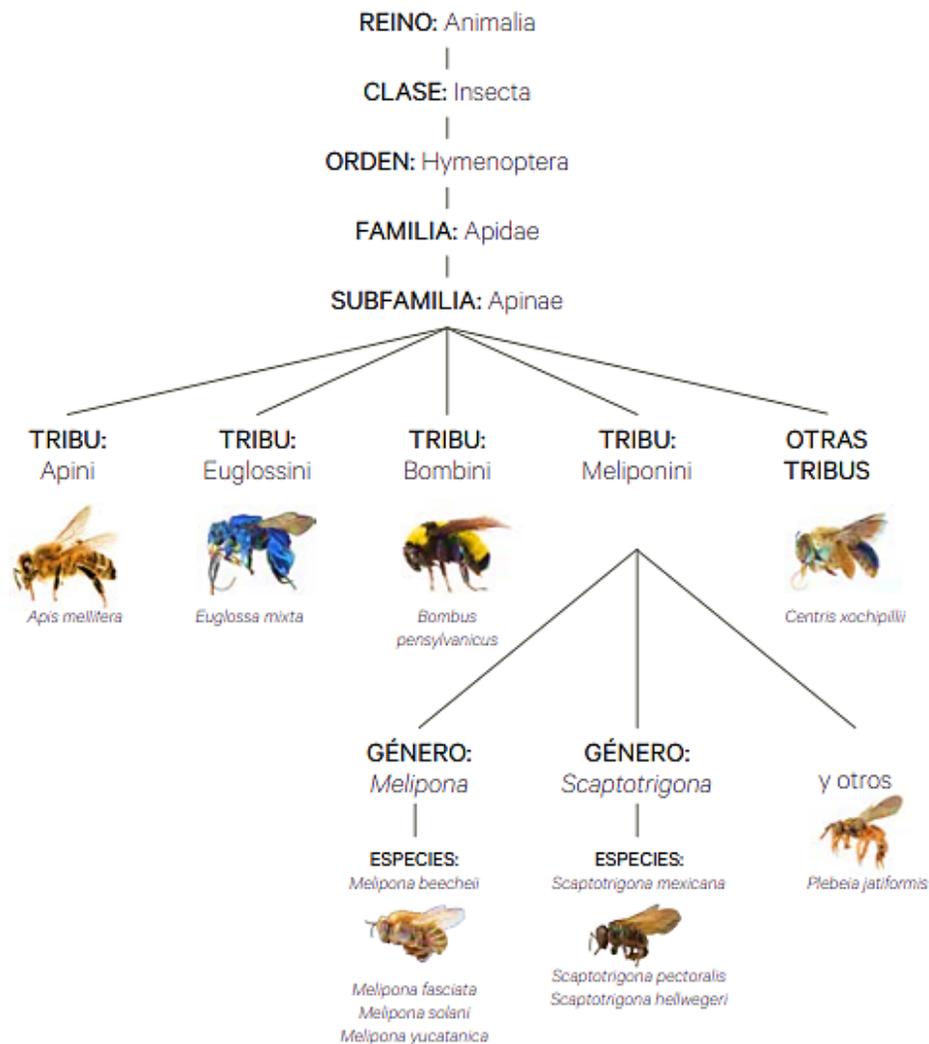
Las abejas son insectos muy importantes desde el punto de vista social, económico y ecológico que proveen de múltiples productos como miel, cera, propóleo, por mencionar algunos; y son el principal insecto polinizador que contribuye significativamente al mantenimiento y desarrollo de la biodiversidad de los ecosistemas, especialmente en la flora silvestre, en la Figura 1 podemos observar a una abeja recolectando polen (Román, 2019).

A partir de ellas nace la apicultura, actividad agropecuaria enfocada en la crianza de abejas, dándoles los cuidados necesarios para obtener los productos que elaboran para ser comercializados. En los últimos años estos productos han tomado gran importancia en la medicina moderna y tradicional al ser utilizados para conservar o recuperar la salud (Instituto Nacional de Economía Social, 2018; Pasupuleti et al, 2017)

Dentro de estos insectos tenemos a la abeja *Apis mellifera* que es la abeja más conocida, sin embargo, existen otras, como se puede observar en la Figura 2, como ejemplo de abejas diferentes a *Apis* tenemos a la abeja nativa sin aguijón que representan un recurso de gran importancia en los trópicos, son “salud ambiental” para los ecosistemas donde habitan y equilibrio al participar activamente en los procesos de polinización de la mayoría de las plantas florales. Además, de ser el soporte de la cadena alimentaria que da sentido al equilibrio de la vida en selvas y bosques tropicales y subtropicales (González, 2012).



Figura 1. Abeja cubierta de polen (Arnold et al., 2018)



Fotos: Jorge Mérida, Humberto Bahena

Figura 2. Clasificación de las abejas (Arnold et al., 2018)

Estas abejas tienen una distribución pantropical, con un mayor número de especies a lo largo del territorio sudamericano, donde está presente la mayor diversidad de insectos. En su interacción con el hombre en nuestro continente, las *abejas nativas sin aguijón* pueden considerarse un equivalente de lo que significa el género *Apis* en los continentes europeo, asiático y africano (González, 2012).

Hasta la fecha se conocen más de 500 especies de *abejas nativas sin aguijón*, de las cuales aproximadamente 40 tienen buen potencial como productoras de miel. Aproximadamente 391 especies se encuentran en la región neotropical de América del Sur, 60 en la región Indo- Malaya de Asia, 50 en la región paleotropical de África y 10 en la región Australasia de Australia (Al-Hatamleh et al, 2020).

Por su alta presencia en nuestro territorio se desarrollaron actividades en torno a ellas, como la meliponicultura que es una actividad cultural, económica y social que las comunidades mayas desarrollaron respecto a las *abejas nativas sin agujón* antes de la llegada de los colonizadores europeos, esto se puede deducir por hallazgos de vestigios arqueológicos en Mesoamérica fechados para el periodo Proto clásico, y que ha pasado de generación en generación (Pat et al, 2018).

México reúne las condiciones ambientales que sustentan su gran potencial néctar-polinífero para el desarrollo de la apicultura y meliponicultura, pero claramente al ser un país grande y de gran diversidad en sus ecosistemas existen regiones que podrían soportar mayor cantidad de colmenas que otras (Becerra & Contreras, 2004).

Actualmente en el país la cría de la abeja nativa sin agujón se da en diferentes regiones, pero su cultivo ha sobrevivido principalmente en la península de Yucatán, la sierra nororiental de Puebla y la región totonaca de Veracruz, donde se crían principalmente la *Melipona beecheii* y *Scaptotrigona mexicana* (Román, 2019).

La meliponicultura en México no solo representa una actividad económica importante, esta también es parte fundamental de la cultura. La cultura Maya en particular encontró en la meliponicultura recursos importantes para su nutrición, curación, comercio e incluso uso religioso; ellos vinculaban la cría de la abeja nativa sin agujón (*Melipona beecheii*), conocida localmente como *ko'olel kaab*, a la tradición religiosa del dios abeja conocido como *Ah Mucen Kaab* (Figura 3), a quien representaron en códices y figuras en templos posclásicos de la península de Yucatán (Pat et al, 2018).



Figura 3. Dios abeja Ah Mucen Kaab (Medellin, 2007).

Los Meliponini, comúnmente llamados meliponinos, están ubicados en los diferentes nichos de esta parte del Neotrópico y responden a exigencias biológicas y adaptativas específicas, y en ocasiones de gran fragilidad. Quizá la riqueza en especies de estas abejas mesoamericanas, y sus condiciones de endemismo en algunos casos, están asociadas a estas variantes ecológicas determinantes y poco flexibles. La fisiografía determina en mucho la distribución de las especies de abejas sin agujón presentes en México (Román, 2019).

En el caso particular de nuestro territorio contamos con 11 géneros y 46 especies de la tribu Meliponini, distribuidos en diferentes regiones. Los géneros que presentan mayor número de especies son *Plebeia* (12 spp), *Trigona* (9 spp), *Melipona* (7 spp) y *Trigonisca* (5 spp); la península de Yucatán dadas sus características climáticas permite la presencia de 17 especies. *Melipona beecheii* es la especie más común en México, Centroamérica y el Caribe, por lo que es frecuentemente utilizada en la meliponicultura por ser de las mejores productoras de miel (Román, 2019).

En las regiones del trópico mexicano, exceptuando la península de Yucatán, la actividad meliponícola se realiza con otros géneros de abeja, principalmente con la *Scaptotrigona mexicana*. En los estados de Puebla, Veracruz y Guerrero, los grupos indígenas desarrollan técnicas de manejo en algunas especies de los géneros *Scaptotrigona*, *Trigona* y *Melipona*; en las Huastecas se trabaja con *Scaptotrigona mexicana*; por otro lado, en Chiapas se reportan 32 de las 46 especies registradas para México, principalmente *Scaptotrigona mexicana* y *Melipona beecheii*; en la Sierra Norte de Puebla la especie que se cultiva de manera tradicional es la *Scaptotrigona mexicana* (Román, 2019).

A continuación, en la Figura 4 se muestran las regiones meliponícolas de nuestro territorio:

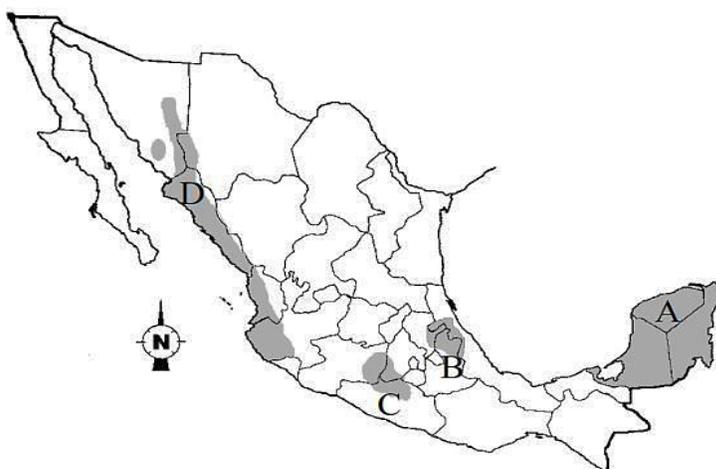


Figura 4. Regiones meliponícolas de México (González, 2012).

A) Península de Yucatán. B) Tierras bajas costeras del Golfo C) La cuenca del Río Balsas D) Tierras bajas de la costa Pacífico

3.2. PROPÓLEOS

De la meliponicultura se obtienen múltiples productos de la colmena con propiedades benéficas, un ejemplo es el caso de la *Trigona* cuyos productos se dividen en aproximadamente 63.7 % producción de propóleo, 20.9 % de pan de abeja y 15.4 % miel, lo que representa una oportunidad de utilizar el propóleo (Al-Hatamleh et al, 2020).

La historia del propóleo nos lleva a conocer que fue utilizado por el hombre como medicina tradicional desde el año 300 a. C., algunos investigadores han hecho referencia a que las actividades curativas del propóleo fueron identificadas por médicos romanos y griegos, así mismo los primeros egipcios lo utilizaron para preservar sus cadáveres de la descomposición y para curar heridas, esta última propiedad incluso fue aprovechada en la segunda guerra mundial (Anjum et al, 2019).

El propóleo fue reconocido como agente antibacteriano durante los siglos XVII y XX en Europa y el primer informe científico sobre el propóleo respecto a su composición y acción química se anunció al público en 1908 (Anjum et al, 2019).

La palabra Propóleo se deriva del griego, donde “*pro*” significa defensa y “*polis*” ciudad o comunidad (Pasupuleti et al, 2017). El propóleo se conoce generalmente como “el pegamento de las abejas”, que es un nombre genérico que se refiere a la sustancia resinosa acumulada por las abejas obreras a partir de diferentes tipos de plantas y árboles, y posteriormente se mezcla con las secreciones salivales y enzimáticas (Anjum et al, 2019; Pasupuleti et al, 2017).

Se ha establecido que el propóleo tiene un origen mixto: interno y externo respecto de las abejas. El origen interno este es un residuo formado a partir de la primera fase de la digestión del polen en un pequeño órgano ubicado entre el saco polínico y el intestino. Se habla de su doble origen ya que depende tanto de la abeja como de la floración circundante a la colmena. Existen dos teorías que hablan de la obtención del propóleo: La primera (**teoría de Rosh**) la cual indica que las abejas de más de 15 días de edad son las que lo recolectan tomando partículas resinosas de las yemas de los árboles y luego lo procesan por los movimientos de la mandíbula y la segunda teoría (**Kustenmacher**) explica la formación y origen como resultado de la digestión de los granos de polen (Vázquez, 2010).

El propóleo dentro de la colmena funciona como sellador de agujeros y grietas, en general para la construcción de esta. Las abejas lo utilizan para alisar la superficie interna de la colmena, reteniendo la temperatura interna (35 °C) evitando la intemperie y la invasión de los depredadores; además este endurece la pared y contribuye a un entorno interno aséptico (Pasupuleti et al, 2017).

En general a temperatura ambiente el propóleo es duro y se vuelve suave y pegajoso al calentar, se funde entre 60 y 70 °C, sin embargo, algunos se pueden derretir hasta 100 °C. Así mismo posee un olor agradable, el color que posee varía según el área en la que se

encuentra la colmena y la vegetación alrededor de ella. Se recolecta tanto en zonas templadas como en zonas tropicales (Anjum et al, 2019).

3.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA

El propóleo crudo se compone típicamente de 50 % de resinas vegetales, 30 % de ceras, 10 % de aceites esenciales y aromáticos, 5 % de polen y 5 % de otras sustancias orgánicas. Hasta el año 2000 se identificaron más de 300 componentes químicos pertenecientes a los flavonoides, terpenos y fenólicos. Esta composición química del propóleo es susceptible a la ubicación geográfica, el origen botánico y la especie de abejas (Huang et al, 2014).

También podemos hacer mención del geopropóleo como un tipo de propóleo menos maleable producido por algunas especies de abejas nativas sin aguijón como *Melipona fasciculata* y *Melipona quadrisfasciata anthidioides*, que se encuentra mezclado con materiales adicionales como tierra o arcilla (Al-Hatamleh et al, 2020).

La presencia de los compuestos fenólicos y flavonoides son muy importantes a nivel terapéutico ya que presentan un efecto sinérgico esencial para su actividad biológica, por lo que estos se consideran un importante parámetro de calidad, por lo anterior las normas de calidad nacionales e internacionales establecen valores mínimos de aceptación, dando por entendido que entre mayor sea su porcentaje, mejor es la calidad del propóleo que estemos utilizando; México cuenta con la NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento como parámetro de calidad en los propóleos de la abeja *Apis mellifera* (Rodríguez et al, 2020).

Los flavonoides son parte fundamental de la calidad del propóleo, por lo que parece relevante hablar un poco más de ellos, estos compuestos están conformados por dos anillos fenilo, A y B, unidos por un anillo C de pirano con grupos funcionales adicionales, lo que genera distintos tipos de flavonoides, como son las chalconas, flavononas, flavonas, flavonoles, antocianidinas, entre otros (Rodríguez et al, 2020).

La actividad farmacológica de los flavonoides se debe principalmente a las características estructurales como compuesto triciclo y a la presencia de radicales unidos a sus anillos. En el artículo de Braakhuis publicado en 2020 habla de que el contenido poli fenólico de varias muestras de propóleo varía significativamente, oscilando entre 143 y 324 mg equivalentes de ácido gálico/g y entre 206 y 705 mg equivalentes de quercetina/g de extractos etanólico de propóleo (Braakhuis, 2019).

Entre los compuestos que más se destacan en un propóleo se incluye crisina, pinocembrina, apigenina, galanina, kaempferol, quercetina, tectocrisina, pinostrobin, pinobanksina, pinostrobin, entre otros. Otro grupo de importancia son los ácidos aromáticos, entre los que se encuentran con mayor frecuencia el ácido ferúlico, cinámico, cafeico, benzoico, salicílico y p-cumarínico. Respecto al propóleo de abejas nativas los principales

compuestos fenólicos que se han reportado son ácido elágico, ácido gálico, naringenina, ácido p-cumárico, quercetina, aromadendrina, ácido benzoico y ácido anacardico (Przybyłek & Karpiński, 2019, Al-Hatamleh et al, 2020).

Además, el propóleo también incluye otros compuestos como terpineol, alcanfor, geraniol, nerol, farnesol, etc. que son los responsables de su fragancia característica. Por otro lado, en el propóleo también podemos encontrar micro y macroelementos (Mn, Fe, Si, Mg, Zn, Se, Ca, K, Na, Cu) y Vitaminas B1, B2, C y E (Przybyłek & Karpiński, 2019).

En las posteriores figuras podemos observar la estructura de algunos componentes químicos del propóleo:

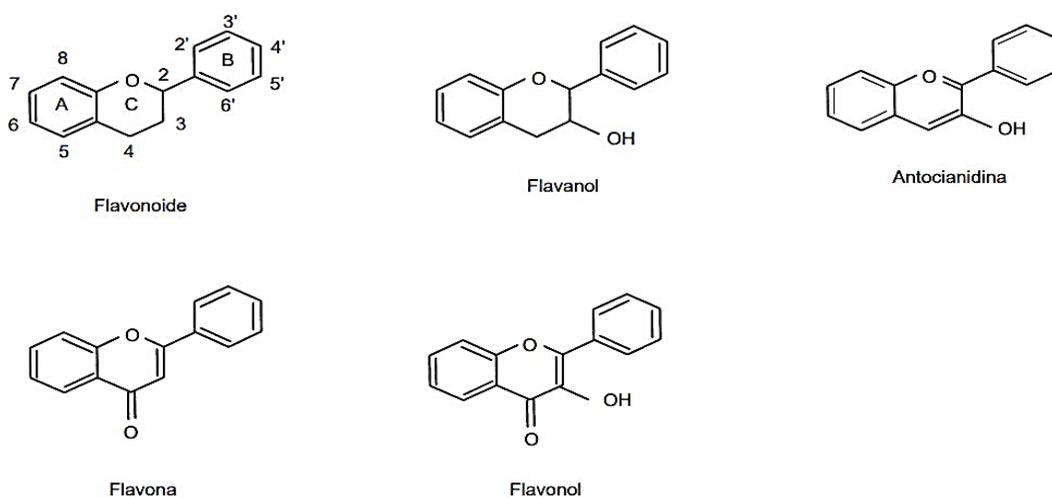


Figura 5. Flavonoides. Estructura básica y tipos (Martínez-Flórez et al, 2002).

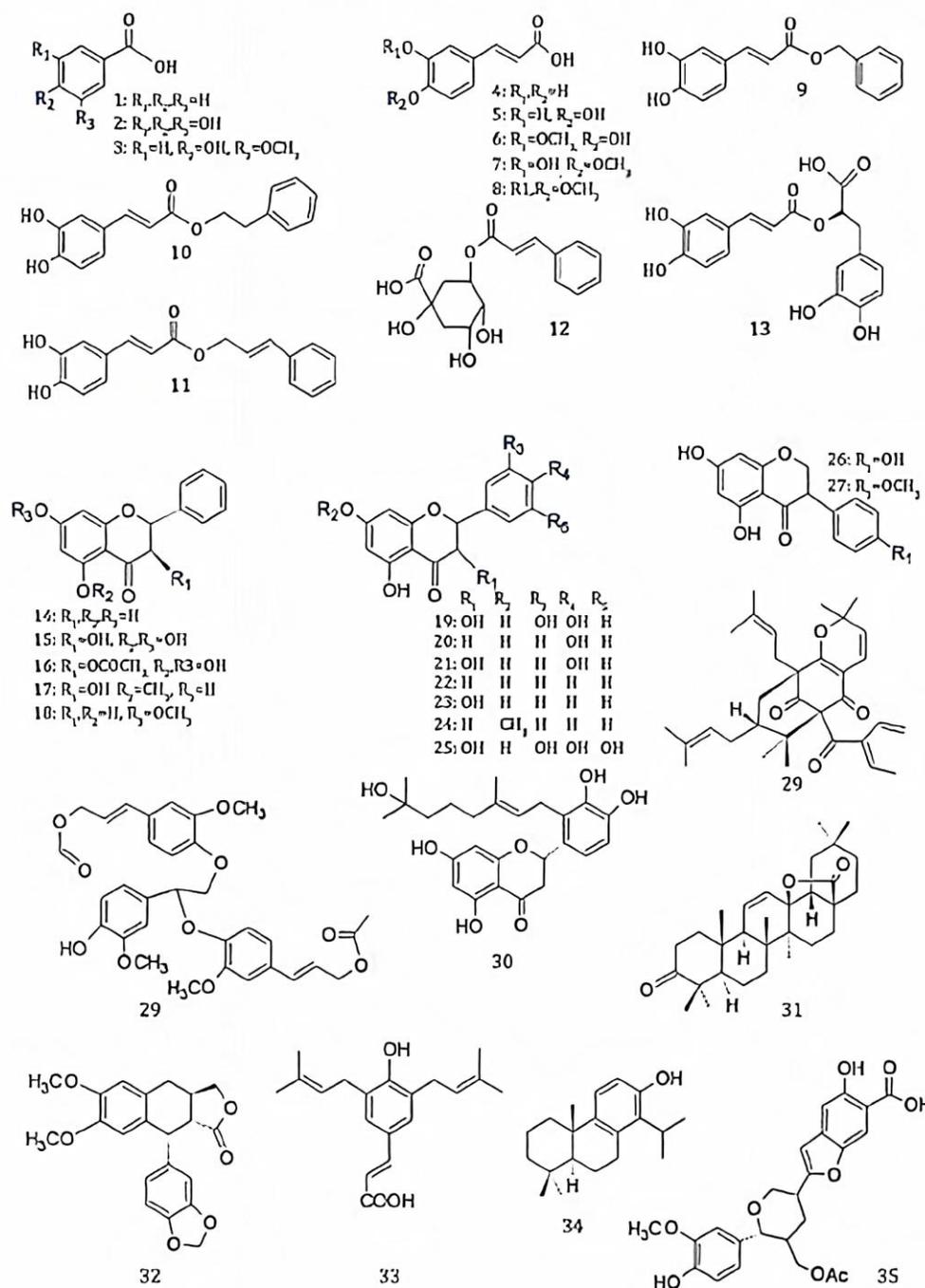


Figura 6. Constituyentes químicos del propóleo con actividad biológica (Salamanca, 2017).

1. Ácido benzoico, 2. Ácido gálico, 3. Ácido vanílico, 4. Ácido cinámico, 5. Ácido p-coumárico, 6. Ácido ferúlico. 7. Ácido isoferúlico, 8. Ácido 3,4-dimetoxicinámico, 9. Bencil cafeato, 10. Fenetil cafeato, 11. Cinamil cafeato, 12. Ácido clorogénico, 13. Ácido rosmarínico, 14. Pinocembrina, 15. Pinobanksina, 16. 3-Acetato de pinobanksina, 17. Pinobanksina 5-metil éter, 18. Pinostrobina, 19. Quercetina, 20. Apigenina, 21. Kaempferol, 22. Crisina, 23. Galagina, 24. Tectocrisina, 25. Miricetina, 26. Genisteina, 27. Biochanina A, 28. Scrobiculatona A, 29. Alcohol acetato coniferil trimérico, 30. Propolin A, 31. Meliferona, 32. Tetrahidrojusticidin B, 33. Artepillin C, 34. Totarol, 35. Propolis-benzofuranosa A.

Como se mencionó existen las variaciones de composición entre propóleos de diferentes regiones como ejemplo en la región templada los componentes característicos son los flavonoides sin sustituyentes del anillo B, como lo son la crisina, galangina, pinocembrina. Otro ejemplo es el propóleo europeo y asiático que contienen ácidos fenólicos simples, mientras que los lignanos son los principales compuestos del propóleo de climas más cálidos (Huang et al, 2014; Braakhuis, 2019)

3.2.2 PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL PROPÓLEO

Debido a la compleja composición del propóleo y sus extractos, hablando de la variedad de compuestos y fitonutrientes que contiene, esto explicaría las numerosas aplicaciones en el tratamiento de diversas patologías debido a sus propiedades ya mencionadas como las antiinflamatorias, antioxidantes, antibacterianas, antimicóticas, antiulcerosas, anticancerígenas e inmunomoduladores. A continuación, se muestran algunos ejemplos (Pasupuleti et al, 2017; Braakhuis, 2019).

- **Actividad antioxidante:** Esta propiedad del propóleo se debe principalmente a los flavonoides presentes, los cuales tienen la capacidad de captar radicales libres. La acción de los flavonoides en este caso se debe a la relación que tienen con el potencial de oxidación-reducción de estos y a la transmisión de electrones de la sustancia, característica aprovechada en infecciones, quemaduras, inflamaciones (Muñoz et al, 2011).

El extracto acuoso de propóleo muestra una mayor actividad en comparación con el extracto etanólico de propóleo, esto se puede deber a su mayor contenido de polifenoles. Además de los flavonoides se debe a componentes como galangina y pinocembrina, la primera mostró más actividad tanto en extracto etanólico como en acuoso (Anjume et al, 2019; Wagh, 2013).

- **Actividad antimicrobiana:** Diferentes extractos etanólicos mostraron una alta actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas pero menor frente a bacterias Gram negativas, el mecanismo es realizado por los flavonoides y compuestos cinámicos presentes, los cuales actúan como alteradores del potencial de membrana de las bacterias, haciendo que este se disipe y que la bacteria pierda la capacidad de sintetizar ATP, inhibiendo su motilidad e impidiendo el desarrollo de infecciones (Wagh, 2013; Muñoz, 2011)

Se ha demostrado que el propóleo es un agente antifúngico contra levaduras patógenas como *C. albicans*, *C. parapsilopsis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*; incluso se ha evaluado su actividad antifúngica frente a *Cryptococcus neoformans* (Cornara et al, 2017; Quintero-Mora et al, 2008; Mateo Aldama et al, 2020)

En cuanto a su actividad antiviral parece asociada a la presencia de CAPE y compuestos relacionados, se ha estudiado su efecto contra virus del herpes simple, enfermedades por el virus de Newcastle, rotavirus bovino, virus de la pseudo rabia; inclusive se ha estudiado la actividad antiviral del propóleo mexicano de *Apis mellifera* contra el virus del moquillo canino (Cornara et al, 2017; González-Burquez et al, 2018)

- **Actividad antiinflamatoria:** El propóleo posee esta capacidad por la presencia de flavonoides activos y derivados del ácido cinámico, los primeros incluyen acetina, quercetina y naringenina e incluidos en el último tenemos al fenil éster del ácido cafeico (CAPE) y el ácido cafeico (Wagh, 2013).
- **Curación de heridas y protección de la piel:** Modelos animales y algunos ensayos clínicos muestran el efecto curativo del propóleo sobre las úlceras del pie diabético y otras lesiones tisulares, esto favorecido por los efectos antioxidante y antiséptico, además de que algunos estudios hablan de un efecto modulador de este en la expresión de fibronectina y la disposición de colágeno I y III en quemaduras (Cornara et al, 2017).

En la siguiente tabla se muestran los principales compuestos químicos relacionados con la actividad biológica de diversos propóleos (Sánchez, 2018; Rodríguez et al, 2020)

Tabla 1. Propiedades y compuestos químicos del propóleo.

Propiedad	Compuesto químico
Antioxidante	Flavonoides, ácido cafeico, fenil éster, pinocembrina, tectocrisina, 2-metoxi-4-vinilfenol, sakuranetina, lupenona, α -amirina, lupeol
Antimicrobiano	Pinocembrina, ácido acético, cafeico, pinocembrina, kaempferol, ácido caféico, ácido benzóico, ácido cafeico, luteolina, quercetina, tectocrisina, borneol, alcohol feniletílico, 2-metoxi-4-vinilfenol, sakuranetina, lupenona, lupeol, escualeno
Anti mutagénica	Ácido ferúlico, cinámico y coumárico
Inhibición de tumores	Ácido cafeico, fenil éster, quercetina y crisina
Anestésico local	Pinocembrina
Antiinflamatorio	Ácido cafeico, tectocrisina, taraxasterol, sakuranetina, lupenona, geranigeraniol, lupeol, cicloartenol,
Hipogluceante	α -amirina
Hipolipemiente	α -amirina

3.2.3 TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS PRESENTES EN EL PROPÓLEO

Parte importante de un proceso de investigación es la muestra y el procedimiento que se realiza para utilizarla, el propóleo crudo no se puede utilizar directamente en los ensayos, primero debe disolver y liberar los ingredientes activos. Se utilizan disolventes como el etanol, metanol, agua, hexano, acetona, diclorometano y cloroformo, destacado a el etanol como el mejor o el más utilizado a nivel comercial (Anjum et al, 2019; Przybyłek & Karpiński, 2019).

El disolvente juega un papel importante en la actividad biológica ya que se han encontrado concentraciones mayores de compuestos fenólicos en extractos etanólico de propóleo marrón, verde y rojo que en extractos obtenidos por extracción supercrítica. En este mismo sentido se compararon los flavonoides e igualmente se obtuvo mayor rendimiento a excepción del propóleo marrón. Como nota adicional el color del propóleo varía dependiendo del lugar de obtención (Przybyłek & Karpiński, 2019).

La aplicación de disolventes de diferente polaridad afecta la composición de los extractos obtenidos ya que los componentes de los productos apícolas poseen estructuras diversas, mientras que los hidrófilos son mejor solubles en disolventes polares como los alcoholes, los que tienen propiedades hidrófobas exhiben mayor afinidad por disolventes no polares, las propiedades del extracto dependen en gran medida no sólo del disolvente utilizado sino también de las condiciones de extracción, es decir, del tiempo y temperatura (Kocot et al, 2018).

A pesar de las numerosas diferencias en su composición, el extracto de propóleo siempre posee propiedades antioxidantes, incluso los extractos acuosos muestran capacidad antioxidante (Kocot et al, 2018).

Otros métodos de extracción que han sido propuesto para aumentar la eficiencia de extracción de los componentes bioactivos del propóleo son la extracción asistida por ultrasonidos y microondas y la extracción con fluidos supercríticos (Reis et al, 2019).

Previo a obtener el extracto se debe acondicionar la muestra eliminando impurezas visibles como virutas de madera, restos de abeja, pinturas vegetales y lodo. De acuerdo con la NOM-003-SAG/GAN-2017, propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento; además se recomienda la refrigeración o congelación para favorecer la maceración del producto. Como consideración durante el proceso de extracción las muestras deben de estar en refrigeración y protegidas de la luz cuando no se esté utilizando (Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017; Rodríguez et al, 2020).

Al terminar la limpieza se realizan las pruebas físicas que incluyen color, aroma, sabor y consistencia a temperatura ambiente, la evaluación del color se realiza al observar la muestra en un microscopio estereoscópico visualizando las diferentes tonalidades, pero

tomando en cuenta las predominantes como rojo, amarillo, verde, pardo, negro o variaciones intermedias; el aroma se puede dividir en olor a madera (resinoso) o a cera (balsámico). El sabor varía entre dulce, amargo, picante o insípido; por último, la consistencia se evalúa al tocar la muestra con los dedos describiéndola como maleable o rígida. Subsiguiente a las pruebas físicas son las pruebas químicas las cuales comienzan con preparar el extracto (Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017; Rodríguez et al, 2020).

En México contamos con la NOM-003-SAG/GAN-2017 antes mencionada, y ahí se explica detalladamente el procedimiento de obtención de un extracto etanólico, en resumen: el extracto se prepara mezclando etanol al 70 % con propóleo en una proporción de 1:3 de disolvente, generalmente 50 g de muestra seca y 150 mL de etanol, esta mezcla se somete a ultra sonicación, el producto se filtra al vacío, y el filtrado se concentra utilizando el rotavapor, para su posterior sequedad con una bomba de vacío (Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017; Rodríguez et al, 2020)

Para poder utilizar el propóleo como un posible coadyuvante al tratamiento de problemas lipídicos o en cualquier otro trabajo de investigación, la caracterización es muy importante, así como conocer los niveles de fenoles y flavonoides presentes en el propóleo y la actividad antioxidante que posee la muestra.

Como se mencionó la actividad antioxidante es una de las características más importantes, esta se puede evaluar de forma indirecta con el contenido fenólico total, dónde se puede utilizar el método Folin-Ciocalteu, que es altamente utilizado por su simplicidad y procedimiento estandarizado. Este ensayo mide la capacidad de los compuestos del propóleo con acción antioxidante, para reducir el reactivo de Folin (ácido fosfomolibdico/fosfotungstico) el cual de inicio presenta una coloración amarilla y al reducirse pasa a un color azul, y se puede monitorear el cambio espectrofotométricamente (Sánchez, 2018; Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017).

Otro método es el ensayo del DPPH• (1,1,-difeníl-2-picril-hidrazilo), este es un radical libre estable que tiene un color característico violeta en solución metanólica con un máximo de absorbancia a 517 nm. Cuando el DPPH• reacciona con un sustrato dador de H⁺ (antioxidante) el color va desapareciendo, y esto también se puede monitorear espectrofotométricamente (Sánchez, 2018; Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017).

El ensayo FRAP (ferric reducing/ antioxidante power) se suma a la lista de ensayos disponibles para medir la actividad antioxidante, en este caso se mide la capacidad de reducir la tripiridiltriázina férrica (Fe³⁺) a su forma ferrosa (Fe²⁺) (Ahmed et al, 2017; Sánchez, 2018).

Otro de los componentes a medir son los flavonoides, utilizando procedimientos espectrofotométricos, para medir flavonoides totales es necesario más de un método. Algunos métodos de medición se describen a continuación: las flavonas y flavonoles son

capaces de formar un complejo estable con el cloruro de aluminio produciéndose un corrimiento batocrómico con intensificación de la absorbancia a 425-428 nm, que puede ser cuantificado por el método del cloruro de aluminio. Y la determinación de flavononas y dihidroflavononas, se basa en la capacidad de estos compuestos de reaccionar con el 2,4 dinitrofenilhidrazina para formar 2,4 dinitrofenilhidrazonas, compuestos coloreados, con un máximo de absorbancia de 495 nm (Sánchez, 2018; Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, 2017).

Para conocer la composición de los propóleos de forma más específicas se pueden emplear otras pruebas como la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), la cromatografía de capa fina, la cromatografía de gases, además de técnicas de identificación como la tecnología de resonancia nuclear magnética, cromatografía de gases y espectroscopía de masas (Huang et al, 2014).

Autores como Kocot et al (2018) reportan que el contenido fenólico total de los extractos de propóleo varia de aproximadamente 30 a 200 mg de equivalentes de ácido gálico (GAE)/g de peso seco, y el contenido de flavonoides varia de aproximadamente 30 a 70 mg de equivalentes de quercetina (QE)/g, mientras que la actividad de captación de radicales libres de DPPH oscila entre aproximadamente 20 y 190 $\mu\text{g/mL}$.

3.3 ENFERMEDADES CRÓNICAS NO TRANSMISIBLES EN MÉXICO

Desde principios del siglo XX, México ha tenido cambios importantes en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades, esto asociado a los cambios ambientales, demográficos, económicos, sociales, culturales y los avances en el campo de la atención a la salud que han ido transformando las características del país y han influenciado en el perfil epidemiológico del mismo (Soto-Estrada et al, 2016).

Durante estos años se ha observado un fenómeno que se puede denominar “Transición de riesgo”, ya que en la primera mitad del siglo XX la población estaba expuesta a los riesgos propios de un país con desarrollo social e infraestructura naciente, que se caracteriza por higiene deficiente, problemas de drenaje y esquema de vacunación incompleta; esto cambio con el desarrollo y la urbanización, y como consecuencia se han modificado las formas de vida y surgido riesgos de exposición distintos (Soto-Estrada et al, 2016).

Por ejemplo, el sedentarismo, el estrés, así como patrones alimentarios compuestos por alimentos de alta densidad energética; estos son factores responsables de gran parte de la carga global de la enfermedad, ya que han dado como resultado problemas como la obesidad y otras enfermedades crónico-degenerativas a edades cada vez más tempranas (Soto-Estrada et al, 2016).

Las enfermedades no transmisibles se han convertido en el principal problema de salud pública actual en México y en el mundo, estas enfermedades crónicas no infecciosas progresan lentamente durante largos periodos de tiempo. Estos trastornos son en gran parte prevenibles en cuanto a la mejora del estilo de vida (Moreno-Villares et al, 2019).

Con estos cambios en el estilo de vida existen estimaciones negativas de hacia dónde nos dirigimos en cuestiones de salud pública, una de ellas es que hacia el 2025, la mitad de la población sufrirá alguna enfermedad crónica degenerativa, como el sobrepeso y obesidad, que constituyen el primer paso al síndrome metabólico, las dislipidemias y la hipertensión arterial, además de las complicaciones que se traen consigo; en la Figura 7 se muestran las complicaciones derivadas del sobrepeso y la obesidad (Ruíz et al, 2020).

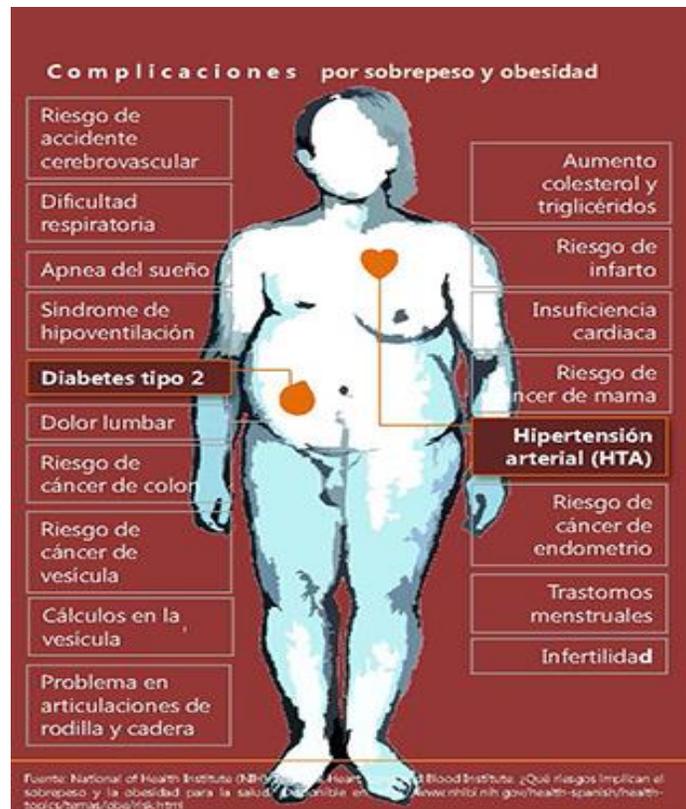


Figura 7. Complicaciones por sobrepeso y obesidad (modificada) (Shamah et al. 2015).

De estas complicaciones podemos destacar la diabetes tipo 2 y la enfermedad coronaria como las principales causas de muerte en la población adulta. De una forma u otra estas enfermedades no transmisibles se entrelazan dando lugar unas a otras (Rivas-Gómez et al, 2018).

Por ejemplo, la obesidad supone un factor metabólico de riesgo para el desarrollo de otras enfermedades no transmisibles, se asocia desde la infancia con un mayor riesgo de alteraciones como el síndrome metabólico, la resistencia a la insulina, la hipertensión arterial, problemas musculoesqueléticos, alteraciones del sueño y diabetes (Moreno-Villares et al, 2019).

En 2012 la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) reportó un incremento de la prevalencia de sobrepeso y obesidad del 33.2 % en el grupo de 12 a 19 años, con mayor frecuencia en el sexo femenino, en el 2016 la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad fue del 36.3 %, con un aumento de 1.4 puntos porcentuales en comparación con 2012, y fue mayor en zonas urbanas que en zonas rurales, pero este último incremento un 2.7 % su prevalencia en comparación con 2012 (Nieto-Zermeño et al, 2018).

Así mismo la mortalidad cardio vascular, es un problema que va en aumento en México, y tiene como factores de riesgo como la diabetes tipo 2, dislipidemias, hipertensión, sobrepeso y obesidad (Rivas-Gómez et al, 2018).

Las dislipidemias representan un problema que desencadena otros aún más graves, son una de las principales determinantes del riesgo cardiovascular; las dislipidemias son enfermedades comunes multifactoriales, los diferentes factores genéticos y ambientales interactúan para determinar los niveles de lípidos plasmáticos de una persona y una población; y evitarlas supone una mejora en la calidad de vida de muchos pacientes (Rivas-Gómez et al, 2018).

3.4 METABOLISMO DE LIPOPROTEÍNAS

Para hablar de problemas metabólicos es necesario hablar del funcionamiento normal del metabolismo, las lipoproteínas son moléculas esenciales (Figura 8) para el transporte de lípidos en forma de triacilglicéridos, fosfolípidos, ésteres de colesterol y colesterol libre, así como vitaminas liposolubles, utilizados como fuentes de energía, síntesis de lípidos para depósito, síntesis de hormonas y sales biliares (Woting & Blaut, 2016).

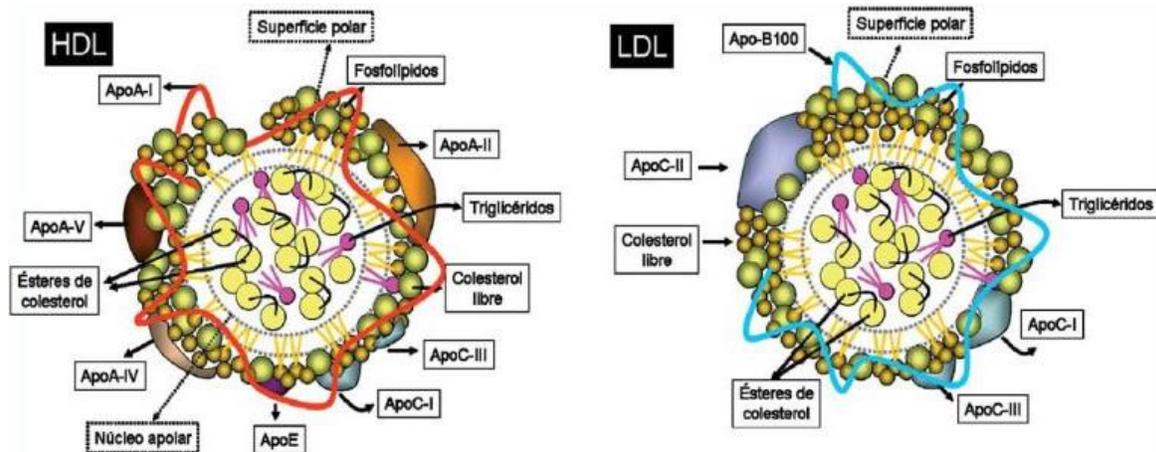


Figura. 8. Esquema grafico de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y de baja densidad (LDL) (Badimón & Padró, 2009).

Principales componentes proteínicos y lipídicos. Apo: apolipoproteína

Existen una gran variedad de lipoproteínas como las VLDL (lipoproteínas de baja densidad), IDL (Lipoproteínas de densidad intermedia), HDL (Lipoproteínas de alta densidad) y LDL (Lipoproteínas de baja densidad); para la captación, transporte y almacenamiento de los lípidos, y se involucran en múltiples procesos metabólicos (Woting & Blaut, 2016).

Al ingerir un alimento, los ácidos biliares se sintetizan en el hígado y se secretan en el intestino delgado donde solubilizan los lípidos de la dieta a través de la formación de micelas. La emulsificación aumenta la superficie de los lípidos y los hace accesibles a las enzimas lipolíticas que no pueden entrar en las gotitas de lípidos. De ese modo, los ácidos biliares promueven la escisión de los lípidos, lo que da como resultado la liberación de 2- monoacilglicerol (MAG) y ácidos grasos libres (AGL), que posteriormente son absorbidos

por los enterocitos mediante difusión pasiva y transportadores específicos (Woting & Blaut, 2016; Klop et al, 2013).

El colesterol es captado por los enterocitos a través del transportador de colesterol específico de la proteína Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1). Una vez en el enterocito, el colesterol se transforma en ésteres de colesterol, mientras que AGL y MAG se ensamblan nuevamente en TG. Finalmente, los ésteres de colesterol y los TG se empaquetan junto con fosfolípidos y apolipoproteína (apo)B48 para formar quilomicrones, posterior al ensamblaje, los quilomicrones se secretan en los linfáticos y finalmente ingresan a la circulación a través del conducto torácico (Klop et al, 2013).

El hígado sintetiza lipoproteínas ricas en TG llamadas lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), que aumentan postprandialmente cuando los TG y AGL derivados de los alimentos llegan al hígado. El ensamblaje de VLDL es bastante similar a la síntesis de quilomicrones con la diferencia de que la apo B100 es la proteína estructural (y sus remanentes, es decir, lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL)) (Klop et al, 2013).

Los quilomicrones y VLDL administran AGL a corazón, músculo esquelético y tejido adiposo para el gasto y almacenamiento de energía. Es necesaria una lipólisis adecuada de las lipoproteínas ricas en TG para que los AGL se liberen en la circulación, este proceso está regulado por varias enzimas y proteínas que actúan como cofactores. En este caso la lipoproteínlipasa (LPL) es la enzima principal para la lipólisis de TG en la circulación y tiene gran expresión en tejidos que requieren grandes cantidades de AGL, como los anteriormente mencionados. LPL sirve como estación de acoplamiento para quilomicrones y VLDL para la adherencia al endotelio a través de la proteína de unión de alta densidad 1 anclada a glicosil- fosfatidinositol (GPIHBP1), ubicada en el lado luminal del endotelio. La cantidad de AGL liberado de quilomicrones y VLDL depende de la actividad de LPL y esta es estimulada por insulina (Klop et al, 2013).

Mientras que de manera contraria las apo C-III son un inhibidor de la LPL, pero también de la lipasa hepática, en sangre las concentraciones plasmáticas de apo C-III se correlacionan positivamente con los TG plasmáticos. Además, los quilomicrones compiten con las VLDL endógenas por acción de las LPL. Los AGL liberados son absorbidos por los adipocitos y resintetizados en TG dentro del citoplasma donde la proteína estimulante de la acilación (ASP)/ vía C3adesArg juegan un papel importante (Klop et al, 2013).

El receptor eliminador CD36 es el transportador de AGL mejor caracterizado, este abunda en músculo, tejido adiposo y el endotelio capilar, la expresión de CD36 se ve aumentada por insulina y las contracciones musculares facilitando así la captación de AGL. El aumento posprandial de insulina es de los mecanismos reguladores más importantes para el almacenamiento de combustible, ya que da como resultado la inhibición eficaz de la lipasa sensible a hormonas, enzima clave para la hidrólisis de los lípidos intracelulares (Klop et al, 2013).

A pesar de la captación de AGL por los adipocitos y los miocitos, una proporción de estos permanece en el comportamiento plasmático donde se unen a la albumina y se transportan al hígado y cuando el suministro de AGL para gasto energético es insuficiente, el tejido adiposo puede movilizarlos para oxidarlo en tejidos que demandan energía, aquí también puede participar la insulina ya que es un importante regulador de la movilización de los AGL de tejido adiposo, y aquí se puede relacionar una patología como lo es la resistencia a la insulina con problemas del perfil lipídico (Klop et al, 2013).

Finalmente, los quilomicrones y las VLDL se encogen de diámetro durante el proceso de lipólisis para formar restos de quilomicrones y LDL denso, respectivamente, los remanentes de quilomicrones son absorbidos por el hígado a través de diferentes vías incluyendo la apo E, la lipasa hepática, el receptor de LDL, entre otros. Mientras que la LDL es captada principalmente por el hígado a través del receptor de LDL, este receptor se recicla y se vuelve a transportar a la superficie celular, sufre una degradación lisosómica durante el proceso de transferencia de la proproteína convertasa subtilisina / kexina tipo 9 (PCSK9). La neutralización de PCSK9 aumenta la capacidad total de unión de LDL de los hepatocitos, lo que conduce a una reducción de las concentraciones de C-LDL (Klop et al, 2013).

Además del metabolismo de TG y LDL, el intestino y el hígado también juegan un papel importante en el transporte inverso de colesterol mediante la síntesis de partículas de HDL, proceso que se retomará más adelante. El metabolismo de los lípidos es dinámico y depende de múltiples factores que, incluidos el estado postprandial, las concentraciones de lipoproteínas ricas en TG, los niveles y la función de HDL, el gasto de energía, los niveles de insulina y la sensibilidad y la función del tejido adiposo (Figura 9) (Klop et al, 2013).

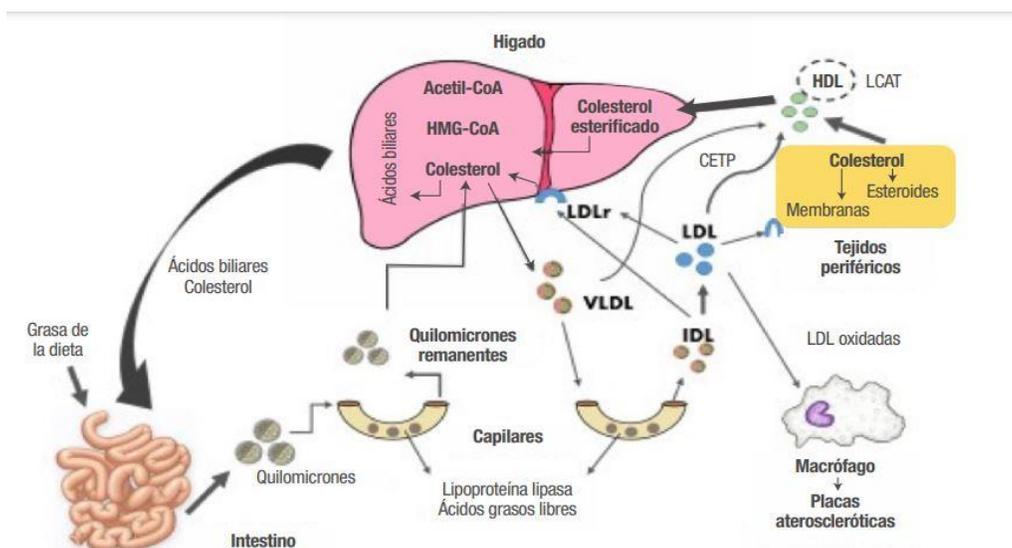


Figura 9. Metabolismo de las lipoproteínas (Aguillón-Osma et al, 2019).

Hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoAR), Receptores de las lipoproteínas de baja densidad (LDLr), Lipoproteínas de baja densidad (LDL), Lipoproteínas de alta densidad (HDL), Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), Lipoproteínas de densidad intermedia (IDL).

3.5 DISLIPIDEMIAS

Cuando existe una alteración en el proceso de síntesis, transporte o metabolismo de las lipoproteínas que altere la concentración plasmática de colesterol total o sus diferentes fracciones transportadoras, así como niveles plasmáticos de triacilglicéridos (TAGs) se utiliza el término dislipidemia. El diagnóstico clínico se basa en los niveles séricos de las lipoproteínas y de sus lípidos o el depósito de ellos en la piel y tendones; y se recomienda evaluar niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol-HD con pruebas de laboratorio (Canalizo-Miranda et al, 2013; Furgione et al, 2009).

3.5.1 EPIDEMIOLOGÍA

Existen informes de la prevalencia de anomalías lipídicas en la población mexicana, donde las encuestas nacionales son la principal fuente de evidencia. México es uno de los pocos países de América que ha actualizado periódicamente la prevalencia de las enfermedades no transmisibles y sus factores de riesgo, y se ha registrado un incremento progresivo de los niveles medios de colesterol plasmático en el periodo de tiempo cubierto por estas encuestas de salud (Rivas-Gómez et al, 2018).

En la primera encuesta nacional, ENEC, realizada en 1993, los niveles medios de colesterol fueron de 182.7 mg/dL, en el segundo (ENSA, 2000) el valor medio aumentó a 197.5 mg/dL y 6 años después en ENSANUT 2006 el nivel medio de colesterol fue de 198.5 mg/dL. La prevalencia de hipercolesterolemia (colesterol ≥ 200 mg/dL) pasó de 27.1 % en 1993 al 43.6 % en 2006 con un aumento grave en el subgrupo más joven de la población, tendencia que también se vio reflejada en el C-LDL ya que cerca de 8 millones de mexicanos fueron candidatos a tratamiento farmacológico para disminuir riesgo cardiovascular por C-LDL (Rivas-Gómez et al, 2018).

Gracias a estas encuestas también se obtienen datos como la anomalía descrita con mayor frecuencia en México que es la hipoalfalipoproteinemia (C- HDL < 40 mg/dl) presente en el 60.5 % de la población mexicana, con mayor prevalencia en hombres; así mismo la hipertrigliceridemia es mayor en México que en Estado Unidos o Europa (Rivas-Gómez et al, 2018).

La hipertrigliceridemia es más frecuente en adultos que viven en áreas metropolitanas o en la región central del país, los hispanos son más susceptibles a presentarla, respecto al género la prevalencia es mayor en hombres y existe un perfil lipídico más aterogénico en individuos de 55 y 64 años (Rivas-Gómez et al, 2018).

La población mexicana tiene una gran diversidad social y étnica por lo que la prevalencia de dislipidemia difiere entre las regiones del país, por ejemplo, las áreas del noreste, especialmente en ciudades industrializadas, tienen prevalencia en enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo incluyendo en esta tendencia a niños y

adolescentes en contraste los estados del sur de México tienen baja prevalencia de hipercolesterolemia (Rivas-Gómez et al, 2018).

3.5.2 CLASIFICACIÓN

Las dislipidemias de forma práctica se distribuyen en dos grupos: primarias o secundarias, donde las primarias responden a mutaciones genéticas y se sospechan cuando se producen en niños o en enfermedades arterioescleróticas prematuras (menores de 60 años). Las secundarias constituyen la mayoría de los casos en adultos, donde la causa más común es el estilo de vida sedentario con ingesta elevada de grasas saturadas y colesterol, además de factores como Diabetes mellitus tipo 2, consumo excesivo de alcohol, insuficiencia renal crónica, hipotiroidismo, cirrosis hepática primaria y algunos fármacos (Miguel, 2009).

Las dislipidemias fueron clasificadas inicialmente por Friedrickson en 1967 en cinco tipos; basándose en el fenotipo lipoproteico encontrado mediante electroforesis o ultra centrifugación (Tabla 2). Sin embargo, esta clasificación en teoría es meramente orientativa, ya que los pacientes podrían no clasificarse dentro de un solo tipo al presentar combinaciones de las alteraciones (Aguirre et al, 2016).

Tabla 2. Dislipidemias: Clasificación de Friedrickson (Aguirre et al, 2016).

Dislipidemia	Características
Tipo I o Quilomicronemia familiar	Hay elevación de quilomicrones por defectos de las lipoproteinlipasa y/o de la Apo-C-II
Tipo IIa o Hipercolesterolemia familiar	Es la forma más frecuente, caracterizada por la elevación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) debido a defectos del receptor de la LDL y/o de la ApoB-100
Tipo IIb o Hiperlipidemia familiar combinada	Existe elevación de la lipoproteína de baja densidad y de la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), esto por un incremento de la producción de VLDL a nivel hepático.
Tipo III o disbetalipoproteinemia	Hay elevación de las lipoproteínas de densidad intermedia debido a una alteración de las ApoE
Tipo IV o Hipertrigliceridemia familiar	Caracterizada por un aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad, debido a la alteración del gen de la ApoA-V
Tipo V o Hipertrigliceridemia endógena	Elevación de las VLDL y quilomicrones, disminución de la acción de la lipoproteinlipasa, por defectos del gen de la ApoA-V y de la Proteína 1 fijadora de lipoproteínas de alta densidad enlazada al glucosilfosfatidilinositol (GPIHBP1)

3.5.3 DIAGNÓSTICO

El diagnóstico clínico de una dislipidemia debe ser considerado en hombres y mujeres a partir de 20 años e independientemente de la edad en las personas con factores heredofamiliares incluyendo la enfermedad coronaria precoz. Los pacientes de los que se sospecha una dislipidemia son aquellos que presentan factores como hipertensión arterial, tabaquismo, diabetes, sedentarismo, consumo de alcohol, obesidad e incluso en personas sin ningún riesgo aparente. El diagnóstico temprano tiene como finalidad evitar un problema cardiovascular futuro (Díaz et al, 2018).

La detección de dislipidemias debe incluir la historia clínica completa y un examen físico integral que registre variables antropométricas de peso, estatura, índice de masa corporal y perímetro abdominal; sin embargo, el diagnóstico preciso de este trastorno se basa en la determinación del perfil de lípidos en sangre: colesterol total, colesterol ligado a las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) y triacilglicéridos. Al obtener los datos anteriores se puede conocer la concentración de C-LDL gracias a una fórmula o realizarse de forma directa según sea los elementos que se tengan disponibles en el laboratorio de análisis clínico (Díaz et al, 2018).

La Norma Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, indica que se debe tener como referencia para el diagnóstico y tratamiento los niveles de C-LDL y su disminución. El estándar de oro para la medición directa de la concentración de C-LDL, es el procedimiento de β -cuantificación (centrifugación-precipitación química) que requiere una ultracentrífuga con la que no se cuenta en la mayor parte de los laboratorios institucionales y privados, por lo cual es acostumbrado utilizar la fórmula de Friedewald para deducir la concentración de C-LDL, asumiendo que las VLDL (very low density lipoprotein-lipoproteína de muy baja densidad) son las principales lipoproteínas ricas en TG presentes en el ayuno prolongado y que en estas el colesterol representa la quinta parte de la masa lipoproteica. Esta estimación es la preferida en muchos casos sin embargo se evita cuando existe hipertrigliceridemia > 400 mg/dL y comienza a perder sensibilidad a partir de TG > 200 mg/dL (Díaz et al, 2018).

Fórmula de Friedewald:

$$C\text{-LDL} = \text{Colesterol Total (CT)} - \text{Colesterol Unido a Proteínas de Alta Densidad (C-HDL)} - (\text{Triacilglicéridos (TG)} / 5)$$

Una vez realizado el diagnóstico de dislipidemia es importante establecer la clasificación y gravedad de esta para tomar una decisión en cuanto a tratamiento. De acuerdo con la NOM- 037-SSA-2002 y su mejora del 2012 los niveles de lípidos en sangre se clasifican de acuerdo con su concentración sanguínea (Tabla 3), además de proporcionarnos una clasificación de las dislipidemias que complementa la información anteriormente mencionada:

Tabla 3. Niveles de concentración sanguínea de lípidos en mg/dL y clasificación de las dislipidemias como enfermedad (Secretaría de salud, 2003).

Clasificación médica de las dislipidemias		
Valores recomendables	CT <200, C-LDL <130, TG <150 y C-HDL <35	
Valores limítrofes	CT 200-239, C-LDL 130-159, TG 150-200	
Hipercolesterolemia	Recomendable	CT mayor 200 TG menor 200 C-LDL igual o mayor a 130
	Leve	CT de 200-239
	Moderada	CT de 240-300
	Severa	CT mayor de 300
Hipertrigliceridemia	TG mayor de 200 CT menor de 200 y C-LDL menor de 130	
Dislipidemia mixta o combinada	CT mayor de 200 TG mayor de 200 C-LDL igual o mayor a 130	
Hipoalfalipoproteinemia	C-HDL menor de 35	

CT: Colesterol total, C-LDL: Colesterol de baja densidad, TG: triacilglicéridos, C-HDL: Colesterol de alta densidad, mg/dL: miligramos/decilitro.

3.5.4 TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO

La base de la prevención y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares consiste en la adopción de un estilo de vida saludable con modificaciones que permitan disminuir las concentraciones de C-LDL y C- no HDL (Díaz et al, 2018).

Respecto a la dieta se sugiere el consumo de patrones de alimentación como la dieta DASH (Dietary Pattern to Stop Hypertension), la dieta mediterránea, o la dieta propuesta por la Asociación Americana del Corazón. Estos patrones alimenticios suelen tener un alto contenido de frutas, verduras, granos enteros, nueces, leguminosas, cereales altos en fibra, productos lácteos bajos en grasas, pescado, carne magra y pollo sin piel. Además, la ingesta de grasas saturadas debe limitarse a < 7 % del consumo calórico del día, < 1 % a las grasas trans, < 200 mg/día de colesterol y disminuir el consumo de azúcares; y evitar hábitos como el consumo de tabaco y alcohol (Aguilar et al, 2020; Canalizo-Miranda et al, 2013).

La actividad física suele ser parte de este tratamiento no farmacológico, definida por la Organización Mundial de la Salud como a cualquier esfuerzo que implique un gasto energético mayor al reposo. Es importante señalar que dicha actividad debe ser monitoreada en todo momento y debe tener especial cuidado en personas con casos de diabetes o hipertensión con más de 10 años de evolución clínica y cuando estén presentes otros factores de riesgo cardiovascular, neuropatía, retinopatía proliferativa o albuminuria (Canalizo-Miranda et al, 2013).

En la práctica clínica, se incluye el grado de adiposidad central determinado por la circunferencia abdominal donde > 94 y > 80 cm representa un riesgo incrementado para

hombres y mujeres respectivamente; cuando existen medidas > 102 en Hombres y > 88 cm en Mujeres es un riesgo sustancialmente incrementado (Aguilar et al, 2020).

La modificación del estilo de vida es indispensable, sin embargo, puede ser insuficiente para lograr el objetivo principal un ajuste en la concentración de lípidos que permita disminuir el riesgo cardiovascular, en este punto es cuando el tratamiento farmacológico de las dislipidemias es requerido para el tratamiento del riesgo cardiovascular; mejorando el perfil de lípidos, retardando el progreso de arterioesclerosis, estabilizando las placas propensas a la ruptura, disminuyendo el riesgo de trombosis arterial y mejorando el pronóstico cardiovascular (Canalizo-Miranda et al, 2013).

3.5.5 TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

El tratamiento farmacológico incluye la administración de fármacos como estatinas, inhibidores de la reabsorción de colesterol como ezetimiba, inhibidores de la proteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 y fibratos (Secretaria de Salud, 2003; Aguilar et al, 2020).

Se recomienda el tratamiento farmacológico en pacientes con riesgo cardiovascular alto, pacientes con riesgo intermedio o bajo con concentración de lípidos más de 10 % arriba del nivel deseado, pacientes con riesgo intermedio o bajo que no alcanzan en 3 meses valores deseables o pacientes que no respondieron a las intervenciones no farmacológicas. En pacientes con síndrome coronario es necesario el inicio inmediato del tratamiento farmacológico con dosis altas de estatinas, siendo la meta terapéutica un C-LDL < 70 mg/dL y una proteína C reactiva de alta sensibilidad < 2 mg/L (Secretaria de Salud, 2003; Aguilar et al, 2020).

El objetivo del tratamiento farmacológico es la mejora de la calidad de vida y la disminución de riesgo cardiovascular, además se debe informar las posibles reacciones adversas y los costos de seguir el tratamiento.

- **Estatinas.**

Son los fármacos más estudiados en la prevención de la enfermedad cardiovascular, revolucionaron el tratamiento de los hipercolesterolemias y permitieron reducir el riesgo coronario y cerebrovascular mejor que otros fármacos hipolipemiantes (Díaz et al, 2018).

Reducen la síntesis de colesterol a nivel hepático por la inhibición competitiva de la enzima hidroximetilglutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA). La reducción de las concentraciones a nivel intracelular del colesterol reduce la expresión del receptor de LDL en la superficie del hepatocito lo cual resulta en un aumento de la extracción del C-LDL de la sangre y secundariamente disminuye las concentraciones de C-LDL circulante y apoB, incluyendo partículas de triacilglicéridos. En la Figura 10 se muestran algunas de las estructuras de las variaciones de las estatinas (Canalizo.Miranda et al, 2013).

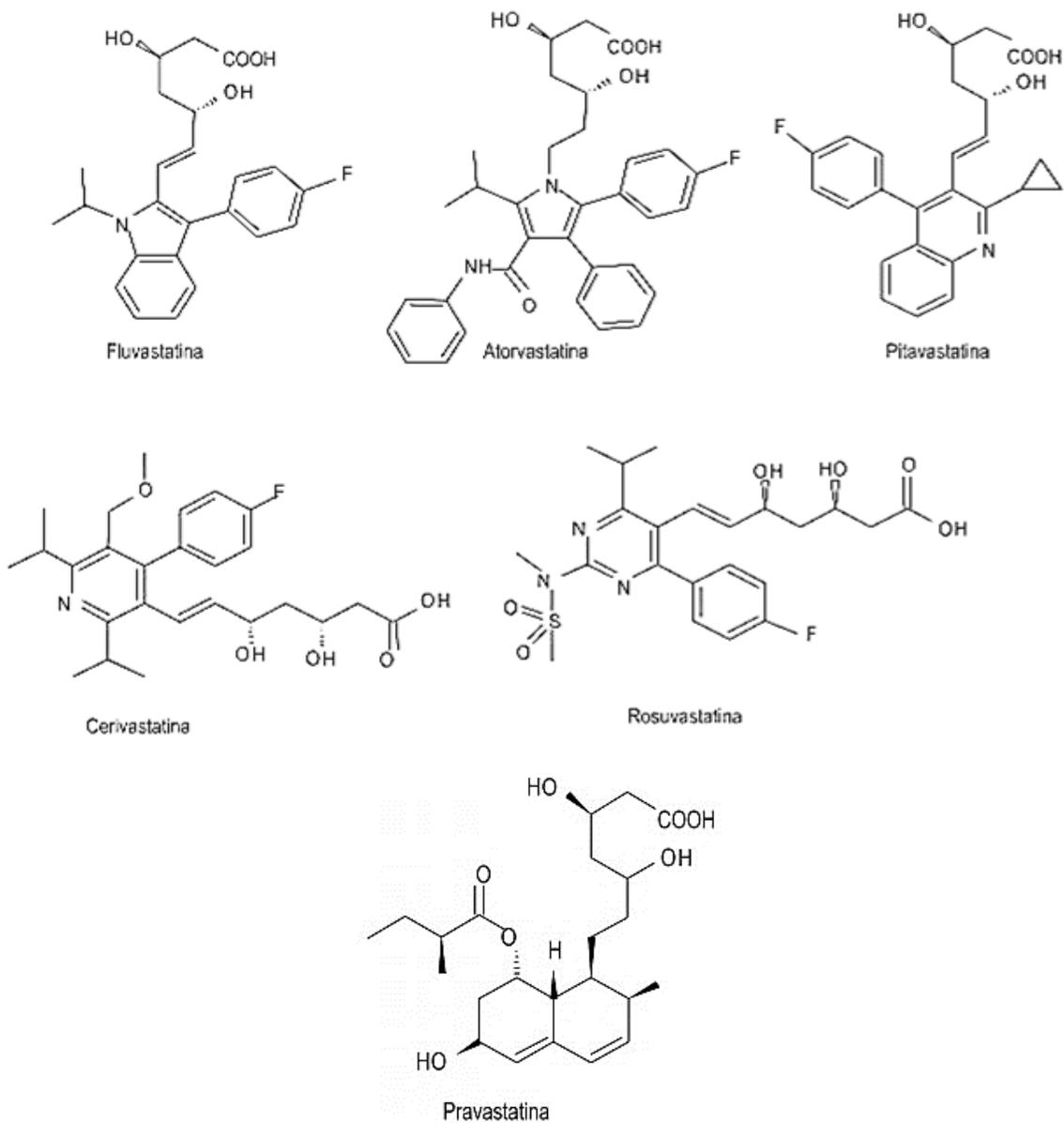


Figura 10. Ejemplo de algunas estructuras de estatinas (Chegwin-Angarita et al, 2012).

- **Inhibidores de la absorción de colesterol (Ezetimiba).**

Inhibe de forma selectiva la absorción intestinal del colesterol dietario y biliar, se utiliza principalmente como adyuvante del al tratamiento con estatinas para pacientes que requieren más reducción en el colesterol LDL. Actúa en el borde en el cepillo de la mucosa del intestino delgado, donde inhibe a la proteína transportadora de esteroides. Al reducir el almacén hepático de colesterol, aumenta de manera concomitante la expresión de los receptores de LDL, lo que hace descender las concentraciones del C-LDL sérico (Figura 11) (Aguilar et al, 2020, Secretaría de salud mexicana, 2013).

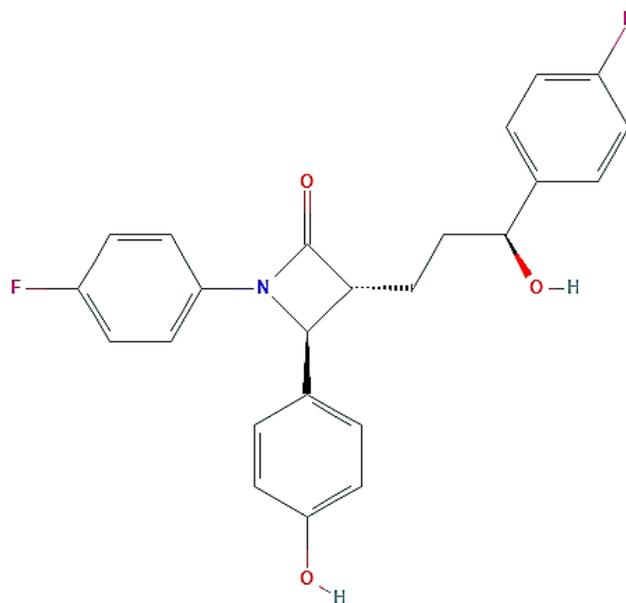


Figura 11. Estructura química de Ezetimiba. (National Center for Biotechnology Information, 2020b)

- **Inhibidores de la proteína convertasa subtilisina/kexina 9 (PCSK9).**

Los inhibidores de la PCSK9 son anticuerpos monoclonales que se unen a la PCSK9 bloqueando el sitio de unión al receptor de LDL. Si la PCSK9 no se une al receptor de LDL, este no se degrada, es reciclado y enviado de nuevo a la superficie celular. El incremento en la depuración del C-LDL es la razón de la disminución de sus concentraciones séricas (Aguilar et al, 2020).

Están indicados en pacientes con hipercolesterolemia familiar heterocigota, pacientes con C-LDL > 130 mg/dL aun cuando cuentan con un tratamiento optimo y pacientes con hipercolesterolemia familiar y cardiopatía isquémica con C-LDL > 70 mg/dL. Sin embargo, el precio tan elevado de los inhibidores en México ha obligado a ser muy cuidadosos en la elección de pacientes para este tipo de terapia (Díaz et al, 2018).

- **Fibratos.**

Son un grupo de fármacos que activan los receptores nucleares PPAR-alfa y la transcripción de distintos lípidos que actúan sobre el metabolismo lipídico, su efecto primordial es disminuir los triacilglicéridos plasmáticos un 20-50 %, con un aumento 10 al 15 % del C-HDL y un efecto poco notable sobre los niveles de C-LDL, y en las figuras 12 y 13 podemos observar dos ejemplos de estructuras químicas de fibratos (Díaz et al, 2018).

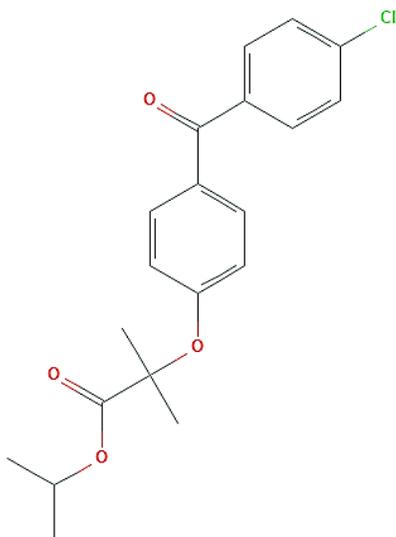


Figura 12. Estructura química fenofibrato. (National Center for Biotechnology Information, 2020c).

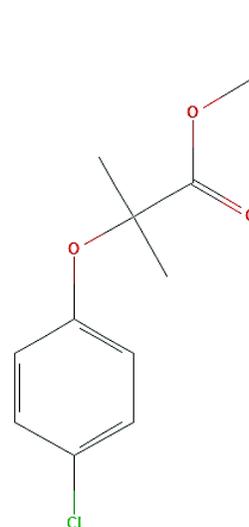


Figura 13. Estructura química de clorofibrato. (National Center for Biotechnology Information, 2020a).

- Secuestrantes de ácidos biliares.

Estas son resinas de intercambio aniónico, utilizados principalmente como coadyuvantes al tratamiento con estatinas. Reducen el colesterol al unirse a los ácidos biliares dentro del intestino, impidiendo la reabsorción de los ácidos biliares y el ciclo enterohepático, aumentando la conversión de colesterol en ácidos biliares y el número de receptores de lipoproteínas de baja densidad hepáticos dando como resultado un mayor aclaramiento y disminución de los niveles de C- LDL (Karr, 2017; Secretaría de salud mexicana, 2013).

- Ácidos omega 3 (EPA o DHA).

Coadyuvantes en el tratamiento de las alteraciones lipídicas, en dosis altas tienen efectos hipolipemiantes, fundamentalmente sobre triacilglicéridos plasmáticos en situación de ayuno como en postprandial. Estos modulan diversos genes relacionados con el metabolismo lipídico e inhiben la síntesis hepática de las VLDL y por lo tanto reducen los niveles de triacilglicéridos (Figura 14) (Díaz et al, 2018).

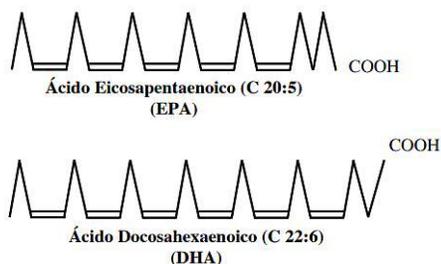


Figura 14. Ácidos grasos. (Modificado de Carrero, 2005)

3.6 RADICALES LIBRES

Los seres humanos necesitan oxígeno (O_2) para la producción de energía, sin embargo, el exceso de oxígeno en las células es nocivo debido a la formación de especies reactivas generadas durante la oxidación. Para contrarrestar el efecto nocivo del oxígeno y derivados la célula cuenta con mecanismos capaces de remover los productos tóxicos del O_2 . Estos mecanismos de defensa son conocidos como sistemas antioxidantes, encargados de mantener el equilibrio de las reacciones de oxidación y supervivencia celular, entre los que se encuentran enzimas y secuestrantes de electrones (Sánchez-Valle & Méndez-Valle, 2018).

Los radicales libres son componentes que contienen en su estructura uno o más electrones no apareados, este es capaz de reaccionar con múltiples biomoléculas a través de la oxidación. Existen dos tipos: Especies reactivas de oxígeno y Especies reactivas de Nitrógeno. Dentro de los oxidantes encontramos a los radicales superóxido (O_2^-), hidroxilo ($OH\cdot$), peroxilo ($ROO\cdot$), alcoxilo ($RO\cdot$) e hidroperoxilo ($HO_2\cdot$). En la Tabla 4 podemos ver algunos ejemplos de estos radicales (Sánchez-Valle & Méndez-Valle, 2018; Mora et al, 2019; Bonamigo et al, 2017).

Tabla 4. Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno generadas en el cuerpo (Aguilar- Paredes et al, 2018; Sánchez-Valle & Méndez Sánchez, 2018).

No radicales	Radicales
Ozono (O_3)	Hidroperoxilo ($H-O-O\cdot$)
Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2)	Alcoxilo ($RO\cdot$)
Ácido hipocloroso ($HOCl$)	Peroxilo ($R-O-O\cdot$)
Ácido hipobromoso ($HOBr$)	Hidroxilo ($\cdot OH$)
	Superóxido (O_2^-)
	Oxígeno singulete (O_2)
Ácido nítrico (HNO_2)	Óxido nítrico ($NO\cdot$)
Catión nitrosil (NO^+)	Dióxido de nitrógeno (NO_2)
Anión nitrosil (NO^-)	Radical nitrato (NO_3)
Tetraóxido di-nitrógeno (NO_2O_4)	
Peroxinitrito ($ONOO$)	
Ácido peroxinitroso ($ONOOH$)	

Los radicales libres pueden ser formados a partir de alguno de los siguientes mecanismos (Mora et al, 2019):

1. Transferencia de electrones, en la que se produce transmisión de un electrón desde una molécula a otra.
2. Pérdida de un electrón en una molécula.
3. Ruptura hemolítica de un enlace covalente de cualquier molécula de manera que cada fragmento resultante conserva un electrón de los apareados en el enlace.

Esto mediante reacciones enzimáticas o no enzimáticas; en las enzimáticas se ven involucradas enzimas como xantina-oxidasa, indolamina dioxigenasa, galactosa oxidasa, ciclooxigenasas, lipoxigenasa, monoamino-oxidasa y NADPH oxidasa; forman especies reactivas de oxígeno debido a la cadena respiratoria celular, síntesis de prostaglandinas, fagocitosis y sistema citocromo P450. Por otro lado, las no enzimáticas sucede cuando el oxígeno reacciona con compuestos inorgánicos o cuando la célula se expone a radiaciones ionizantes (Mora et al, 2019).

La formación de radicales libres suele ser una reacción en cadena, ya que una vez que se forma y logra obtener un electrón de alguna molécula cercana (reducción) para estabilizarse, la molécula que era estable pierde su electrón (oxidación), y ahora se convierte en un radical libre, las fuentes de estos radicales pueden ser intrínsecas como mitocondrias, lisosomas y peroxisomas. Por reacciones de activación celular, inmunológicas, envejecimiento, cáncer, estrés mental, entre otras. O pueden producirse a partir de factores externos como el consumo de alcohol, tabaco o exposición a xenobióticos (Mora et al, 2019).

3.6.1 ESTRÉS OXIDATIVO

En concentraciones bajas los radicales libres juegan un rol importante en la señalización intracelular y la defensa contra patógenos, ya que procesos como fosforilación, activación de factores de transcripción, apoptosis e inmunidad dependen de una producción apropiada y baja de radicales libres, sin embargo, el proceso donde existe un desequilibrio al aumentar el contenido intracelular de radicales libres, haciendo que las defensas antioxidantes de la célula sean incapaces de inhibir el daño que estos generan a los lípidos, DNA y proteínas se llama estrés oxidativo. El estrés oxidativo puede ser capaz de inducir enfermedades crónicas degenerativas, acelerar el proceso de envejecimiento o desarrollo de patologías agudas, patologías como cáncer, diabetes mellitus, alzhéimer, hipertensión o artritis (Mora et al, 2019; Aguilar- Paredes et al, 2018).

3.6.2 ANTIOXIDANTES

A los antioxidantes los podemos definir como cualquier sustancia presente en bajas concentraciones que tiene la capacidad de inhibir o retrasar la oxidación, estos pueden: disminuir la concentración de oxidantes, evitar la iniciación de la reacción en cadena al evitar que se formen los primeros radicales, uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas transformando los peróxidos en productos menos reactivos, deteniendo la propagación y el aumento de los radicales (Aguilar- Paredes et al, 2018; Sánchez-Valle & Méndez-Valle, 2018).

En condiciones fisiológicas el organismo neutraliza los radicales libres mediante distintas reacciones en donde se involucran los antioxidantes, estas son las reacciones REDOX las cuales permiten mantener la homeostasis celular. Existen distintos tipos de antioxidantes:

1. **Endógenos:** depende el tejido en que se encuentran (Mora et al, 2019):
 - Catalasa: Presenta dos funciones: catalítica y per oxidativa, forma parte del sistema catalasa/superóxido dismutasa el cual interactúa cuando existen altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.
 - Superóxido dismutasa: Tiene como cofactores el cobre, zinc, hierro y manganeso, estas enzimas dismutan el oxígeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido.
 - Glutación peroxidasa: Enzima dependiente de selenio, cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno a lipoperóxido.
2. **Exógenos:** los cuales se oxidan al neutralizar el radical libre conociéndose como molécula suicida (Mora et al, 2019):
 - Alfa tocoferol (Vitamina E): Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres de hidroxilo, captura O₂, neutraliza peróxidos.
 - β carotenos: Neutralizan el oxígeno singlete.
 - Ascorbato (Vitamina C): Neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres del hidroxilo, captura O₂, regenera la forma oxidada de la vitamina E.
 - Flavonoides y licopenos.

3.6.3 PROPÓLEO COMO ANTIOXIDANTE

Una de las características más importantes y mejor descritas de los propóleos es que poseen propiedades antioxidantes, su composición es una fuente de reserva de fenoles, flavonoides y taninos, por lo tanto, ayuda a inhibir el oxígeno singlete y elimina los radicales libres para minimizar el daño molecular de la célula (Sánchez et al, 2018; Ahmed et al, 2017).

Para conocer la actividad antioxidante se emplean biomarcadores de estrés oxidativo e indicadores del daño oxidativo de lípidos y marcadores como el malondialdehído. La estructura química de los componentes del propóleo como lo son polifenoles y los flavonoides son los constituyentes antioxidantes capaces de eliminar radicales libres (Braakhuis, 2019).

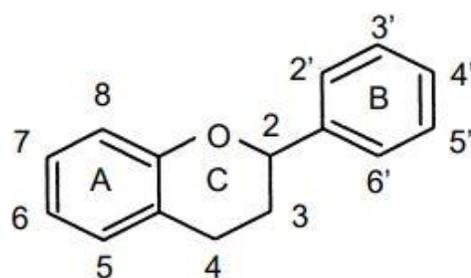
Varios de los compuestos presentes poseen fuerte actividad antioxidante y anti radicales incluidos pinocembrina, crisina y pinobanksina; en las pruebas de DPPH y ORAC, la pinobanksina-3-acetato ha sido indicada como el componente antioxidante más fuerte (Cornara et al, 2017).

La presencia de grupos fenólicos en las moléculas de flavonoides les confiere la actividad antirradical porque los radicales formados durante la captación están estabilizados por la resonancia. Las amirinas se ha informado que exhiben numerosas propiedades beneficiosas incluyendo la propiedad antioxidante. En la investigación científica, se utilizan extractos de propóleos y polen de abeja debido a que contienen mayores cantidades de componentes bioactivos (Kocot et al, 2018).

Como se ha mencionado la capacidad antioxidante de un propóleo depende de su composición, por ejemplo, el propóleo verde brasileño se cree que presenta alta actividad antioxidante gracias a los compuestos fenólicos diferentes de los flavonoides como Ácido 3,4,5-tricafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido 4,5-dicafeoilquínico y artepilina C (Kocot et al, 2018).

Otros compuestos identificados en el propóleo como el ácido cafeico, la epigenina y los triterpenos se describen como importantes bloqueadores de la quinasa oncogénica PAK1, conocida por ser responsable de variedad de padecimientos como enfermedades infecciosas, alzheimer, enfermedad inflamatoria, diabetes, hipertensión, obesidad y cáncer (Bonamigo et al, 2017).

Los polifenoles y flavonoides son componentes importantes que contribuyen a la calidad funcional, el color y el sabor de los productos apícolas y sirven como poderosos antioxidantes debido a la capacidad de donar hidrogeno de sus grupos hidroxilo, así como a su capacidad para donar electrones para detener la producción de radicales como resultado del estrés oxidativo. La estructura química (Figura 15) de los flavonoides es importante para una mayor capacidad antioxidante, ejemplo de ello es la presencia en el anillo B de la estructura catecol u orto-dihidroxi, la presencia de un doble enlace en la posición 2 y 3 del anillo C, y la presencia de un grupo hidroxilo en las posiciones 3 y 5 del anillo A (Ahmed et al, 2017; Rodríguez et al, 2020).



Flavonoide

Figura 15. Estructura básica de los flavonoides (Martínez-Flórez et al, 2002).

Los taninos son otra subclase importante de compuestos fenólicos solubles en agua y exhiben importantes propiedades astringentes, antimicrobianas y antioxidantes (Ahmed et al, 2017).

Otro de los componentes importantes del propóleo es la quercetina, esta es un compuesto fenólico, que posee propiedades antioxidantes lo que le ha dado popularidad en los estudios acerca de esta actividad, esta se manifiesta principalmente a través de su efecto sobre el glutatión, la vía enzimática, las vías de transducción de señales y las especies reactivas de oxígeno, aumenta la capacidad antioxidante al regular los niveles de GSH (Xu et al, 2019).

Al generarse radicales libres de oxígeno en el cuerpo, la superóxido dismutasa (SOD) captura rápidamente O^{2-} y lo transforma en H_2O_2 , esta enzima cataliza aún más la descomposición de H_2O_2 a H_2O esta reacción requiere a GSH como donante de hidrógeno, estudios en animales y células encontraron que la quercetina induce la síntesis de GSH (Xu et al, 2019).

En el propóleo de *abejas nativas sin aguijón* se han identificado altos niveles de flavonoides, ácidos fenólicos y terpenoides que mostraron una actividad antioxidante y antimicrobiana prometedora. Se ha informado de 51 compuestos fenólicos en el propóleo de *Melipona subnitida*, en el propóleo de *M.fasciculate* 11 compuestos en su mayoría ácidos fenólicos y taninos hidrolizables como responsables de actividad antioxidante (Al-Hatamleh et al, 2020).

CAPITULO 4

PROPÓLEO Y DISLIPIDEMIAS

4.1 PROPÓLEO Y DISLIPIDEMIAS EN MODELOS ANIMALES

Se recopiló información de diferentes artículos los cuales hablan del efecto del propóleo en el perfil lipídico, ya sea como objetivo principal de la investigación que realizan o como estudios secundarios o complementarios a la misma.

Según un estudio bibliométrico publicado en 2018 por Senel & Demir sobre la apiterapia, entendiendo este término como el uso médico y aplicación de los productos de abejas, se encontró que Brasil ocupó el primer lugar en publicación de artículos, seguido de Estados Unidos, China, Japón y Turquía; por lo que posicionar a México en este ranking representa una oportunidad dada la diversidad de abejas presentes en el país (Şenel & Demir, 2018).

En los diferentes estudios presentados se destaca el uso de modelos animales, destacando el modelo obesidad inducida por la dieta que imita el efecto de la obesidad humana mejor que el modelo de obesidad genética, la obesidad inducida por dieta trata de administrar una dieta con alto contenido de grasas que conduce a la obesidad, hiperglucemia e hiperlipidemia (Oršolić et al, 2019).

La disponibilidad de modelos animales de obesidad proporciona una herramienta experimental para estudiar esta patogénesis, ya que estos modelos tienen similitud con la patogénesis humana, y presentan hiperfagia, hiperinsulinemia e hiperlipidemia. Además, proporcionan herramientas útiles ya que factores de confusión como la diversidad genética, el género, la dieta y la edad puede afectar en los estudios en humanos, pero aquí pueden ser controlados fácilmente (Martins & Redgrave, 2004).

El primer ejemplo de estudio fue llevado a cabo con extracto etanólico de propóleo nigeriano el cual mejoro la dislipidemia diabética al aumentar los niveles de HDL y disminuir los niveles de VLDL en ratones diabéticos inducidos con una inyección intraperitoneal de aloxano, bajo tratamiento por 42 días (Oladayo, 2016).

El análisis químico reveló que el propóleo se compone de alcaloides en cantidades apreciables, pareciendo estos los más predominantes, y esteroides, glucósidos, saponinas y taninos en cantidades moderadas, flavonoides y flobataninos están en cantidades mínimas, con compuestos fenólicos presentes. Durante la experimentación se manejaron dosis de 200 y 300 mg/kg de propóleo, administrados por vía oral disuelto en Tween 80 (polisorbato 80) en proporción 200 mg de propóleo/1 mL de Tween 80; y los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 5 (Oladayo, 2016).

Tabla 5. Efecto del tratamiento de ratas diabéticas inducidas por aloxano sobre hemoglobina glicosilada, VLDL y HDL reportado por Oladayo (2016).

Grupo	HbA1c (%)	VLDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)
Control	5.01±0.42	26.46±0.88	38.14±0.78
Diabetes sin tratamiento	8.89±1.40 ^{b**}	50.85±1.57 ^{b***}	19.21±1.07 ^{b***}
Diabetes con EENP 200mg/kg	6.76±0.50 ^{a*b*}	45.90±1.64 ^{b***}	41.00±1.51 ^{a***}
Diabetes con EENP 300mg/kg	6.58±0.02 ^{a*b*}	37.36±1.25 ^{a**b***}	33.00±0.73 ^{a***}
Metformina (150 mg/kg)	6.85±0.22 ^{a*b*}	48.53±1.97 ^{b***}	32.55±2.42 ^{a***}

^a Significa diferente de los diabéticos no tratados, ^b Significa diferente del control. * p<0.05, ** p<0.01 y *** P<0.001, EENP: extracto etanólico de propóleo nigeriano, VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad, HDL: Lipoproteínas de alta densidad, HbA1c: Hemoglobina glicosilada.

En los animales diabéticos tratados con propóleo los niveles de VLDL en las ratas del grupo de 200 mg/kg del propóleo no cambiaron de manera significativa en comparación de las ratas sin tratar, mientras que las ratas del grupo de 300 mg/kg tenían niveles de VLDL disminuidos significativamente, en cuanto a los niveles de HDL estos aumentaron significativamente en las ratas del grupo de 200 y 300 mg/kg de propóleo en comparación con el grupo no tratado. Por lo que se podría estimar que a casi cualquier dosis de las utilizadas existe un efecto en HDL, pero se requieren dosis mayores a 300 mg/kg para causar efectos en VLDL. Aun con estos resultados el autor plantea la búsqueda de los componentes específico en la muestra de propóleo que tienen este efecto (Oladayo, 2016).

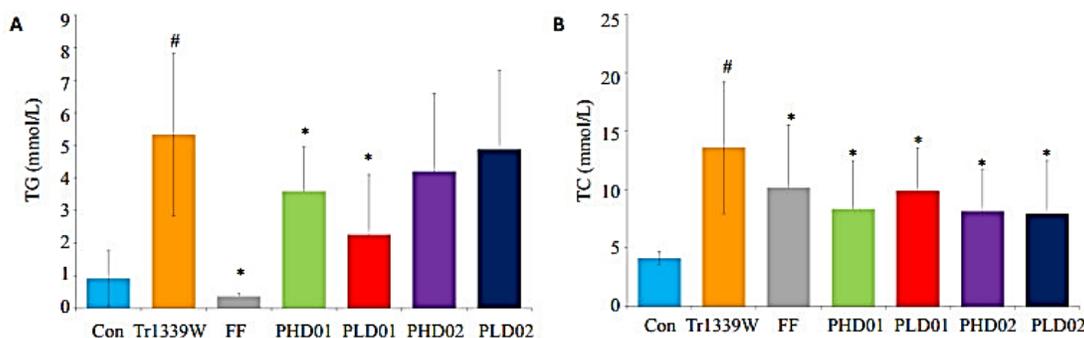
Otro efecto positivo que se logró apreciar fue que la hemoglobina glicosilada se redujo significativamente en los grupos tratados con propóleo, sugiriendo una mejoría de la hiperglucemia comparada con el grupo no tratado, y en ambas dosis de propóleo se observó mejora en la pérdida de peso que acompaña a la diabetes (Oladayo, 2016).

Otro estudio publicado en 2018 mostró que el propóleo redujo los niveles de triacilglicéridos, colesterol total y LDL, y a su vez aumento los niveles de HDL en ratones hiperlipidémicos a causa de Triton-WR1339 (Huang et al, 2018).

En este utilizaron ratones C57BL/6, que es una cepa de ratones de las más utilizadas debido a que su genoma ha sido secuenciado, utilizado en una amplia variedad de áreas de investigación incluidas la biología cardiovascular, diabetes y obesidad e inmunología (Montes, 2018).

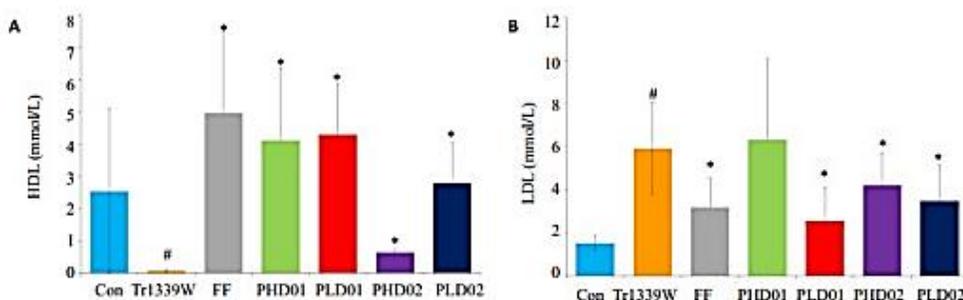
El propóleo se administró por sonda intragástrica en dosis de 30 y 60 mg/kg de dos propóleos diferentes comparando el efecto de propóleo con fenofibrato (30 mg/kg) y la administración duro una semana (Huang et al, 2018).

Figura 16. Efecto del propóleo sobre niveles de TG y TC en ratones hiperlipidémicos inducidos por Triton-1339W reportado por Huang et al (2018).



$P < 0.05$ frente al grupo control * $P < 0.05$ frente al grupo Triton WR1339. FF: Triton WR1339 +fenofibrato, PHD01: Triton WR1339 +Propóleo HB01 alto, PLD01: Triton WR1339 +Propóleo HB01 bajo, PHD02: Triton WR1339 +Propóleo HB02 alto, PLD02: Triton WR1339 +Propóleo HB01 bajo

Figura 17. Efecto del propóleo sobre niveles de HDL y LDL en ratones hiperlipidémicos inducidos por Triton-1339W reportado por Huang et al (2018).



$P < 0.05$ frente al grupo control * $P < 0.05$ frente al grupo Triton WR1339. FF: Triton WR1339 +fenofibrato, PHD01: Triton WR1339 +Propóleo HB01 alto, PLD01: Triton WR1339 +Propóleo HB01 bajo, PHD02: Triton WR1339 +Propóleo HB02 alto, PLD02: Triton WR1339 +Propóleo HB01 bajo

Al inyectar Triton WR-1339, aumentan niveles de AST y la ALT indicando que la hiperlipidemia afecta la actividad de las enzimas hepáticas y daña el hígado, pero el propóleo reduce la actividad de estas, igualmente aumenta la actividad de la SOD y disminuye los niveles de malondihaldehído verificando que el propóleo tiene un papel importante en los lípidos hepáticos por oxidación (Huang et al, 2018).

Así mismo se detectaron los niveles de expresión de los transportadores de lípidos: ABCA1, ABCG8, LDLR y SR-B1 por Western Blot, estos disminuyeron en grupo modelo y aumentaron posterior a la intervención de los propóleos y el fenofibrato, sugiriendo la regulación positiva del propóleo. Por lo tanto, en este artículo se especula que el propóleo puede reducir los lípidos en sangre al aumentar el nivel de expresión de los transportadores de colesterol y promover el transporte inverso del mismo (Huang et al, 2018).

Un tercer estudio publicado por Oršolić et al (2019) propone el uso de extracto etanólico de propóleo (EEP) croata como un complemento alimenticio para ayudar a los trastornos hiperlipidémicos.

El propóleo contenía 152.33 ± 2.59 mg/g de Fenoles totales, 59.99 ± 2.04 mg/g de flavonoides totales y 9.68 ± 0.07 mg/g de ácido fenólicos totales; mediante HPLC detectaron la concentración de polifenoles: quercetina 0.28 %, naringenina 0.63 %, ácido cafeico 1.32 %, galagina 2.12 % y crisina 2.14 % (Oršolić et al, 2019).

Se utilizaron ratones con obesidad inducida mediante una dieta alta en grasas (HFD) cuya fuente principal era aceite de semilla de girasol comestible (0.1 mL/día), la administración de propóleo fue de la siguiente manera HFD, HFD + EEP a una dosis de 50 mg/kg o EEP (50 mg/kg) una vez al día durante 30 días mediante una sola aplicación intragástrica. El EEP fue disuelto en etanol y posteriormente en agua, el grupo control fue administrado con agua y etanol, el volumen total administrado fue 0.2 mL/día; y se recolectó una única muestra de sangre en el día 30 (Oršolić et al, 2019).

Los resultados mostraron que los ratones pertenecientes al grupo de dieta alta en grasas y propóleo tenían niveles más altos de C-HDL en comparación con los ratones solo alimentados con dieta alta en grasas, así mismo presentaban niveles más bajos de TAG y C- LDL; este resultado sugiere que el extracto etanólico de propóleo puede regular eficazmente los TAG y Colesterol en animales con una dieta alta en grasas con posible efecto beneficioso en hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (Oršolić et al, 2019).

Tabla 6. Efecto del tratamiento de propóleo sobre perfil lipídico en ratones alimentados con una dieta alta en grasas reportada por Oršolić et al (2019).

	Tratamientos				
	Parámetros	Control	HFD	HFD+EEP	EEP
Suero	C-HDL (mg/dL)	45.23±3.19	38.94±3.97	42.31±3.49	41.56±2.51
	C- LDL (mg/dL) ²	9.22±0.78	35.11±0.75*, ▼	22.89±0.86*, ▽	3.61±0.44*, ▽, ▼
	TC (mg/dL)	77.79±1.76	112.81±1.85 *, ▼	91.53±1.63*, ▽	63.57±1.68*, ▽, ▼
	TG (mg/dL)	116.66±3.06	193.82±2.87 *, ▼	131.70±2.81*, ▽	91.93±2.05*, ▽, ▼
Hígado	TC (mg/dL)	7.73±0.98	17.92±1.12*	13.43±0.85*	5.15±0.74*, ▽, ▼
	TG (mg/dL)	13.27±2.37	23.74±3.09 *, ▼	18.45±2.99*, ▽	9.69±1.44*, ▽, ▼

Los datos se presentaron como la media \pm DE. Número de ratones por grupo: nueve. 2. Colesterol LDL: $[\text{LDL-c}] = [\text{C}] - [\text{HDL-c}] - [\text{TG} / 5]$ * Significativamente diferente del grupo de control (* $p \leq 0.05$).

▽ Significativamente diferente del grupo HFD ($\nabla p \leq 0.05$). ▼ Significativamente diferente del grupo HFD + EEP ($\blacktriangledown p \leq 0.05$).

C-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad; C-LDL: Colesterol unido a proteína de baja densidad; TH: triacilglicéridos totales, TC: Colesterol total. HFD: Dieta alta en grasas, EEP: Extracto etanólico de propóleo.

Así mismo el EEP aumento los niveles de colesterol HDL en plasma en ratones normolipemicos e hiperlipidemicos, y se sugiere que podría ser mediado por polifenoles/flavonoides presentes en el propóleo. El EEP al aumentar los niveles de HDL invierte el transporte de colesterol al eliminar el exceso de los tejidos periféricos, además de tener la propiedad de reducir los niveles de LDL y la oxidación de estos mediante dos mecanismos antioxidantes diferentes:

- La activación del factor de transcripción NrF2
- La mejora de las enzimas antioxidantes como la hemo oxigenasa-1, enzimas de la detoxificación hepática fase II y enzimas implicadas en el metabolismo de glutatión (Oršolić et al, 2019).

El efecto hipolipidemico del propóleo se vincula específicamente con niveles reducidos de LDL y TG y niveles elevados de HDL, además de evitar la oxidación de C-LDL gracias a su poder antioxidante. También mencionan efectos hiperglucémicos, la mejora de índices aterogénicos, efecto hepatoprotector, mejora en la función renal y reducción de peso (Oršolić et al, 2019).

Los efectos positivos del propóleo son inducidos por sus componentes bioactivos especialmente polifenol/flavonoides como el galato de epigalocatequina, curcumina, resveratrol, quercetina, crisina, proantocianidinas, ácido gálico, ácido romero, isorhamnetina, alcanforol, luteína y pinocembrina (Oršolić et al, 2019).

Una investigación más es la realizada por El Menyiv et al (2019) con propóleo marroquí que nos muestra el efecto positivo del propóleo en el perfil lipídico. El ensayo se llevó a cabo en ratas diabéticas con niveles de glucosa en sangre superiores a 250 mg/dL inducidas con estreptozocina intravenosa de 60 mg/kg.

Las dosis utilizadas fueron 50 y 100 mg/kg de peso corporal de un extracto hidroalcohólico de propóleo, agua destilada y glibenclamida (fármaco estándar de referencia); durante 15 días y las muestras fueron tomadas el día 15 posterior al inicio al tratamiento (El Menyiy et al, 2019).

El contenido de fenoles y flavonoides en el propóleo fue de 87.14 ± 1.71 mg GAE/g de fenoles, 47.92 ± 0.1 mg CE/g de flavonoides, 37.83 ± 1.1 mg QE/g de flavona y flavanol; y la actividad antioxidante total fue de 76 ± 0.9 mg AAE/g. Los diferentes analitos se expresaron en equivalentes de ácido ferúlico, catequina, quercetina y ácido ascórbico respectivamente (El Menyiy et al, 2019).

Tabla 7. Efecto del extracto hidroalcohólico de propóleo y glibenclamida en el perfil lipídico de ratas diabéticas y no diabéticas reportado por El Meniyi et al, 2019.

Grupo	Intervención	Perfil lipídico				
		TG (miligramos/dL)	TC (miligramos/dL)	C-HDL (miligramos/dL)	C-LDL (miligramos/dL)	C-VLDL (miligramos/dL)
Ratas no diabéticas	Agua (control) 10 mL/kg.b.wt	109.3±3.7	95.9±6.6	41.1±2.3	32.7±4.7	21.8±2
	Glibenclamida 2.5 mg/kg.b.wt	108.1±1.8	94±6.1	41.3±1.8	31±3.2	21.6±3.3
	Propolis 50 mg/kg.b.wt	110.7±6.6	94.1±2.7	41.5±1.2	30.4±4.7	22.1±3.2
	Propolis 100 mg/kg.b.wt	107.1±5.5	93.2±4.5	41.6±2.4	30.2±3.9	21.4±3.6
Ratas Diabéticas	Agua (control) 10 mL/kg.b.wt	165±4.5#^	130.2±5.4#^	20.1±2.0#^	77±3.2#^	33±2.8#^
	Glibenclamida 2.5 mg/kg.b.wt	133.8±3.6#^	104.6±8.5#	39.8±1.4#	38±4.2#	26.7±2.5#
	Propolis 50 mg/kg.b.wt	131.1±5.6#^	110.9±4.8#	36.6±1.5#	48±3.7#^	26.2±2.4#
	Propolis 100 mg/kg.b.wt	119.8±6#+	99.8±7.4#	42.0±2.1#	31.5±3.2#+	26.2±2.8#

TG: triacilglicéridos, TC: Colesterol total, HDL: Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, LDL: Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, VLDL: Colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad. +P<0.05 en comparación con glibenclamida y/o extracto de propóleo (50 mg/kg.b.wt); #P<0.05 en comparación con agua (ratas diabéticas); ^P<0.05 en comparación con agua (ratas no diabéticas)

El efecto del propóleo en el perfil lipídico descrito en el artículo durante los 15 días de administración fue: en ratas no diabéticas ni el propóleo ni la glibenclamida provocaron cambios significativos en los niveles de TG, TC (Colesterol total), C-HDL, C-LDL Y C- VLDL comparados con el grupo control; sin embargo, en ratas diabéticas existió un aumento en TC, TG, C-LDL, y C-VLDL, y una reducción en HDL. El propóleo y la glibenclamida aumentaron HDL y disminuyeron los demás analitos. La comparativa de los niveles de TG entre la glibenclamida y la dosis de 100 mg/kg de propóleo mostraron mayor efectividad por parte del propóleo (El Meniyi et al, 2019).

En general se puede apreciar que el propóleo utilizado presentaba un alto contenido de polifenoles y flavonoides, a los cuales se les atribuyen las propiedades biológicas del mismo. Se realizó una comparativa del contenido fenólico total de muestras de propóleo recolectadas en diferentes partes del mundo, y mencionan que el contenido fenólico de este propóleo (marroquí) fue más alto que el contenido del propóleo egipcio, finlandés, chino y tailandés, pero más bajo que el brasileño, el coreano y una muestra diferente de chino (Hebei y Hubei). Esta comparativa ejemplifica que los propóleos dependen de la región, la flora y otros factores (El Meniyi et al, 2019).

Mencionan que los flavonoides totales del propóleo en dosis de 60 a 240 mg/kg de peso corporal disminuyen significativamente los niveles de glucosa en sangre, mejoran la resistencia a insulina y el metabolismo de los lípidos razón por la cual pueden reducir la

enfermedad de arterias coronarias al normalizar los lípidos y prevenir la oxidación de estos, tienen efecto hepatoprotector al normalizar los niveles de enzimas hepáticas y un efecto hipoglucemiante (El Menyiy et al, 2019).

En el artículo publicado por Li et al (2012) y colaboradores se utilizaron ratas con diabetes mellitus tipo 2 y propóleo de *Apis mellifera* encapsulado por la técnica de secado por atomización del extracto etanólico, el propósito de la presentación era mejorar su solubilidad y biodisponibilidad. El propóleo utilizado contenía 93.20 mg/g de flavonoides totales (Li et al, 2012).

La inducción de la DM2 fue realizada con estreptozotocina y una dieta alta en grasas, las dosis manejadas de propóleo fueron 50, 100 y 200 mg/kg, la pioglitazona fue el control positivo. Sus resultados muestran que tanto el propóleo como el fármaco control pueden reducir los TG en las ratas en la cuarta o sexta semana, en todas las dosis los niveles fueron significativamente más bajos comparados con el grupo control modelo ($p < 0.01$, $p < 0.05$), después de 8 semanas de administración los niveles de TG en todos los grupos tratados disminuyeron significativamente comparados con el grupo control modelo y los resultados sobre triglicéridos de este ensayo se muestran en la Tabla 8 (Li et al, 2012).

Tabla 8. Efecto del propóleo encapsulado sobre TG en ratas con DM2 ($X \pm SD$) reportada por Li et al (2012).

Grupo	Dosis administrada	N	Semana 0	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semana 8	Semana 10
Control Normal	1 mL/100 g de agua destilada	12	1.67±0.40	1.89±0.34	1.78±0.38**	1.80±0.27**	1.82±0.39**	2.17±0.37**
Control Modelo	1 mL/100 g de agua destilada	12	1.56±0.34	1.59±0.34	2.89±0.70	2.98±0.58	3.09±0.54	3.08±0.74
Dosis baja de EP	50 mg/kg de propóleo encapsulado	12	1.60±0.42	1.77±0.55	2.27±0.53*	2.10±0.38**	2.15±0.60**	2.32±0.59
Dosis media de EP	100 mg/kg de propóleo encapsulado	12	1.65±0.37	1.79±0.51	2.00±0.26**	1.78±0.46**	1.50±0.45**	1.54±0.59**
Dosis alta de EP	200 mg/kg de propóleo encapsulado	12	1.68±0.44	1.84±0.52	2.43±0.49	2.48±0.47	2.18±0.58**	2.13±0.65**
Control positivo	10 mg/kg de pioglitazona HCL	12	1.75±0.55	1.60±0.36	2.13±0.47**	1.87±0.76**	1.98±0.69**	1.59±0.46**

Posterior a la prueba hoc Turkey: * $P < 0.05$ y ** $P < 0.01$ comparado con el grupo control modelo. EP: Extracto etanólico de Propóleo.

No se encontraron diferencias significativas en TC y C-HDL entre el grupo control modelo y el grupo control normal ($P > .05$), mientras que el nivel de C-LDL en el grupo control modelo fue significativamente más alto que en el grupo control normal ($P < .01$). No hubo diferencias significativas en el nivel de CT, C-HDL y C-LDL entre los grupos tratados con propóleo y el grupo modelo ($P > .05$), y el nivel de C-LDL en el grupo control positivo fue más bajo que el grupo del modelo de control. ($P < .05$) (Tabla 9) (Li et al, 2012)

Tabla 9. Efecto del propóleo encapsulado sobre Colesterol total, C-HDL, C-LDL en ratas con DM2 ($X \pm SD$) reportado por Li et al (2012).

Grupo	Dosis administrada	N	Colesterol Total	C-HDL (mmol/L)	C-LDL
Control Normal	1 ml/100 g de agua destilada	12	1.67±0.40	1.89±0.34	1.78±0.38**
Control Modelo	1 mL/100 g de agua destilada	12	1.56±0.34	1.59±0.34	2.89±0.70
Dosis baja de EP	50 mg/kg de propóleo encapsulado	12	1.60±0.42	1.77±0.55	2.27±0.53*
Dosis media de EP	100 mg/kg de propóleo encapsulado	12	1.65±0.37	1.79±0.51	2.00±0.26**
Dosis alta de EP	200 mg/ kg de propóleo encapsulado	12	1.68±0.44	1.84±0.52	2.43±0.49
Control positivo	10 mg/kg de pioglitazona HCL	12	1.75±0.55	1.60±0.36	2.13±0.47**

Los datos se midieron al final del estudio. * $P < 0.05$ y ** $P < 0.01$ en comparación con el grupo de control del modelo.

Al Ghamdi y colaboradores en 2015 utilizaron ratones diabéticos tratados durante un mes con un extracto de propóleo soluble en etanol (100 mg/kg de peso corporal), la diabetes fue producida por una inyección intraperitoneal de STZ (60 mg/kg de peso corporal) durante 5 días consecutivos y evaluaron el efecto del propóleo en los lípidos plasmáticos. Se acumularon los datos de 10 ratones individuales de cada grupo donde los niveles de C-LDL y colesterol total fueron significativamente más altos en el plasma de los ratones diabéticos que en los ratones de control no diabéticos (*P<0.05), por el contrario, el nivel de C-HDL fue significativamente más bajo en el plasma de los diabéticos que en el de los no diabéticos de control (Al Ghamdi et al, 2015).

Mencionan que la suplementación de propóleo en los ratones diabéticos restauró significativamente los lípidos plasmáticos a niveles casi normales en comparación con el grupo diabético (#P<0.05). Incluso hicieron medición de niveles de MDA (Un marcador de daño lipídico oxidativo importante de los ácidos grasos poliinsaturados peroxidados) fueron significativamente más altos en el plasma de los ratones diabéticos que en el de los ratones no diabéticos de control (*P<0.05) y en la Figura 18 podemos observar una gráfica que nos muestra los resultados (Al Ghamdi et al, 2015).

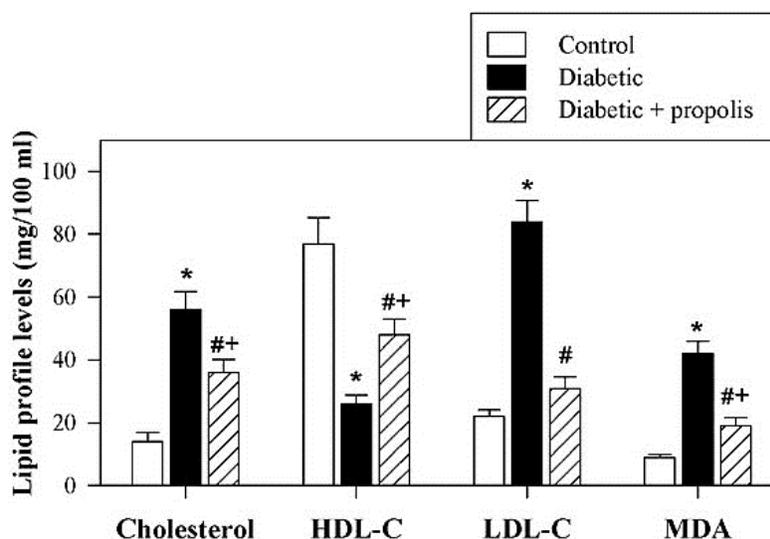


Figura 18. Graficas del efecto del propóleo en el perfil lipídico en ratones reportado por Al Ghamdi y colaboradores (2015).

Los niveles de C-HDL, C-LDL, Colesterol Total y MDA se determinaron en ratones control (barras abiertas), ratones diabéticos (barras negras) y ratones diabéticos suplementados con propóleo (barras rayadas). Los datos agrupados para 10 ratones de cada grupo se expresan como el nivel medio de cada lípido ±SEM. *P<0.05 para diabéticos versus control; # p<0.05 para diabéticos + propóleo versus diabéticos; + p<0.05 para diabéticos + propóleo versus control (ANOVA seguidos de la prueba posterior de Turkey) Colesterol: Colesterol, C-HDL: Colesterol unido a lipoproteína de alta densidad, C-LDL: Colesterol unido a lipoproteína de baja densidad, MDA marcador de daño lipídico oxidativo, SEM: error estándar de la media. (Al, 2015)

Además del efecto positivo del tratamiento en los lípidos sus resultados hablan de una disminución del estrés oxidativo al reducir la peroxidación lipídica y los niveles de ROS libres en sangre; y disminuyó la glucosa en sangre. Mencionan que en un rango de

50- 250 mg/kg de peso corporal de extracto no provoca efectos tóxicos (Al Ghamdi et al, 2015).

Chen y colaboradores en 2018 publicaron el efecto del extracto etanólico de propóleo verde taiwanés en ratas diabéticas inducidas con una dieta alta en grasas y estreptozotocina. En humanos la dosis recomendada de propóleo verde taiwanés es de 1779.51 mg/60 kg/día, y para el cálculo de la dosis en ratas se utilizó una constante de cambio reportada en un informe de la FDA: 6.2, y la dosis fue de 29.66 mg/ kg/día. Las ratas se dividieron en dos grupos con diferentes dosis: 183.9 mg/kg/día y 919.5 mg/kg/día, la administración se realizó por sonda durante 8 semanas.

La composición de este propóleo determinada por HPLC fue principalmente propolina C, D, G, G y H, siendo la propolina C la de mayor valor. Las propolinas C y D son compuestos prenilflavonona nifeol-A y nifeol-B, respectivamente, la propolina F es un compuesto flavonoide prenilado, isoninfeol-B. Las propolinas G y H también son prenilflavanonas que pueden aislarse del propóleo verde taiwanés y del propóleo taiwanés, las propolinas C, D, F y G tienen capacidades anti-radicales y mencionan que en un futuro buscan dilucidar cual es la propolina más efectiva (Chen et al, 2018).

Tabla 10. Efectos del extracto de propóleo verde de Taiwan en los perfiles bioquímicos del suero de la octava semana en ratas tratadas con STZ y una dieta alta en grasas reportado por Chen y colaboradores en 2018.

Parámetro	C	DM	1X	5X
TC	62.4±2.07	85.4±3.91 ^{*,b}	75.7±3.90 ^b	64.0±4.43 ^a
TG	46.0±2.36	132.1±3.06 ^{*,c}	72.9±3.19 ^b	51.2±0.69 ^a
HDL	28.0±0.34	15.3±0.14 ^{*,a}	17.2±0.20 ^b	22.2±0.39 ^c
LDL	4.1±0.15	8.4±0.16 ^{*,c}	7.8±0.30 ^b	5.3±0.19 ^a

C: control, DM: STZ y dieta alta en grasas, 1X: STZ+Dieta alta en grasas con 183.9 mg/kg/ día de extracto de propóleo verde taiwanés, 5X, Dieta alta en grasas y STZ con 919.5 mg/ kg/ día de extracto de propóleo verde taiwanés, TC: colesterol total, TG: triacilglicéridos, HDL: lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Todos los valores son medias ± SEM ($n = 10$ ratas / grupo). * Significativamente diferente del grupo C en $p < 0.05$ según la prueba *t de Student* de una cola. Diferentes letras en superíndice (a, b, c) indican diferencias significativas en $p < 0,05$ según ANOVA de una vía con una prueba post hoc de Duncan (Chen et al, 2018).

En la tabla anterior (Tabla 10) podemos observar el efecto del propóleo en el perfil lipídicos de cada grupo, además de las mediciones anteriores se aisló RNA de los hígados de las ratas y se realizó una PCR cuantitativa en tiempo real para los genes *PPAR- α* , *CYP7A1*, proteína de unión al elemento regulador de esterol (SREBP) y β -actina, este último como control interno, estos genes para analizar el metabolismo de los lípidos hepáticos, los resultado fueron la inducción de *PPAR- α* en el grupo 5X y *CYP7A1* se incrementó en los grupos 1X y 5X. Los niveles del gen de la lipogénesis *SREBP* no fueron significativamente diferentes entre todos los grupos. Sus resultados hablan mayormente del tratamiento como preventivo, y en la figura 19 podemos observar los resultados de forma gráfica. (Chen et al, 2018).

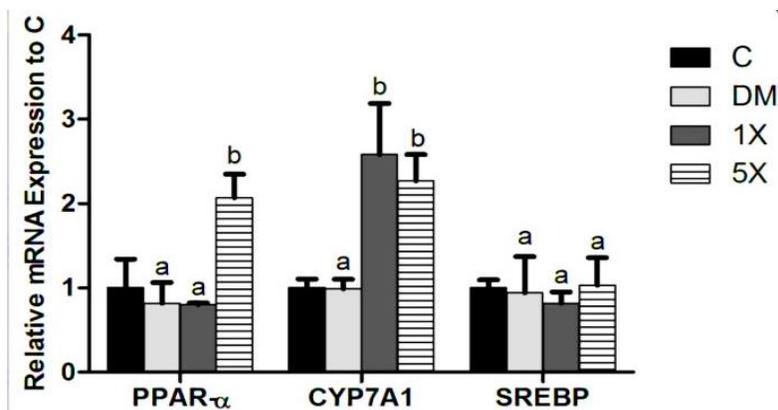


Figura 19. Expresión relativa de genes relacionados con el metabolismo hepático en comparación con el grupo control reportado por Chen y colaboradores en 2018.

C: control, DM: STZ y dieta alta en grasas, 1X: STZ+Dieta alta en grasas con 183.9 mg/kg/ día de extracto de propóleo verde taiwanés, 5X, Dieta alta en grasas y STZ con 919.5 mg/ kg/ día de extracto de propóleo verde taiwanés. Los datos son las medias \pm SEM (n = 10 ratas / grupo). Diferentes letras en superíndice (a, b) indican una diferencia significativa en $p < 0,05$ según ANOVA de una vía con una prueba post hoc de Duncan (Chen et al, 2018).

4.2. PROPÓLEO DE ABEJAS NATIVAS SIN AGUIJÓN Y DISLIPIDEMIAS

Las investigaciones del efecto del propóleo en problemas de dislipidemia tienen mayor enfoque en *Apis spp.* en comparación con el de las *abejas nativas sin aguijón*, sin embargo, en los últimos años ha aumentado la investigación con los propóleos de estas últimas. (Przybyłek & Karpiński, 2019).

Los propóleos de *abejas nativas sin aguijón* también reciben el nombre de geopropóleo, es muy similar en composición y actividad biológica al producido por *Apis spp.* y se han reportado numerosos metabolitos bioactivos potenciales en geopropóleos como lo son fenilpropanoides, flavonoides, galotaninos, elagitaninos, benzofenonas, cumarinas, terpenos y ácido gálico (Dos santos et al, 2017).

Aunque sabemos que las sustancias biológicamente activas predominantes en el propóleo varían de acuerdo con la ubicación geográfica, ejemplo el propóleo brasileño tiene a los ácidos p-cumáricos prenilados como sustancia biológicamente activa, mientras que en el propóleo chino tiene a los ácidos cinámicos, los flavonoides y esteroides los componentes activos predominantes (Oladayo, 2016).

Otro ejemplo es que a pesar de las similitudes la composición química del propóleo de *abejas melífera* de Nueva Zelanda y de la *abeja sin aguijón* australiana, identificaron compuestos que solo estaban presentes en el propóleo de *abeja melífera* como la pinocembrina y galangina; o solo presentes en el propóleo de la *abeja sin aguijón* como el ácido gálico y pimarico (Massaro et al, 2013).

Se cree que los productos de las *abejas nativas sin aguijón* son fuente prometedora de compuestos biológicamente activos superiores a los de las abejas convencionales, esto se le puede atribuir a la rica vegetación de las regiones donde habitan (subtropicales y tropicales). Por lo anterior, es que se busca dedicar más estudios a las *abejas nativas sin aguijón*, existen, pero son pocos comparados con *Apis* y los problemas relacionados a dislipidemias, pero contamos con ejemplos como el estudio publicado por Ahmed y colaboradores en 2017.

Hablan de las propiedades antioxidantes y mecanismo cardioprotector del propóleo de la *abeja nativa sin aguijón* del subgénero *Tetratrigona*, género *Trigona*, recolectado en una localidad de Malasia, mencionan que anteriormente se había reportado que este propóleo contenía fitoquímicos con actividad biológica destacando al ácido hexadecanoico que actúa como antioxidante, el alcohol feniletílico y ácido dodecanoico que actúan como agentes antimicrobianos; y ácido 8-octadecanoico y ácido 9-octadecanoico que sirven como agentes antiinflamatorios (Ahmed et al, 2017).

El ensayo se llevó a cabo en ratas Wistar macho albinas a las que se les indujo isquemia cardíaca con una inyección subcutánea de isoproterenol administrado dos veces en 24 horas por dos días consecutivos, mientras que el propóleo se administró a dosis de 100 mg/kg de peso corporal durante cuatro semanas (periodo del tratamiento) previos al isoproterenol (Ahmed et al, 2017).

El propóleo contenía 15.93 ± 0.18 mg equivalentes de ácido gálico/g de polifenoles totales, 1.65 ± 0.10 mg equivalentes de catequina/g de Flavonoides totales; 5.81 ± 1.65 mg equivalentes de ácido tánico/g de taninos; 0.91 ± 0.02 mg de equivalente de ascorbato/g de ácido ascórbico y el estimado IC₅₀ valor de la actividad de eliminación de DPPH• fue de $1.08 \mu\text{g/mL}$ (Ahmed et al, 2017).

Se midieron los niveles de enzimas antioxidantes como lo son la SOD, la catalasa y la GPx, estas al ser la defensa enzimática antioxidantes juegan un papel de importancia en la neutralización de la lesión tisular por ROS. Estas se encontraban reducidas en las ratas con isoproterenol comparadas con el control, en el grupo con pretratamiento la actividad de las enzimas se vio favorecida y se menciona que sus hallazgos se podrían deber a la potencia de captación directa de radicales libres de los fenólicos en el propóleo (Ahmed et al, 2017).

Como ya se había mencionado es probable que el propóleo restablezca la función de las enzimas antioxidantes mediante la regulación positiva de Nrf2. Los resultados bioquímicos que obtuvieron eran consistentes con los resultados histopatológicos que practicaron (Ahmed et al, 2017).

Se realizó el análisis del perfil lipídico midiendo Colesterol total, TG y C-HDL, se hizo estimación de C-VLDL por la fórmula de Friedewald obteniendo como resultado: un aumento en los niveles circulantes de TC, TG y C-VLDL acompañados de una disminución del nivel de C-HDL en ratas con isoproterenol; el pre tratamiento con propóleo redujo significativamente el nivel de TC, TG y C-VLDL mientras aumenta el nivel de C-HDL,

comparado con los niveles medidos por el grupo con isoproterenol; pero comparado con el grupo control no afecta significativamente (Figura 20) (Ahmed et al, 2017).

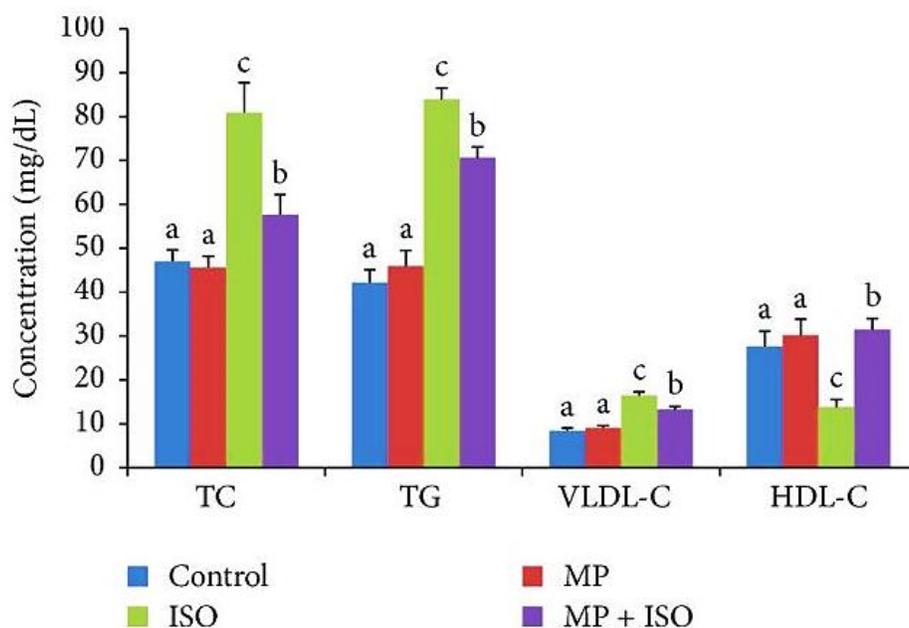


Figura 20. Grafica del efecto del propóleo de *Trigona*, en el perfil lipídico de ratas a las que se les indujo isquemia cardiaca reportado por Amed et al (2017).

Las barras representan medias \pm DE (n = 8); las barras con letras diferentes (a, b, c) indican valores medios significativamente diferentes en $p < 0.05$. MP: Propóleo de Malasia. ISO: isoproterenol.

Este efecto es dado por polifenoles, flavonoides, taninos y el ácido ascórbico presentes, éste último es una pequeña molécula antioxidante que participa en la regeneración de vitamina E, este en combinación con otros antioxidantes se puede utilizar como una fuente natural de antioxidantes, actividad comprobada con el ensayo de DPPH• y FRAP (Ahmed et al, 2017).

Autores como Ferreira (2015) mencionan que existen *abejas nativas sin aguijón* como *Tetragonisca fiebrigi* que es una especie conocida como buena productora de miel y propóleo populares por sus propiedades nutricionales y terapéuticas, sin embargo solo las propiedades antibacterianas y antioxidantes de la miel hasta ese momento han sido descritas en la literatura, lo anterior refuerza que el propóleo de abejas nativas no ha tenido suficiente investigación y todavía en menor cantidad respecto a temas como el efecto en el perfil lipídico.

El propóleo que utilizaron tiene actividad antioxidante una propiedad importante para intervenir en el desarrollo de arterioesclerosis posiblemente dada por su composición de compuestos fenólicos como ácido benzoico, ácido cinámico y ácido p-cumárico (Ferrerira et al, 2015).

4.3 EFECTO DEL PROPÓLEO EN EL PERFIL LIPÍDICO

En los diferentes estudios presentados se habla del efecto positivo del propóleo en el perfil lipídico en animales de laboratorio, los efectos que tiene van desde la disminución de los niveles de triacilglicéridos y colesterol total, aumento de C-HDL, disminución de LDL, y con ello la reducción de la formación de placa arterioesclerótica y actúa como quelante de las sales biliares. Algunas de las explicaciones que se dan en estos estudios se presentan a continuación.

El propóleo mejora la expresión de la proteína de los transportadores de casete de unión a ATP hepáticos A1 y G1 (ABCA1, ABCG1 y ABCG8) y se asocian a la salida de colesterol del tejido periférico. Esto sugiere que el propóleo puede estar involucrado en la formación de partículas HDL lo que conduce a un aumento de estas, junto con un aumento del casete ABCA1 y el transporte inverso del colesterol, además de incrementar a LDLR y SR-B1, los cuales también tienen efecto en este proceso llamado transporte reverso de colesterol (Huang et al, 2018; Mujica et al, 2017; Zakerkish et al, 2019).

Como ejemplo el propóleo rojo brasileño regula al alza la salida de colesterol medida por ApoA-1 por los macrófagos, una acción relacionada con ABCA1 a través de la inducción de PPAR γ /LXR, un importante factor de transcripción de los lípidos (Mujica et al, 2017).

El **mecanismo de transporte reverso de colesterol** es un proceso fisiológico por el cual el colesterol de tejidos periféricos es transportado por lipoproteínas de alta densidad al hígado para su excreción en forma de bilis, este proceso supone la salida de 6-9 mg de colesterol/kg peso corporal/día (Cáceres, 2010).

Es impuesto por la capacidad de las células para degradar el colesterol, por lo tanto, la mayoría de las células tiene delimitada la capacidad para oxidarlo (añadiendo un grupo hidroxilo para incrementar solubilidad y secretar los esteroides derivados al medio), sin embargo, este es un mecanismo minoritario. En el hígado el colesterol y los oxisteroides sufren un mayor grado de oxidación convirtiéndose en ácidos biliares o bien se excretan como bilis que es el medio mayoritario de excreción de colesterol (Cáceres, 2010).

La proteína principal de las HDL, la Apo-AI es sintetizada en hígado e intestino delgado por enterocitos y hepatocitos y por medio del receptor ABCA1 recibe una pequeña cantidad de fosfolípidos y se transforma en apoA-1 pobre en lípidos (HDL naciente). La apoA-I guía la HDL naciente hacia los tejidos extrahepáticos, fundamentalmente a los macrófagos, de los que recibe colesterol libre a través del receptor ABCA1 (HDL naciente con migración pre β 1) (Ponce et al, 2019).

Mediante la acción de la enzima LCAT (Lectina-colesterol aciltransferasa) el colesterol libre se transforma en ésteres de colesterol y así se transforma en HDL maduro esférico (HDL3 y HDL2) que recibe colesterol de los tejidos periféricos a través del receptor SR-B1 o del ABCG1 aumentando su tamaño y su contenido de colesterol esterificado. El transporte reverso de colesterol se completa por dos vías (Ponce et al, 2019):

- a) Captación hepática de C-HDL maduro a través del receptor SR-B1
- b) La PTEC (proteína transportadora de ésteres de colesterol) cataliza la transferencia de colesterol esterificado a las C-LDL, los cuales a su vez serán captados por el hígado a través del receptor LDL.

Finalmente, desde el hígado, el colesterol libre puede verse directamente a la bilis o convertirse en ácidos biliares (por la enzima 7α -hidroxilasa) previamente a que se produzca la excreción biliar en el intestino (Ponce et al, 2019).

En este sentido Chen y colaboradores en 2018, investigaron el efecto del propóleo verde taiwanés en genes importantes del metabolismo de los lípidos en el hígado como *PPAR- α* , *CYP7A1* y *SREBP*. *PPAR- α* (receptor α activado por proliferado de peroxisoma hepático) es un importante regulador del metabolismo de los lípidos en el hígado donde mejora la captación y el catabolismo de los ácidos grasos, la *expresión de PPAR- α* podría disminuir los ácidos grasos en sangre y disminuir las ROS. *CYP7A1* (Colesterol-7^a-hidroxilasa hepática) es otro gen que ayuda en la eliminación de lípidos y puede ser promovido por *PPAR- α* , mejora la conversión de colesterol en ácidos biliares en el hígado y aumentando la excreción de ácido biliar en el tracto digestivo (Chen et al ,2018).

Por otro lado, SREBP (Proteína de unión al elemento regulador de esteroides) participa en la síntesis de ácidos grasos en el hígado, sugirieron que *PPAR- α* y *CYP7A1* son inducidos por bioflavonona y flavonoides en la célula hepática y se justifica en la presencia de estos en el propóleo taiwanés, por lo tanto, esto es un indicio de que el efecto en la hiperlipidemia está asociado a inducciones de *PPAR- α* y *CYP7A1* hepáticos, pero no con las promociones de *SREBP*. Por lo tanto, el lípido extra puede ser absorbido por el hígado y luego eliminado, por lo que se puede considerar a este propóleo como un atenuador del desarrollo y la progresión de Diabetes Mellitus tipo 2 y complicaciones en el perfil lipídico (en su caso particular) al eliminar los lípidos adicionales a través de *PPAR- α* y *CYP7A1* (Chen et al, 2018).

En los estudios se menciona que el EEP aumenta los niveles de HDL mientras reduce el LDL además de tener la propiedad de reducir la oxidación de LDL mediante dos mecanismos diferentes:

I. La activación del factor de transcripción NrF2

NrF2 es un importante factor de transcripción intracelular liberado de su represor (Keap1) bajo estrés oxidativo o xenobiótico; el NrF2 liberado se une al elemento de respuesta antioxidante (ARE) en la región promotora de genes citoprotectores e induce su expresión; los genes transcritos posteriormente inducen la expresión de enzimas captadoras de radicales libres para neutralizar, desintoxicar y eliminar los oxidantes citotóxicos (Ahmed et al, 2017).

- II. La mejora de las enzimas antioxidantes como la hemo oxigenasa-1, enzimas de la detoxificación hepática fase II y enzimas implicadas en el metabolismo de glutatión (Oršolić et al, 2019).

El propóleo puede tener este efecto gracias a la presencia de compuestos como el éster fenilico del ácido cafeico (CAPE) que activa el factor de transcripción de NrF2 y otros más como pinocembrina, ácido p-cumárico, ácido cinámico o la quercetina, esta última aumenta la capacidad antioxidante al regular los niveles de GSH (Glutatión). Al generarse radicales libres de oxígeno en el cuerpo la superóxido dismutasa (SOD) captura rápidamente O_2^- y lo transforma en H_2O_2 , esta enzima cataliza aún más la descomposición de H_2O_2 a H_2O esta reacción requiere a GSH como donante de hidrógeno, estudios en animales y células encontraron que la quercetina induce la síntesis de GSH modulando positivamente la glutatión transferasa y la glutamato-cisteina ligasa (Xu et al, 2019; Degroote et al, 2019; Mujica et al, 2017).

Como ya se ha mencionado las LDL oxidadas pueden verse disminuidas con EEP por su capacidad antioxidante y con ello reducir la inflamación del endotelio de los vasos sanguíneos. Este mecanismo antioxidante podría contribuir al efecto protector contra enfermedades cardiovasculares u otras crónicas relacionadas con el estrés oxidativo como diabetes, enfermedad renal o enfermedades coronarias (Oršolić et al, 2019; Carvajal, 2015).

La mayoría de la oxidación de LDL ocurre en el espacio subendotelial de las arterias donde estas pueden ser retenidas por los proteoglicanos y la concentración de sustancias oxidantes la cual es menor que en el plasma (Carvajal, 2015).

El LDL incluso puede ser oxidado de forma intracelular en los lisosomas de los macrófagos que podrían tener lugar en los sitios de inflamación a causa de la infiltración de macrófagos/monocitos en la pared arterial por efecto de un estado inflamatorio crónico se generan radicales libres y oxidantes no radicales por acción de sistemas enzimáticos como lipooxigenasas, ceruplasmina, mieloperoxidasa, NADPH oxidasa y oxido nítrica sintetasa (Carvajal, 2015).

También se ha informado que la administración de propóleo redujo la actividad de la HMG- CoA reductasa, lo que sugiere que inhibe la síntesis hepática de colesterol. Otro posible mecanismo para reducir el colesterol podría atribuirse a los compuestos resinosos presentes en el propóleo ya que pueden actuar como quelantes de las sales biliares en el intestino aumentando así su eliminación fecal. Esto podría dar como resultado un aumento de la síntesis de sales biliares hepáticas a partir de colesterol para compensar las mayores pérdidas a través de la circulación enterohepática de las sales biliares. La combinación de ambos efectos podría explicar el efecto hipercolesterolémico del propóleo (Lisbona-Gonzales et al, 2020; Mujica et al, 2017; Domínguez-Ávila et al, 2016).

4.4 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DEL PROPÓLEO

Una duda que surge a partir de esta investigación documental es como se lleva a cabo la digestión y el metabolismo del propóleo y sus componentes (farmacodinamia y farmacocinética).

En general al consumir flavonoides solo una pequeña proporción de los ingeridos se absorbe de manera intacta, la velocidad y el grado de absorción tiene una variación en función de múltiples factores entre los que destacan la estructura de la molécula, la matriz en la que se une, la interacción con otros componentes, las diferencias interindividuales de los que lo consumen (edad, sexo, composición de la microbiota colónica) (Rees et al, 2018).

En el caso particular del propóleo al ser tan compleja la matriz que compuesta de lípidos, ceras, resinas, y con gran peso molecular, hace que la biodisponibilidad y la absorción del propóleo se pueda ver afectada, y tener una mala biodisponibilidad de los polifenoles (Braakhuis, 2019).

Los polifenoles en la dieta existen como esteres, polímeros o en formas glicosiladas, autores han propuesto que una vez ingeridos los flavonoides estos atraviesan el estómago y llegan al intestino delgado donde se produce el metabolismo de fase I, tras la absorción en las células epiteliales del intestino delgado los flavonoides se someten a metabolismo de fase II para formar metabolitos conjugados que entran en circulación a través de la vena porta (Rees et al, 2018; Braakhuis, 2019).

Sin embargo, solo un 5-10 % estimado de la ingesta total de los polifenoles se absorbe en el intestino delgado mientras que los flavonoides más grandes restantes continúan en el intestino grueso, donde la microbiota del colon los degrada en metabolitos de bajo peso molecular como ácidos fenólicos para que puedan ser absorbidos, una vez en el torrente sanguíneo los metabolitos se transportan por todo el cuerpo por lo que pueden actuar sobre los tejidos relevantes o se transportan al hígado para su posterior excreción (Rees et al, 2018; Braakhuis, 2019).

La velocidad a la que se excretan los polifenoles en la orina parece variar de individuo a individuo, puede ser por envejecimiento, función renal o las propiedades inherentes del propóleo. Sin embargo, a pesar de los bajos porcentajes de absorción de compuestos fenólicos bioaccesibles en el propóleo, las cantidades recuperadas detectadas en el plasma todavía son elevadas debido a su gran contenido inicial en comparación con otros materiales alimenticios (Braakhuis, 2019).

4.5. EFECTOS ADVERSOS DEL PROPÓLEO

Es necesario considerar el uso a largo plazo del propóleo y los posibles efectos adversos dada la compleja composición química que posee. Mani y colaboradores se plantearon probar el propóleo en concentraciones de 1, 3 y 6 mg/kg/día durante 30, 90 y 150 días; además de hacer la comparativa entre extracto etanólico e hídrico; tras la administración se realizaron pruebas bioquímicas en parámetros relacionados con el daño cardiaco y el perfil lipídico en ratas Wistar macho (Mani et al, 2006).

Las concentraciones finales: peso seco de los extractos fueron de 1266 mg/mL de extracto etanólico y 40 mg/ mL en agua; la muestra de propóleo contenía principalmente compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos aromáticos, benzopiranos), di y triterenos, aceites esenciales entre otros (Mani et al, 2006).

No se observaron cambios significativos para las actividades específicas de LDH y AST, igualmente niveles normales de triglicéridos, colesterol, lípidos totales y C-HDL al probar la variación de 1, 3 y 6 mg/kg/día de extracto etanólico de propóleo por 30 días; el mismo caso en ratas tratadas con 1 mg/kg/día por 30 días y sin presentar diferencia entre extracto etanólico y extracto hídrico (Mani et al, 2006).

Al tener este conocimiento intentaron con extracto etanólico con la variación de 90 y 150 días; y no se mostraron cambios significativos. Por lo tanto, ellos concluyen que el propóleo no causa daño, específicamente cardiaco, dependiente de las concentraciones y tiempos manejados en la investigación; pero no se descartan los informes de reacciones alérgicas los cuales no son infrecuentes. Con esto sugieren que la ingesta de 1 mg/kg/día de extracto etanólico por ingesta diaria por tiempo prolongado no causa alteraciones en las actividades enzimáticas y niveles séricos relacionados con daño cardiaco (Mani et al, 2006).

Bonamigo y colaboradores se plantearon descubrir la actividad citotóxica, toxica y antioxidante de un extracto etanólico de propóleo de *abejas nativas* brasileñas *Scaptotrigona depilis* y *Melipona quadrifasciata*.

Se detectaron fitoesteroles, terpenos, compuestos fenólicos y tocoferol, el extracto de *Scaptotrigona depilis* presento mayor contenido de amirinas (triterpenos) y β -sitosterol (fitoesteroles), mientras que el de *Melipona quadrifasciata* presenta tocoferol, amirinas y epigenina (flavonoide) en mayor cantidad; exclusivo de este extracto fueron estigmasterol, taraxasterol, ácido vanílico, ácido cafeico, quercetina, luteolina y epigenina. Se detectaron por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de gases y HPLC (Bonamigo et al, 2017).

Evaluaron la actividad antioxidante y los resultados mostraron que el extracto de *Melipona quadrifasciata* mostró mejor actividad antioxidante comparado con *Scaptotrigona depilis* hacen énfasis a que esto se puede deber a las diferentes concentraciones de tocoferol, además de las amirinas. Los tocoferoles y los triterpenos son antioxidantes

liposolubles que eliminan los ROS, esto ayuda a comprobar que sus resultados positivos que obtuvieron en los ensayos de inhibición de la peroxidación lipídica (Bonamigo et al, 2017).

Se llevaron a cabo pruebas de actividad citotóxica y muerte celular utilizando la línea celular K562 en medio RPMI 1640 con extracto etanólico de ambos propóleos de 31 a 500 µg/mL de cada extracto. La toxicidad *in vivo* fue probada con la cepa N2 de tipo salvaje del nemátodo *Caenorhabditis elegans* en medio de crecimiento de nemátodos, alimentados con la cepa OP50-1 de *Escherichia coli*, se les agregó extracto etanólico a concentraciones variantes de 100 a 250 µg/mL en medio M9 y después de 24 horas se evaluó la viabilidad de los nemátodos tocándolos con una micro espátula (Bonamigo et al, 2017).

Los bioensayos con animales simples permiten analizar un gran número de muestras en un pequeño volumen y a bajo costo, en este caso *Caenorhabditis elegans* es utilizado desde el año 1974 y su popularidad viene dada por que la mayoría de sus procesos fisiológicos básicos y de respuesta de estrés se encuentran conservados en organismos superiores, incluido el humano (Kronberg et al, 2014).

Respecto al ensayo de actividad citotóxica, esta estuvo presente contra las células eritroleucémicas K562 donde la disminución de la viabilidad celular fue mayor en las células tratadas con extracto de *Melipona*, este efecto puede ser dado por el tocoferol y las amirinas las cuales han mostrado actividad previa. Los extractos presentaron actividad anti hemolítica y actividad protectora frente a la peroxidación lipídica en un ensayo en el que incubaron eritrocitos humanos en presencia de un agente oxidante, por lo tanto, los extractos pueden inhibir el radical peroxilo. A pesar de la actividad citotóxica, ninguno de los dos extractos resulto tóxico para los nemátodos después de 24 horas de incubación en ninguna de las concentraciones que se utilizaron (Bonamigo et al, 2017).

Otro estudio de toxicidad fue llevado a cabo con el propóleo de la abeja sin aguijón *Heterotrigona itama* de la región de Brunei Darussalam en Asia; la variación fue utilizar partículas de propóleo. La evaluación de toxicidad se llevó a cabo con *C. elegans* de la cepa Bristol N2 en etapa L4. La prueba se realizó por triplicado, como control se colocaban los nemátodos en 50 µL de tampón M9 o 50 µL de partículas de propóleo en concentraciones que oscilaban entre 0 y 8 mg/mL en tampón M9, se incubaron a 20 °C por 24 h, al termino se evaluó la viabilidad tocando a los gusanos con micro espátula de platino y microscópico estereoscópico. Los resultados que se obtuvieron secundan el ensayo anterior, al no observar ningún efecto perjudicial sobre la viabilidad de los nematodos, incluso se menciona que el propóleo es capaz de extender la vida útil y la supervivencia de *C. elegans* debido a la presencia del ácido cafeico que inactiva a la quinasa oncogénica PAK1 y protege a *C. elegans* contra la infección por hongos (Abdullah et al, 2019).

Así mismo se menciona que el nivel de efecto adverso no observado (NOAEL) en ratones y ratas es superior a 1470 mg/kg/día a los 60 días y superior a 2470 mg/kg/día a los 90 días. En seres humanos los efectos tóxicos que se pudieran presentar son en dosis de hasta 15 g/día, En ratones conscientes la dosis letal media de extracto de propóleo es más de 7.34 g/kg lo que habla de un producto generalmente seguro; a pesar del perfil favorable el

propóleo es una causa común de hipersensibilidad en lo que respecta a aplicación tópica produciendo hinchazón, dermatitis y urticaria (Cornara et al, 2017; Braakhuis 2019).

Se habla de una dosis segura de 70 mg/día, la dificultad de prescribir una dosis precisa de propóleo se da por la variación de compuestos presentes parámetro afectado por el origen geográfico, que repercute en la bioactividad y complica la dosificación (Braakhuis 2019).

Braakhuis (2019) reporta que de manera individual algunos componentes del propóleo como el CAPE inhiben las vías inducibles de la óxido nítrico sintasa (iNOS) que pueden disminuir la perfusión renal y por lo tanto inducir insuficiencia renal aguda en pacientes de riesgo, siendo el único hallazgo reportado.

4.6 ENSAYOS CLÍNICOS CON PROPÓLEO

Los ejemplos anteriores son investigaciones realizadas en modelos animales y aunque hay evidencia de su uso en la medicina tradicional y los beneficios que tiene existen son pocos los trabajos científicos relacionados con el propóleo y ensayos clínicos referentes a dislipidemia, a continuación, se muestran algunos ejemplos (Mujica et al, 2017).

Como primer ejemplo tenemos un ensayo clínico doble ciego controlado con placebo en pacientes diabéticos (DM2) con duración de 90 días (en septiembre de 2017 y marzo del 2018), los pacientes fueron divididos de forma aleatoria en dos grupos de 50 personas donde un grupo fue tratado con propóleo iraní 1000 mg/día y el segundo con un placebo. Se midió el efecto en el metabolismo de glucosa, perfil lipídico, la resistencia a insulina, función renal y biomarcadores inflamatorios (Zakerkish et al, 2019).

Los pacientes eran iraníes en un rango de edad de 35 a 85 años, en tratamiento con hipoglucemiantes orales posteriormente los pacientes fueron seleccionados con los criterios clasificados en la asociación estadounidense de Diabetes dónde excluyeron a aquellos que presentaban enfermedad renal, disfunción hepática, enfermedad hematológica y enfermedad cardiovascular de tipo grave (Zakerkish et al, 2019).

El propóleo contenía 8.4 % de flavonas y fenoles totales, 4.6 % de flavononas y dihidroflavonoles, y 28 % de compuestos fenólicos totales; fue ingerido en capsulas de 500 mg cada 12 horas acompañados con un vaso de agua previo a ingerir alimentos. La alimentación y el régimen de ejercicio no tuvo diferencias significativas entre ambos grupos; y las muestras de sangre se tomaron en ayunas y posprandial (2 horas posteriores) al inicio y al final del estudio (Zakerkish et al, 2019).

Del total de pacientes únicamente 94 pudieron completar el estudio, los 6 faltantes pertenecientes al grupo placebo quedaron fuera por alteraciones en glucosa o motivos personales así que los grupos quedaron de la siguiente manera 50 pacientes en el grupo de propóleo y 44 en el grupo placebo; los parámetros medidos al principio del proyecto no mostraron diferencias significativas entre los grupos (Zakerkish et al, 2019).

Posterior a los 90 días sus resultados arrojaron que se pudo disminuir significativamente niveles séricos de HbA1C, insulina y glucosa y mejorar la sensibilidad a insulina de los pacientes; respecto al perfil lipídico el propóleo iraní aumento los niveles de C-HDL en los pacientes con DM2 (Zakerkish et al, 2019).

El autor menciona que el aumento se puede deber a que el propóleo puede mejorar la expresión de la proteína hepática de los transportadores del casete de unión a ATP relacionados con la salida de colesterol del tejido periférico y la formación de partículas de HDL, por lo tanto, el aumento brinda protección contra enfermedades cardiovasculares, previene la oxidación de las LDL y neutraliza los efectos aterogénicos en las paredes arteriales (Zakerkish et al, 2019).

Otros resultados positivos fueron la disminución de los niveles de ALT y AST, mantuvo niveles basales de TFGe y redujo significativamente los niveles de BUN (Nitrógeno ureico en sangre); lo anterior indico que se previene el deterioro de la función hepática por el efecto hepatoprotector del propóleo, en la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos en este estudio (Zakerkish et al, 2019).

Tabla 11. Efecto del propóleo iraní en el perfil lipídicos de pacientes con DM2 después de 90 días reportado por Zakerkish et al (2019).

Variables	Propóleo (n=50)		Placebo (n=44)		P-Value ^a
	Antes	Después	Antes	Después	
Triacilglicéridos (mg/dL)	162.8±73.16	174.41±101.91	164.52±121.46	176.74±83.59	0.91
Colesterol total (mg/dL)	149±39.62	156.39±42.98	153±43.91	150.08±38.96	0.488
C-HDL (mg/dL)	44.66±8.69	48.91±9.32 ^b	43.98±10.21	44.21±9.24	0.024
C-LDL (mg/dL)	71.73±29.48	70.59±32.11	75.84±26.2	73.67±28.1	0.646
C-VLDL (mg/él)	31.91±13.81	37.28±20.31	33.36±27.27	32.71±16.62	0.269

^a Comparación del cambio de los valores entre el placebo y el propóleo iraní después de 90 días. ^b p<0.05 para la línea base después de 90 días dentro del grupo. Los datos son la media ± desviación estándar. HDL: Lipoproteínas de alta densidad, LDL: Lipoproteínas de baja densidad, VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

Mujica y colaboradores también tenían interés de conocer el efecto del propóleo en uso clínico y se basaron en estudios previos con modelos animales dónde se encontró que el propóleo previene el aumento de los TAG, así como de C-LDL Y C-VLDL (Mujica et al, 2017).

El ensayo clínico llevado a cabo en Talca, Chile fue aleatorio, doble ciego y controlado con placebo, 85 pacientes presentaron interés y fueron inscritos entre el 19 de marzo y el 26 de mayo del 2014, con seguimiento del 29 de mayo al 11 de septiembre del mismo año. Los criterios de inclusión fueron rango de edad de 18 a 69 años con al menos un parámetro alterado: glucemia en ayunas, perfil de lípidos, presión arterial, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular y/o sobrepeso (Mujica et al, 2017).

Excluyendo a aquellos con antecedentes de consumo significativo de alcohol, infecciones patológicas agudas o crónicas notificadas, insuficiencia renal o hepática, diabetes mellitus no controlada o inmunodeficiencia y trastornos inmunológicos. Al final 79 pacientes fueron aleatorizados y presentaron consentimiento informado, distribuyéndolos en dos grupos uno de 35 personas consumiendo propóleo y otro de 32 personas con placebo.

La composición química del propóleo utilizado era de (ordenados de mayor a menor concentración): quercetina, éster de ácido cafeico, p-vainillina, ácido p-cumárico, apigenina, ácido cafeico, ácido cinámico, pinobanksin-5-metil-éter, entre otros. Tenía un contenido total de flavonoides de 222.82 g GAE/L, un total de flavonoides de 937.1 mg de quercetina/L, capacidad antioxidante de 42.73 μmol equivalentes Trolox/g. Fue administrado vía oral en una solución al 3% en propilenglicol denominado Beepolis®, 15 gotas dos veces al día por 90 días y durante el proceso se monitoreo presión arterial además de mantener vigilancia por la posibilidad de un problema alérgico.

El efecto que tuvo el propóleo sobre los lípidos fue un aumento del 17 % en el colesterol total, en el día 90 de 175.3±29.2 a 206.6±21.6 mg/dL y un aumento de C-HDL del 22 % pasaron de 53.9±11.9 a 65.8±16.7 mg/dL en comparación con el día cero de administración de propóleo y con los sujetos que recibieron placebo, en cambio con C-LDL y TG no existió una diferencia significativa, el grupo placebo no mostró ninguna variación en los parámetros (Mujica et al, 2017).

Tabla 12. Tabla del efecto de propóleo en colesterol total, C-LDL, C-HDL, y Triacilglicéridos reportados por Mujica et al (2017).

	Placebo		<i>p value</i>	Propóleo		<i>p value</i>
	Día 0	Día 90		Día 0	Día 90	
Colesterol Total	176.5±24.67	179.6±27.95	0.6361	175.3±29.22	206.6±21.61	0.0001
Colesterol LDL	105.0±36.28	104.0±38.65	0.9089	109.1±32.98	113.8±32.26	0.5590
Colesterol HDL	56.70±14.29	57.28±11.60	0.8628	53.91±11.90	65.81±16.69	0.0010
Triacilglicéridos	128.4±69.11	132.4±72.09	0.8188	116.7±58.46	126.5±71.64	0.5351

Todos fueron determinados por métodos enzimáticos, los valores corresponden a la media ±DE para 32 sujetos con placebo y 35 sujetos con propóleo (ANOVA de una vía, posprueba de Turkey *p<0.05).

Para finalizar, se presenta en la Figura 21 que es la esquematización de algunos puntos importantes que se encontraron durante la investigación realizada, es un resumen del mecanismo de acción del propóleo en las dislipidemias y es parte de un cartel que se presentó en el 6° Congreso de ciencia, educación y tecnología de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.



Figura 21. Principales acciones del propóleo en las dislipidemias

CAPITULO 5

CONCLUSIONES, PROSPECTIVAS, REFERENCIAS Y ANEXOS

5.1 CONCLUSIONES

Se ha demostrado que el propóleo de abejas nativas sin aguijón y del género *Apis* tiene efecto sobre las dislipidemias, ya que disminuye los niveles de triacilglicéridos y colesterol total, aumenta el C-HDL, disminuye LDL lo que puede reducir la formación de placa arterioesclerótica y actúa como quelante de las sales biliares, principalmente, lo que lo convierte en un posible tratamiento complementario en pacientes con dislipidemias.

Sin embargo, la composición química del propóleo y en consecuencia su actividad biológica depende de factores como origen geográfico, fuente botánica, raza de abejas, época de muestreo y condiciones climáticas de la región. Por lo que los datos de efectividad varían.

Las pruebas de toxicidad estiman que vía oral dosis menores de 15 g/día no tiene efectos adversos, pero en uso tópico se puede presentar hipersensibilidad.

5.2 PROSPECTIVAS

- Caracterización de diferentes propóleos de abeja nativa sin aguijón en el territorio mexicano.
- Ensayos en modelo animal enfocados a propóleo de abeja nativa sin aguijón presentes en México.
- Realizar Estudios de farmacocinética y farmacodinamia del propóleo de abeja nativa sin aguijón.
- Impulsar la difusión del efecto del propóleo de abejas nativas sin aguijón en dislipidemias.
- Impulsar a la investigación del uso de propóleo de abeja nativa sin aguijón en otras enfermedades metabólicas.

5.3 REFERENCIAS

- Abdullah, N. A., Ja'afar, F., Yasin, H. M., Taha, H., Petalcorin, M., Mamit, M. H., Kusriani, E., & Usman, A. (2019). Physicochemical analyses, antioxidant, antibacterial, and toxicity of propolis particles produced by stingless bee *Heterotrigona itama* found in Brunei Darussalam. *Heliyon*, 5(9), e02476. Recuperado el 21 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02476>
- Aguilar, C., Alexanderson, E., Ahumada, M., Alcocer, M., Arenas, J. L., Borges, O., Benavides, M.A., Cardina, E., Córtes, L. J., Cossio J., Elías J., Garfio B., Hernández E., Lara E. A., Méndez M.A.B., Morales, E.V., Muñoz A.V. Pavía V. & Verdejo J.P. (2020). Consenso de la Sociedad Mexicana de Cardiología en el diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias y aterosclerosis. *Medicina Interna de México*, 36(3),390-413. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.24245/mim.v36i3.3671>
- Aguilar-Paredes, O. A., Castillo-Guevara, C., Díaz-Godínez, R., Nieto-Camacho, A., & Méndez-Iturbide, D. (2018). Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación. *Mexican journal of biotechnology*, 3(1), 60-72. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.29267/mxjb.2018.3.1.60>
- Aguillón-Osma, Johanny, Loango-Chamorro, Nelsy, & Landazuri, Patricia. (2019). Modelos celulares hepáticos para el estudio del metabolismo de los lípidos. Revisión de literatura. *Revista de la Facultad de Medicina*, 67(1), 109-116. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://dx.doi.org/10.15446/revfacmed.v67n1.64964>
- Aguirre, M. A, P., Carem, H. H., Seilee, B. Y. & Paoli, M. (2016). Dislipidemia mixta severa en población pediátrica: enfoque diagnóstico y terapéutico. A propósito de un caso. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 14(3), 205-216. Recuperado el 3 de julio del 2020 de <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/42690>
- Ahmed, R., Tanvir, E. M., Hossen, M. S., Afroz, R., Ahmmed, I., Rumpa, N. E., Paul, S., Gan, S. H., Sulaiman, S. A., & Khalil, M. I. (2017). Antioxidant Properties and Cardioprotective Mechanism of Malaysian Propolis in Rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2017, 5370545. Recuperado el 17 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2017/5370545>
- Al Ghamdi, A. A., Badr, G., Hozzein, W. N., Allam, A., Al-Waili, N. S., Al-Wadaan, M. A., & Garraud, O. (2015). Oral supplementation of diabetic mice with propolis restores the proliferation capacity and chemotaxis of B and T lymphocytes towards CCL21 and CXCL12 by modulating the lipid profile, the pro-inflammatory cytokine levels and oxidative stress. *BMC immunology*, 16, 54. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1186/s12865-015-0117-9>
- Al-Awar, A., Kupai, K., Veszeka, M., Szűcs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., Török, S., Pósa, A., & Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of diabetes research*, 2016, 9051426. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>

- Al-Hatamleh, M., Boer, J. C., Wilson, K. L., Plebanski, M., Mohamud, R., & Mustafa, M. Z. (2020). Antioxidant-Based Medicinal Properties of Stingless Bee Products: Recent Progress and Future Directions. *Biomolecules*, 10(6), 923. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/biom10060923>
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., Bashir, M. A., Tahir, M., Ansari, M. J., Ghramh, H. A., Adgaba, N., & Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi journal of biological sciences*, 26(7), 1695-1703. Recuperado el 21 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- Arellano, O., Barquera, S., Barriguete, J. A., Lara, E. A., López, P. A., & Rosas, M. (2008). Protocolo clínico para el diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. México: Secretaría de Salud. Recuperado el 2 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3jGJiTI>
- Arnold, N., Zepeda, R., Vásquez, D. M., & Maya, M. A. (2018). Las abejas sin aguijón y su cultivo en Oaxaca, México con catálogo de especies. *San Cristóbal de las Casas: Ecosur-onabio*, 147, 46. Recuperado el 28 de septiembre del 2021 de <https://bit.ly/3jDfqHf>
- Badimón, L., Vilahur, G., & Padró, T. (2009). Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis. *Revista española de cardiología*, 62(10), 1161-1178. Recuperado el 5 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/2HLYUaG>
- Baldi C. B. (2019). Uso del propóleo en el desarrollo de alimentos funcionales de alto poder antioxidante. *Ciencia, docencia tecnología suplemento*, 9(9). ISSN 2250-455 Recuperado el 28 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/2XtLNDu>
- Barba E. J. R. (2018). México y el reto de las enfermedades crónicas no transmisibles. El laboratorio también juega un papel importante. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 65(1), 4-17. Recuperado el 3 de junio del 2020 de <https://bit.ly/2TE39YI>
- Becerra G. F de J. & Contreras, E. F. (2004). La importancia de la apicultura en México. *Revista imagen veterinaria*. 4(1), 10-15. Recuperado el 22 de julio del 2020 de <https://bit.ly/2HMY7qn>
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, J. L., Artilles, D., Bermúdez, R., & Clapés, S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*, 36(2), 230-238. Recuperado el 19 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2686>
- Bonamigo, T., Campos, J. F., Alfredo, T. M., Balestieri, J. B., Cardoso, C. A., Paredes-Gamero, E. J., de Picoli Souza, K., & Dos Santos, E. L. (2017). Antioxidant, Cytotoxic, and Toxic Activities of Propolis from Two Native Bees in Brazil: *Scaptotrigona depilis* and *Melipona quadrifasciata anthidioides*. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 1038153. Recuperado el 30 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2017/1038153>
- Bouhlali, E., Hmidani, A., Bourkhis, B., Khouya, T., Harnafi, H., Filali-Zegzouti, Y., & Alem, C. (2020). Effect of Phoenix dactylifera seeds (dates) extract in triton WR-1339 and high fat diet induced hyperlipidaemia in rats: A comparison with simvastatin. *Journal of ethnopharmacology*, 259, 112961. Recuperado el 19 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112961>

- Braakhuis A. (2019). Evidence on the Health Benefits of Supplemental Propolis. *Nutrients*, 11(11), 2705. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/nu11112705>
- Cabré V. J. J., Ortega V. Y., Guillén L. A., & Villa C. A. (2001). Eficacia de la atorvastatina en el tratamiento de las dislipemias refractarias. *Medifam*, 11(2), 43-54. ISSN 1131-5768. Recuperado el 30 de enero del 2020 de <https://bit.ly/3nGcWxy>
- Cáceres, D. G. C. (2010). Salida celular y transporte reverso de colesterol. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 22, 12-16. Recuperado el 13 de octubre del 2020 de [https://doi.org/10.1016/S0214-9168\(10\)70013-9](https://doi.org/10.1016/S0214-9168(10)70013-9)
- Canalizo-Miranda, E., Favela P. E. A., Salas A. J. A., Gómez D. R., Jara E. R., del Pilar Torres A. L., & Viniegra O. A. (2013). Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 51(6), 700-709. Recuperado el 2 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3mzvdsy>
- Cárdenas, E. (2008). Química y evaluación del efecto hipoglicemiante de própolis en ratones diabéticos inducidos con aloxano. [tesis de licenciatura, Universidad Austral de Chile] Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/2JnEwxD>
- Carrero, J.J., Martín-Bautista, E., Baró, L., Fonollá, J., Jiménez, J., Boza, J.J., & López-Huertas, E. (2005). Efectos cardiovasculares de los ácidos grasos Omega-3 y alternativas para incrementar su ingesta. *Nutrición Hospitalaria*, 20(1), 63-69. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3klSr72>
- Carvajal C. C. (2015). LDL oxidada y la aterosclerosis. *Medicina Legal de Costa Rica*, 32(1), 161-169. Recuperado el 25 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/3lDOMmm>
- Cauich K. R., Ruiz R. J. C., Ortíz V. E. & Segura C. M. R. (2015). Potencial antioxidante de la miel de *Melipona beecheii* y su relación con la salud: una revisión. *Nutrición Hospitalaria*, 32(4), 1432-1442. Recuperado el 26 de enero del 2020 de <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9312>
- Chegwin-Angarita, C., Nieto-Ramírez, I. J., & Atehortúa, L. & Sepúlveda A., L. J. (2012). Las estatinas: Actividad biológica y producción biotecnológica. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIV (2), 157-178. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3lCeje4>
- Chen, L. H., Chien, Y. W., Chang, M. L., Hou, C. C., Chan, C. H., Tang, H. W., & Huang, H. Y. (2018). Taiwanese Green Propolis Ethanol Extract Delays the Progression of Type 2 Diabetes Mellitus in Rats Treated with Streptozotocin/High-Fat Diet. *Nutrients*, 10(4), 503. Recuperado el 20 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/nu10040503>
- Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., & Burlando, B. (2017). Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. *Frontiers in pharmacology*, 8, 412. Recuperado el 20 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00412>
- Cubillos, V, López, C, & Alberdi, A. (2008). Estudio histopatológico e inmunohistoquímico de páncreas en perros diabéticos inducidos con aloxano. *Archivos de medicina veterinaria*, 40(2), 169-177. Recuperado el 19 de octubre del 2020 de <https://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2008000200009>

- Degroote, J., Vergauwen, H., Van Noten, N., Wang, W., De Smet, S., Van Ginneken, C., & Michiels, J. (2019). The Effect of Dietary Quercetin on the Glutathione Redox System and Small Intestinal Functionality of Weaned Piglets. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(8), 312. Recuperado el 26 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/antiox8080312>
- Díaz A. A., Fernández B. C. L., Enciso M. J. M., Ceballos R. G., Gutiérrez S. G., León H. F. J., Jiménez, O. J. H., Ramos, C. M.A., Gómez, A.E, Puente, A. B., Alcocer C. A. & Meaney, E. (2018). Posicionamiento en torno al diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. *Revista Mexicana de cardiología*, 29(S3), 148-168. Recuperado el 2 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3mvhPFG>
- Domínguez-Avila, J. A., González-Aguilar, G. A., Álvarez-Parrilla, E., & de la Rosa, L. A. (2016). Modulation of PPAR Expression and Activity in Response to Polyphenolic Compounds in High Fat Diets. *International journal of molecular sciences*, 17(7), 1002. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/ijms17071002>
- Dos Santos, T.L.A., Queiroz, R.F., Sawaya, A.C.H.F., Gimenez-Cassina, B.L., Soares, M. B.P., Bezerra, D.P., Rodrigues, A.C.B.C., De Paula, V.F. & Waldschmidt, A. M. (2017). Melipona mondury produces a geopropolis with antioxidant, antibacterial and antiproliferative activities. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(3, Suppl.), 2247-2259. Recuperado el 28 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160725>
- El Menyiy, N., Al-Wali, N., El Ghouzi, A., El-Guendouz, S., Salom, K., & Lyoussi, B. (2019). Potential therapeutic effect of Moroccan propolis in hyperglycemia, dyslipidemia, and hepatorenal dysfunction in diabetic rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(11), 1331–1339. Recuperado el 15 de septiembre del 2021 de <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.33549.8004>
- Ferreira, C.J., Pereira, D.U., Dos santos D.d., José, D.M., Perella, J.B.B., Lima, C.C.A., Paredes-Gamero, E.J., Miranda, L.E., de Picoli, S., K., & Lucas, S. E. (2015) Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, and cytotoxic activities of propolis from the stingless bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicin*. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2015/296186>
- Furgione, A., Sánchez, D., Scott, G., Luti, Y., Arraiz, N., Bermúdez, V., & Velasco, M. (2009). Dislipidemias primarias como factor de riesgo para la enfermedad coronaria. *Revista latinoamericana de hipertensión*, 4(1), 18-25. Recuperado el 15 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3oCjmf3>
- García, L. I. M., & Ledezma, J. C. R. (2018). La obesidad, un verdadero problema de salud pública persistente en México. *Journal of Negative and No Positive Results: JONNPR*, 3(8), 643-654. Recuperado el 30 de enero del 2020 de <https://doi.org/10.19230/jonnpr.2544>
- González A. J.A. (2012). La importancia de la meliponicultura en México, con énfasis en la Península de Yucatán. *Bioagrobiociencias, México*, 2012, no 1, p. 34-41. Recuperado el 29 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/3nI3nOu>
- González-Búrquez. M de J., González-Díaz, F. R., García-Tovar, C. G., Carrillo-Miranda L., Soto-Zárate, C. I., Canales-Martínez, M. M., Penieres-Carrillo, J. G., Cruz-Sánchez, T. A. y Fonseca-Coronado, S. (2018). Comparación entre el efecto

antiviral in vitro del propóleo mexicano y tres flavonoides comerciales contra el virus del moquillo canino. *Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia*, vol. 2018. Recuperado el 19 de julio del 2021 de <https://doi.org/10.1155/2018/7092416>

- Herrera, C. L., Fritz, O., Montenegro, G., Alvear, M., del Sol, M., & Salazar, L. A. (2010). El Propóleo Reduce la Esteatosis Hepática Inducida por Dieta en Ratones. *International Journal of Morphology*, 28(1), 75-84. Recuperado el 19 de octubre del 2020 de <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000100010>
- Hu, F., Hepburn, H. R., Li, Y., Chen, M., Radloff, S. E., & Daya, S. (2005). Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3), 276-283. Recuperado el 24 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.044>
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(12), 19610–19632. Recuperado el 19 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Huang, X., Wu, X., Yan, S., & Lan, T. (2018). [Lipid-lowering effect of propolis in mice with Triton-WR1339-induced hyperlipidemia and its mechanism for regulating lipid metabolism] *Journal of Southern Medical University*, 38(8), 1020–1024. Recuperado el 21 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-4254.2018.08.20>
- Instituto Nacional de Economía Social (2018). Historia e importancia de la apicultura. Recuperado el 28 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/2HNsCrl>
- Karr S. (2017). Epidemiology and management of hyperlipidemia. *The American journal of managed care*, 23(9 Suppl), S139–S148. Recuperado el 30 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/34HZkbb>
- Klop, B., Elte, J. W., & Cabezas, M. C. (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5(4), 1218–1240. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/nu5041218>
- Kocot, J., Kiełczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly: Possible Medical Application. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018. Recuperado el 21 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>
- Kronberg, M. F., Clavijo, A. M., Moya, A., Heredia, O., Pagano, E. A., & Munarriz, E. R. (2014). Utilización del nematodo *Caenorhabditis elegans* en ensayos de toxicidad de muestras de agua. In *2do. Encuentro De Investigadores En Formación En Recursos Hídricos*. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/31WoqkP>
- Li, Y., Chen, M., Xuan, H., & Hu, F. (2012). Effects of encapsulated propolis on blood glycemic control, lipid metabolism, and insulin resistance in type 2 diabetes mellitus rats. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2012, 981896. Recuperado el 20 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2012/981896>
- Lisbona-González, M. J., Reyes-Botella, C., Muñoz-Soto, E., Vallecillo-Rivas, M., Moreno-Fernández, J., & Díaz-Castro, J. (2020). Efecto positivo de un suplemento de propóleo sobre el perfil lipídico, la glucemia y el estado antioxidante hepático en

un modelo animal experimental. *Nutricion Hospitalaria*, 37(4). Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <http://dx.doi.org/10.20960/nh.03060>

- Mani, F., Damasceno, H. C. R., Novelli, E. L. B., Martins, E. A. M., & Sforcin, J. M. (2006). Propolis: Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables. *Journal of ethnopharmacology*, 105(1-2), 95-98. Recuperado el 29 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.011>
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M., & Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, 17(6), 271-278. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/34J7waY>
- Martins, I. J., & Redgrave, T. G. (2004). Obesity and post-prandial lipid metabolism. Feast or famine?. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(3), 130-141. Recuperado el 21 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2003.10.006>
- Massaro, F. C., Brooks, P. R., Wallace, H. M., Nsengiyumva, V., Narokai, L., & Russell, F. D. (2013). Effect of Australian propolis from stingless bees (*Tetragonula carbonaria*) on pre-contracted human and porcine isolated arteries. *PloS one*, 8(11), e81297. Recuperado el 15 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081297>
- Mateo Aldama, J. A., Rodríguez Pérez, B., González Gallardo, S., & Cruz Sánchez, T. A. (2020). Structural damage in *Cryptococcus neoformans* caused by a Mexican propolis. *Nova Scientia*, 12(25). Recuperado el 19 de julio del 2021 de <https://dpi.org.10.21640/ns.v12i25.2557>
- Medellín, MS. (2007). Manual de Trigonicultura para la Huasteca Tamaulipeca, México. Gobierno de Tamaulias, Conaculta, Instituto Tamaulipeco para la cultura y las artes, Programa de apoyo a las culturas municipales y comunitarias. Recuperado el 29 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/2HPWCHR>
- Miguel S. P. E. (2009). Dislipidemias. *ACIMED*, 20(6), 265-273. Recuperado el 3 de junio del 2020 de <https://bit.ly/2Za7mJB>
- Montes G. E. S. (2018). *Diseño de protocolo para el manejo de ratones cepa C57BL/6*. Instituto Tecnológico de Colima. Recuperado el 21 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/2JIAIIQ>
- Mora Agüero, S. de los Ángeles, Zeledón Aguilera, A. S., & Vargas Rubio, T. (2019). Estrés oxidativo y antioxidantes: efectos en el embarazo. *Revista Médica Sinergia*, 4(5), 89 - 100. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.31434/rms.v4i5.211>
- Moreno-Villares, José-Manuel, Collado, María-Carmen, Larqué, Elvira, Leis-Trabazo, María-Rosaura, Sáenz-de-Pipaon, Miguel, & Moreno-Aznar, Luis-A.. (2019). Los primeros 1000 días: una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades no transmisibles. *Nutrición Hospitalaria*, 36(1), 218-232. Recuperado el 23 de octubre del 2020 de <https://dx.doi.org/10.20960/nh.02453>
- Mujica, V., Orrego, R., Pérez, J., Romero, P., Ovalle, P., Zúñiga-Hernández, J., Arredondo, M., & Leiva, E. (2017). The Role of Propolis in Oxidative Stress and Lipid Metabolism: A Randomized Controlled Trial. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2017, 4272940. Recuperado el 24 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2017/4272940>

- Muñoz, R. L.C., Linares, V.S.E. & Narváez, S. W. (2011). Propiedades del propóleo como aditivo natural funcional en la nutrición animal. *Biosalud*, Volumen 10 No. 2, julio - diciembre, 2011. 101 – 111. Recuperado el 31 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/3jJ044f>
- National Center for Biotechnology Information (2020)a. PubChem Compound Summary for CID 2796, Clofibrate. Recuperado el 5 de octubre del 2020 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Clofibrate>
- National Center for Biotechnology Information (2020)b. PubChem Compound Summary for CID 150311, Ezetimibe. Recuperado el 5 de octubre del 2020 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ezetimibe>.
- National Center for Biotechnology Information (2020)c. PubChem Compound Summary for CID 3339, Fenofibrate. Recuperado el 5 de octubre del 2020 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fenofibrate>
- Nieto-Zermeño, J., Flores, R. O., Río-Navarro, B. D., Salgado-Arroyo, B., & Molina-Díaz, J. M. (2018). *Gaceta medica de México*, 154(Supp 2), S22–S29. Recuperado el 2 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.24875/GMM.18004573>
- Oladayo M. I. (2016). Nigerian propolis improves blood glucose, glycated hemoglobin A1c, very low-density lipoprotein, and high-density lipoprotein levels in rat models of diabetes. *Journal of intercultural ethnopharmacology*, 5(3), 233–238. Recuperado el 10 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.5455/jice.20160502065029>
- Oršolić, N., Ladea Jurčević, I., Đikić, D., Rogić, D., Odeh, D., Balta, V., Perak Junaković, E., Terzić, S., & Jutrić, D. (2019). Effect of Propolis on Diet-Induced Hyperlipidemia and Atherogenic Indices in Mice. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(6), 156. Recuperado el 10 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Pacheco, A., Daleprane, J. B., Freitas, V. S., Ferderbar, S., Hirabara, S., Cuevas, A., Saavedra, Curi, R., Abdalla, D. S. P., & Salazar, L. A. (2011). Efecto del Propóleo Chileno sobre el Metabolismo de Glucosa en Ratones Diabéticos. *International Journal of Morphology*, 29(3), 754-761. Recuperado el 31 de agosto del 2020 de <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022011000300015>
- Pasupuleti, V. R., Sammugam, L., Ramesh, N., & Gan, S. H. (2017). Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, 1259510. Recuperado el 28 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2017/1259510>
- Pat F. L. A., Anguebes F. F., Pat F. J. M., Hernández B. P., & Ramos R. R. (2018). Condición y perspectivas de la meliponicultura en comunidades mayas de la reserva de la biósfera Los Petenes, Campeche, México. *Estudios de cultura maya*, 52, 227-254. Recuperado el 22 de Julio del 2020 de <https://dx.doi.org/10.19130/iifl.ecm.2018.52.939>
- Ponce G. Y., Ponce G. A., Rodríguez L. A., & Llanes Á. C. (2019). Las lipoproteínas de alta densidad: protectoras vasculares contra la aterosclerosis. *CorSalud*, 5(4), 366-378. Recuperado el 30 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/34GCRew>
- Primon de Barros, M., Lemos M., Maistro E.L., Freire M. L., Barreto J.P.S., Kennup J. B. & Faloni A. S. (2008). Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids

- found in Brazilian Green Propolis. *Journal of ethnopharmacology*, 120(3), 372–377. Recuperado el 30 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.015>
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial Properties of Propolis. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(11), 2047. Recuperado el 28 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
 - Quintero-Mora, M.L., Londoño-Orozco, A., Hernández-Hernández, F., Manzano-Gayosso, P., López-Martínez, R., Soto-Zárata, C. I., Penieres-Carrillo, G., García-Tovar, C. G., Cruz-Sánchez, T.A. (2008). Efecto de extractos de propóleos mexicanos de *Apis mellifera* sobre el crecimiento in vitro de *Candida albicans*. *Revista Iberoamericana de Micología* 25(1), 22-26. Recuperado el 19 de Julio del 2021 de [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(08\)70006-8](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(08)70006-8).
 - Rees, A., Dodd, G. F., & Spencer, J. (2018). The Effects of Flavonoids on Cardiovascular Health: A Review of Human Intervention Trials and Implications for Cerebrovascular Function. *Nutrients*, 10(12), 1852. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/nu10121852>
 - Reis, J., Barreto, G. A., Cerqueira, J. C., Anjos, J., Andrade, L. N., Padilha, F. F., Druzian, J. I., & Machado, B. (2019). Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. *PloS one*, 14(7), e0219063. Recuperado el 15 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219063>
 - Rivas-Gomez, B., Almeda-Valdés, P., Tussíe-Luna, M. T., & Aguilar-Salinas, C. A. (2018). DYSLIPIDEMIA IN MEXICO, A CALL FOR ACTION. *Revista de investigacion clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion*, 70(5), 211–216. Recuperado el 8 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.24875/RIC.18002573>
 - Rodríguez. B.P., Canales, M.M.M., Penieres, C.G., & Cruz, S, T, A. (2020). Composición química, propiedades antioxidantes y actividad antimicrobiana de propóleos mexicanos. *Acta Universitaria*, 30(1), 1-30. Recuperado el 30 de septiembre del 2020 de <http://doi.org/10.15174/au.2020.2435>
 - Román, M de O. E. (2019). Prácticas agropecuarias como estrategias de seguridad alimentaria. En Alquisira- Ramírez, E. V. (eds). *La importancia de la meliponicultura en México*. (p.p. 103-129) Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Recuperado el 26 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3kJ9Ex>
 - Ruiz L. J. C., Letamendi V. J. A. & Calderón L. R. A. (2020). Prevalencia dislipidemias en pacientes obesos. *MEDISAN*, 24(2), 211-222. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3CnerVn>
 - Salamanca, G. G. (2017). *Origen, naturaleza, propiedades fisicoquímicas y valor terapéutico del propóleo*. Sello Editorial Universidad del Tolima. Recuperado el 26 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/35M0y1l>
 - Sánchez H. A. (2018). *Características antioxidantes de propóleos de diferentes orígenes geográficos* [Tesis de Doctorado, Universidad Politécnica de Valencia] Recuperado el 9 de septiembre del 2020 de <https://bit.ly/34Ih8CV>
 - Sánchez-Valle, V., & Méndez-Sánchez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3oI0FGY>

- Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. (2017, 6 de octubre). Norma Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento. Recuperado el 13 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/3mIKFTr>
- Secretaria de salud Mexicana. (2013). Guía de Tratamiento Farmacológico de Dislipidemias para el primer nivel de atención. *Revista mexicana de cardiología*, 24(3), 103-129. Recuperado el 26 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/35NJI5p>
- Secretaria de Salud. (2003, 21 de Julio). Norma oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Recuperado el 19 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/31Xfz2o>
- Secretaria de Salud. (2012, 7 de Julio). Norma oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Recuperado el 19 de agosto del 2020 de <https://bit.ly/31TKegU>
- Şenel, E., & Demir, E. (2018). Bibliometric analysis of apitherapy in complementary medicine literature between 1980 and 2016. *Complementary therapies in clinical practice*, 31, 47-52. Recuperado el 30 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2018.02.003>
- Shamah, L.T, Amaya, M.A.C & Cuevas, L.N. (2015). Desnutrición y obesidad: doble carga en México. *Revista digital universitaria UNAM*, vol 16 (5). Recuperado el 2 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/3jElkqF>
- Soto-Estrada G., Moreno-Altamirano, L. & Pahua D. D. (2016). Panorama epidemiológico de México, principales causas de morbilidad y mortalidad. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 59(6), 8-22. Recuperado el 4 de octubre del 2020 de <https://bit.ly/39jXtLf>
- Vázquez, J. C. (2010). Caracterización botánica de los propóleos producidos en distinto origen geográfico en la región apícola I-cuenca del salado, PCIA. De Buenos Aires. [Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia] Recuperado el 20 de julio del 2020 de <https://bit.ly/3mDzjQk>
- Wagh V. D. (2013). Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences*, 2013, 308249. Recuperado el 17 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.1155/2013/308249>
- Woting, A. & Blaut, M. (2016). La microbiota intestinal en las enfermedades metabólicas. *Nutrientes*, 8 (4), 202. Recuperado el 26 de septiembre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/nu8040202>
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(6), 1123. Recuperado el 12 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
- Zakerkish, M., Jenabi, M., Zaeemzadeh, N., Hemmati, A. A., & Neisi, N. (2019). The Effect of Iranian Propolis on Glucose Metabolism, Lipid Profile, Insulin Resistance, Renal Function and Inflammatory Biomarkers in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Double-Blind Clinical Trial. *Scientific reports*, 9(1), 7289. Recuperado el 28 de octubre del 2020 de <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43838-8>

5.4 ANEXOS

5.4.1 Aloxano y Estreptozotocina

Estas sustancias son consideradas químicamente diabetogénicas, las más potentes y utilizadas en la investigación de la diabetes, se emplean como análogos citotóxicos de la glucosa que tienen a acumularse en las células beta pancreáticas del transportador de glucosa 2 (GLUT2) (Al-awar, 2016).

Estreptozotocina actúa como un análogo de nitrosourea, en el que existe un enlace entre el resto N-metil-N-nitrosourea (MNU) y el carbono-2 de la hexosa. En general, el modo de acción de la STZ (Estreptozotocina) depende de la actividad alquilante del DNA de su resto metil-nitrosourea. La transferencia del grupo metilo de STZ a la molécula de DNA causa daño a lo largo de una cadena definida de eventos y conduce a la fragmentación del DNA (Al-Awar, 2016).

El fármaco provoca la destrucción selectiva de las células beta de los islotes pancreáticos, única fuente de insulina en el organismo, la sensibilidad al fármaco puede variar según la cepa, el sexo, la edad, el estado nutricional y la especie del animal. El momento, la dosis y la vía de administración resultan determinantes para el tipo de diabetes a inducir, en rata adulta la inoculación de diferentes dosis de STZ causa una deficiencia casi total de la insulina y por lo tanto simulan la diabetes tipo 1 con niveles elevados de hiperglucemia. El modelo neonatal se considera una herramienta confiable para esclarecer los mecanismos asociados a la regeneración de las células pancreáticas y las complicaciones a largo plazo de la diabetes tipo 2 (Bequer, 2016).

El aloxano es un compuesto químico derivado de pirimidina que puede unirse a moléculas de H₂O cuando está en solución acuosa para formar el hidrato de aloxano, posee acción necrosante específica y selectiva sobre las células beta de los islotes de Langerhans, a nivel pancreático se postulan dos teorías, una es que la interacción de los metabolitos del aloxano con el zinc pancreático son los responsables de la destrucción de las células beta, mientras que otras observaciones sustentan la formación de radicales de oxígeno que desempeñan una función significativa en la acción diabetogénica de estas sustancias. Causa una diabetes mellitus insulino dependiente conocida como “diabetes aloxana” en los animales con características similares a la diabetes tipo I en humanos. Se habla de una acumulación en las células beta, a través de la captación por el transportador de glucosa 2 (Oladayo, 2016; Cubillos & Alberdi, 2008).

5.4.2 Triton-WR1339

Triton WR-1339 es utilizado como modelo agudo para la detección preliminar y rápida de agentes hipolipidémicos, este es un detergente iónico que se une a lipoproteínas ricas en triacilglicéridos, disminuye la tasa de hidrólisis de TG en sangre por los tejidos, aumenta la biogénesis del colesterol hepático y la actividad reductasa de 3-hidroxi, 3-metil-glutaril CoA. Se ha informado que causa la disociación de la apolipoproteína AI y apo C-II del HDL-C, en consecuencia, la inyección de Triton-WR1339 en ratas provoca un marcado aumento del nivel de TG, TC, C-LDL y disminución de los niveles de C-HDL (Bouhlali, 2020).

5.4.3 NORMA Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

JUAN JOSÉ LINARES MARTÍNEZ, Director General de Normalización Agroalimentaria de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación con fundamento en los Artículos 35 fracción IV y XXII de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4o. de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 38 fracciones II y IX, 40 último párrafo, 41, 43, 44, 45, 46, 47 fracción IV, 52, 62, 63, 64, 73 y 74 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 33 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 1, 2 inciso B fracción XVII, 17 fracciones I, XII y XXIII, 28 y 29 fracción I del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, he tenido a bien expedir la presente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SAG/GAN-2017, PROPÓLEOS, PRODUCCIÓN Y ESPECIFICACIONES PARA SU PROCESAMIENTO

ÍNDICE

0. Introducción
1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias
3. Definiciones
4. Consideraciones generales
5. Especificaciones físicas, químicas y antimicrobianas
6. Métodos de prueba
7. Evaluación de la conformidad
8. Sanciones
9. Concordancia con normas y lineamientos internacionales
10. Bibliografía
11. Disposiciones transitorias
- 0. Introducción**

0.1 El avance en el conocimiento y usos medicinales de propóleos a nivel nacional e internacional, ha generado un incremento en su consumo y como consiguiente una mayor demanda por la sociedad.

0.2. Es importante que en México se fomente la producción de propóleos mediante sistemas de producción que permitan una recolección, y procesamiento de manera estandarizada para garantizar que su composición química no se altere en perjuicio de sus propiedades.

0.3. La regulación de los propóleos que garanticen las características físicas, químicas y antimicrobianas, beneficiará económicamente al sector apícola ya que fomentará su competitividad en el mercado nacional e internacional.

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer las especificaciones de producción, características físicas, químicas y antimicrobianas, que deben cumplir los propóleos y sus extractos para su procesamiento y comercialización en el país.

1.2 Esta Norma es aplicable a las unidades económicas pecuarias dedicadas a la producción, importación, acondicionamiento y almacenamiento con fines de distribución y comercialización de propóleos y sus extractos en el territorio nacional.

1.3 Previo a la comercialización al interior del país, cada lote de propóleos importado, deberá ser analizado bajo las especificaciones establecidas en la presente norma, demostrado con los resultados de laboratorio oficial, laboratorios aprobados o autorizados por la Secretaría o laboratorios acreditados y aprobados en los términos de lo dispuesto por la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

1.4 La aplicación de las disposiciones contenidas en esta Norma compete a la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), a través de la Coordinación General de Ganadería, así como a las Delegaciones de la SAGARPA y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales.

2. Referencias

Para la correcta aplicación y complementación de esta Norma deben consultarse las siguientes:

2.1 Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCOFI-1993, Sistema General de Unidades de Medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 14 de octubre de 1993.

2.2 Norma Oficial Mexicana NOM-030-SCFI-1993, Información comercial-Declaración de cantidad en la etiqueta-Especificaciones, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de octubre de 1993.

2.3 Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI-1994, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas pre envasados, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 24 de enero de 1996.

3. Definiciones

Para efectos de esta Norma, se entiende por:

3.1 Acondicionamiento: Todas las operaciones necesarias para envasar, empacar y etiquetar el producto, hasta llegar a la presentación final para su conservación, almacenamiento y distribución.

3.2 Compuestos fenólicos: Son compuestos aromáticos, que, junto a los flavonoides, le confieren a los propóleos sus usos y aplicaciones biológicas; los principales compuestos fenólicos de los propóleos son: ácido caféico, ácido ferúlico, ácido benzoico, ésteres de ácido caféico, como el CAPE (feniletil éster del ácido caféico, por sus siglas en inglés), entre otros.

3.3 Constatación: Procedimiento mediante el cual la Secretaría verifica que el producto cumple con las especificaciones de composición establecidas en la presente norma.

3.4 Flavonoides: Compuestos orgánicos hidroxilados derivados de la 2-fenilbenzopiran-4-ona (también llamada 2-fenil-4H-cromen-4-ona), y sistemas reducidos en C2-C3 y/o C4 provenientes de exudados vegetales con múltiples aplicaciones.

3.5 Impurezas: Elementos ajenos a los propóleos, que han sido incorporados durante el proceso de recolección por las abejas y manipulación de éste (resto de insectos, madera, papel, basura, entre otros).

3.6 Materia prima: Ingrediente de cualquier origen utilizado en la elaboración de productos terminados.

3.7 Métodos promotores de cortinas de propóleos: Son todos aquellos que crean espacios entre las cámaras de cría, alzas, tapas internas de la colmena y/o en las paredes de las mismas, dichos espacios pueden ser de dos centímetros o menos y sirven para promover la acumulación de propóleos en forma de cortina para bloquear la entrada de aire o intrusos a la colmena. Entre estos métodos se encuentran los brasileños (CPI, pirassununga, bastidores, cuadros móviles, entre otros) y el Campechano de origen mexicano.

3.8 Mallas y Rejillas plásticas: Son dispositivos plásticos que presentan orificios de diferentes tamaños. Las mallas y rejillas plásticas son dispositivos plásticos que presentan orificios de diferentes tamaños que pueden ir desde los tejidos, como las mallas mosquiteros que presentan hilos de un grosor de 0.5 mm y orificios de aproximadamente 1.0 por 1.0 mm de luz, y las matrizadas (que se forma por medio del prensado en un molde caliente), que son de una sola pieza y pueden presentar orificios desde 1.0 por 1.0 mm de luz y un grosor de 1.0 mm; hasta las de 2.0 por 2.0 mm de luz y un grosor de 2.0 mm, y las tipo rejilla con orificios de 2.0 mm por 5.0 cm de largo y un grosor de 2.0 mm, estas mallas y rejillas presentan una forma trapezoidal isósceles.

3.9 Propóleos en greña o en bruto: Son los propóleos obtenidos directamente de la colmena, sin ningún tipo de tratamiento.

3.10 Propóleo o propóleos: Nombre genérico que se da a las sustancias resinosas recolectadas y procesadas por las abejas de la vegetación circundante al apiario. De aspecto resinoso, su color puede variar dependiendo de su origen desde el rojo, amarillo-rojizo, amarillo-oscuro, verde castaño, pardo o negro, con sabor amargo y ligeramente picante.

3.11 Secretaría: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

4. Consideraciones generales

4.1 Producción de propóleos.

La producción de los propóleos se debe realizar por medio del uso de rejillas, mallas plásticas o métodos promotores de cortinas de propóleos en las colmenas específicas para su cosecha.

4.2 Recolección de propóleos.

La recolección debe realizarse con materiales libres de residuos de algunas sustancias que puedan contaminarlo. Durante la cosecha, no debe exponerse a los rayos del sol, evitar su almacenamiento cerca de fuentes de calor y no debe mezclarse con la cera que se encuentra en tapas o sobre los bastidores. Los propóleos en bruto contenido en las trampas, se debe introducir a un congelador entre -10°C y -20°C, por lo menos una hora para que la resina se torne rígida y quebradiza y que facilite su obtención. En todos los casos se debe evitar la manipulación directa y la formación de conglomerados.

5. Especificaciones físicas, químicas y actividad antimicrobiana

5.1 Especificaciones físicas.

Parámetros	Características
Color	Rojo, amarillo-rojizo, amarillo-oscuro, verde castaño, pardo o negro, variando conforme a su origen botánico.
Aroma	Resinoso (olor a madera) o balsámico (olor a cera), o balsámico, dependiendo de su origen botánico
Sabor	Variable, de suave balsámico, a fuerte y picante, dependiendo de su origen botánico.
Consistencia	A temperatura ambiente maleable o rígido, dependiendo de su origen botánico.

5.2 Especificaciones químicas.

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 (CA50)	Mínimo 100 microgramos/mililitro

5.3 Actividad antimicrobiana.

A todas las muestras deberán de realizarse análisis sobre la actividad antimicrobiana frente a los siguientes microorganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC), *Escherichia coli* (ATCC) y *Candida albicans* (ATCC), por ser algunos de los de mayor incidencia en la salud pública.

El laboratorio oficial, aprobado o autorizado, deberá emitir el resultado de la actividad antimicrobiana indicando el número de la cepa de referencia ATCC utilizada en el análisis.

6. Métodos de prueba

6.1 Acondicionamiento de la muestra.

Los propóleos en bruto o en greña deben acondicionarse eliminando las impurezas visibles tales como virutas de madera, restos de abejas, restos de pinturas, restos vegetales, entre otros. Posteriormente, debe ser refrigerada o congelada para favorecer su maceración. Debe conservarse en refrigeración y protegida de la luz hasta el momento de realizar el análisis.

6.2 Para las especificaciones físicas.

6.2.1 Determinación del color: Colocar la muestra sobre una superficie blanca y comparar con una escala de colores; debe realizarse en un ambiente con buena iluminación. Se puede utilizar un microscopio estereoscópico para visualizar definitivamente los colores presentes utilizando el Catálogo Internacional de Colores.

6.2.2 Determinación del aroma: Retirar una porción de la muestra a fin de que el envase no interfiera en la percepción olfativa.

6.2.3 Determinación del sabor: Colocar una porción de la muestra en la parte media de la lengua y analizar mediante la comparación de sus atributos de sabor con los que mejor lo distinguen.

6.2.4 Consistencia a temperatura ambiente: Retirar una porción de la muestra y colocarla en un vidrio de reloj, hasta que alcance la temperatura ambiente. Determinar la consistencia tocándola con los dedos y comparar con el atributo que mejor la describa. Suave y maleable a temperaturas entre 20 y 40°C y rígido a temperaturas inferiores a 20°C.

6.3 Para las Especificaciones químicas.

6.3.1 Preparación del Extracto Etanólico de Propóleos (EEP).

Pesar una cantidad de 50 gramos de los propóleos en bruto, previamente acondicionada, añadir etanol al 70% en propóleo: disolvente 1:3 y dejar macerar por un período de 72 horas con agitación constante o extraer con baño ultrasónico por 20 min a temperatura ambiente. Pasado este tiempo filtrar y el filtrado se concentra (utilizando preferentemente un Rotovapor o a vacío), pasar el extracto a un envase ámbar, empleando la mínima cantidad de etanol al 70%, y dejar a sequedad utilizando una bomba de vacío. Debe conservarse en refrigeración y protegida de la luz hasta el momento de realizar el análisis.

6.3.2 Prueba cualitativa de flavonoides.

Para la detección de flavonoides se utiliza hidróxido de sodio (NaOH) al 20 %. Un color amarillo intenso es característico de los flavonoides.

6.3.2.1 Preparación de reactivos.

Hidróxido de sodio (NaOH) al 20 %. Pesar 10 gramos y disolver en 25 mililitros de agua destilada. Agitar después de enfriar y aforar a 50 mililitros.

6.3.2.2 Procedimiento.

a) Pesar 200 miligramos de los propóleos en bruto o EEP y añadir 1 mililitro de etanol al 70% y mezclar perfectamente.

b) Añadir una gota de NaOH al 20 % y observar un cambio de coloración que va del amarillo a naranja de acuerdo a la cantidad de flavonoides presentes.

6.3.3 Prueba cualitativa de fenoles totales.

La mayor parte de los fenoles dan disoluciones coloreadas (azul, verde, violeta, entre otros). Si el color es amarillo débil (mismo que el reactivo), la reacción se considera negativa. Algunos fenoles no dan coloración, como la hidroquinona, ya que se oxidan con el reactivo a quinona. Los ácidos, a excepción de los fenólicos, no dan la reacción aunque algunos dan disoluciones o precipitados de color amarillento.

6.3.3.1 Preparación de reactivos.

Cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) al 10 %: Pesar 1 gramo y disolver en 10 mililitros de agua destilada caliente, posteriormente aforar a 100 mililitros.

Etanol al 70 %: Medir 72.9 mililitros de alcohol etílico al 96 % y aforar a 100 mililitros con agua destilada.

6.3.3.2 Procedimiento.

a) Colocar 200 miligramos de los propóleos en bruto o EEP en un vaso de precipitados de 10 mililitros y añadir 1 mililitro de etanol al 70 %.

b) Mezclar y agregar una gota de la solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 1 % y observar el desarrollo de color.

c) En caso de la presencia de fenoles, se observará un precipitado y una coloración azul, verde, rojo, morado o negro.

6.3.4 Índice de oxidación.

El índice de oxidación es influenciado por el contenido de compuestos fenólicos. Esto indica que a mayor concentración de fenoles totales, el tiempo de la reacción es más rápido (poder antioxidante de los propóleos, sobre la solución de permanganato de potasio).

6.3.4.1 Preparación de reactivos.

Permanganato de potasio (KMnO_4) 0.1 N.

a) Pesar en vidrio de reloj, 3.2 g de KMnO_4 sólido, pasar a un matraz Erlenmeyer de 1000 mL y adicionar 250 mL de agua destilada.

b) Tapar con un vidrio de reloj, calentar y agitar la solución hasta la disolución completa del sólido.

c) Agregar 250 mL de agua destilada y calentar hasta ebullición durante 15 min y mantener la solución caliente durante 1 h, sin ebullición.

d) Dejar enfriar la solución hasta temperatura ambiente durante 12 h y posteriormente filtrar por lana de vidrio o crisol de porcelana, no con papel, recibiendo el filtrado en un matraz aforado de 1000 mL, lavando el matraz Erlenmeyer empleado anteriormente y el material en el filtro, con la menor cantidad de agua destilada posible y aforar a 1000 mL.

e) Finalmente, el líquido filtrado se pasa a un frasco ámbar (bien limpio y exento de materia orgánica).

f) En caso de presentar precipitado, es necesario filtrar antes de su uso.

Ácido sulfúrico (H₂SO₄) al 20 %. Colocar 30 mL de agua destilada en un matraz aforado de 100 mL colocado en un baño de hielo, agregar lentamente 21 mL de ácido sulfúrico concentrado al 96 % y aforar con agua destilada. Precaución: la reacción libera calor. Precaución: la reacción libera calor.

6.3.4.2 Procedimiento.

- a) Pesar 20 miligramos de los propóleos en bruto o EEP y añadir 5 mililitros de etanol al 70 %.
- b) Añadir 95 mililitros de agua destilada, agitar hasta homogeneizar la mezcla y filtrar a gravedad.
- c) Tomar 10 mililitros de esta solución y aforar a 100 mililitros con agua destilada.
- d) Tomar 2 mililitros de la solución diluida y añadir 1 mililitro de H₂SO₄ al 20 % y agitar un minuto.
- e) Añadir una gota de KMnO₄ 0.1 N, sin tocar las paredes.
- f) Cronometrar y registrar el tiempo en que tarda en desaparecer el color rosa del KMnO₄.

6.3.5 Compuestos fenólicos: método de Folin-Ciocalteu.

La concentración de fenoles totales (CFT) se mide por espectrofotometría de absorción UV-VIS con base a una reacción colorimétrica de óxido-reducción, para ello el agente oxidante que se utiliza es el reactivo de Folin-Ciocalteu (FC), 3H₂O-P₂O₅I₃WO₃-5MoO₃-10H₂O (mezcla de ácido fosfotúngstico/fosfomolibdico hexavalente).

6.3.5.1 Preparación de reactivos.

Solución estándar de ácido gálico (0.2 mg/mL): Disolver 20 miligramos de ácido gálico y aforar a 100 mililitros con agua destilada. Mantener en refrigeración y protegido de la luz.

Carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 20 %: Disolver 20 gramos de carbonato de sodio anhidro en 70 mililitros de agua caliente. Dejar enfriar y aforar a 100 mililitros con agua destilada.

6.3.5.2 Procedimiento.

Trazado de la curva de calibración.

a) A partir de la solución estándar de ácido gálico de 0.2 mg/mL, tomar alícuotas correspondientes para obtener las concentraciones seriadas (0.00625, 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 y 0.2 mg/mL).

b) A cada una se le agrega el volumen correspondiente de agua destilada para obtener las concentraciones mencionadas a un volumen final de 1 mililitro.

6.3.5.3 Preparación de las muestras.

Preparar una solución estándar de concentración 0.2 mg/mL de cada muestra de propóleos disueltos en etanol al 70%. Tomar una alícuota de 250 microlitros de ésta y agregar 750 microlitros de agua destilada para obtener una concentración de 0.05 mg/mL.

Al tener los sistemas preparados se procede de la siguiente manera:

- a) Tomar 1 mililitro de cada concentración y añadir 6 mililitros de agua destilada.
- b) Adicionar 500 microlitros de reactivo de Folin-Ciocalteu y esperar 5 minutos.
- c) Adicionar 1.5 mililitros de la solución de Na₂CO₃ y aforar con agua destilada hasta un volumen de 10 mililitros, se observará un cambio de color a azul.
- d) Esperar 2 horas a temperatura ambiente, para que se lleve a cabo la reacción y determinar la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro de absorción UV-VIS.
- e) Graficar la concentración contra la absorbancia para obtener la curva patrón de ácido gálico.
- f) Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico/g de extracto o en porcentaje (%).

6.3.6 Cuantificación de flavonoides.

El principio básico del método colorimétrico de cloruro aluminio, es que éste forma complejos estables de ácidos con el grupo cetona en C-4 o bien el grupo hidroxilo en C-3 o C-5 de flavonas y flavonoles. Además, también forma complejos lábiles ácidos con los grupos hidroxilo en el anillo A o B de los flavonoides.

6.3.6.1 Preparación de reactivos.

Solución estándar de quercetina (1 mg/mL). Pesar 10 miligramos de quercetina dihidratada y aforar a 10 mililitros de metanol grado reactivo. Conservar protegido de la luz y en refrigeración.

Tricloruro de aluminio, AlCl₃ (2 %): Disolver 2 gramos de cloruro de aluminio en agua destilada y aforar a 100 mililitros con agua destilada con mucho cuidado ya que el producto es muy corrosivo e higroscópico.

6.3.6.2 Preparación de la muestra.

Preparar una solución estándar de concentración 0.2 mg/mL de cada muestra de propóleos disueltos en etanol al 70%. Tomar una alícuota de 250 microlitros de ésta y agregar 750 microlitros de agua destilada para obtener una concentración de 0.05 mg/mL.

6.3.6.3 Procedimiento

6.3.6.3.1 Preparación de la curva de calibración:

A partir de la solución estándar de quercetina de 1 mg/mL, tomar alícuotas correspondientes para obtener concentraciones seriadas de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 µg/mL (ppm).

6.3.6.3.2 Preparación del blanco de muestra.

Tomar 1 mililitro de la solución del EEP (0.05 mg/mL) y agregar 1 mililitro de metanol grado reactivo.

Al tener todos los sistemas anteriores preparados, se procede de la siguiente manera:

a) Adicionar a cada tubo, 1 mililitro de la solución de AlCl₃, esperar 10 minutos a que se lleve a cabo la reacción y determinar la absorbancia a 415 nm por espectrofotometría de absorción UV-VIS.

b) Graficar la concentración contra la absorbancia para obtener la curva patrón de quercetina.

c) El contenido total de flavonoides se expresa como mg de equivalentes de quercetina (QE)/g de extracto o en porcentaje (%).

6.3.7 Actividad antioxidante: Método del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH•).

La reducción del DPPH• se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el DPPH• absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece. En consecuencia, la desaparición del DPPH• proporciona un índice para estimar la capacidad del EEP de prueba para atrapar radicales.

6.3.7.1 Preparación de reactivos.

Solución estándar de quercetina (1 mg/mL). Pesar 10 miligramos de quercetina y aforar a 10 mililitros con metanol grado reactivo. Conservar protegido de la luz y en refrigeración.

Solución de DPPH• (100 µM). Pesar 2 miligramos, disolver y aforar a 50 mililitros con metanol grado reactivo. Conservar protegido de la luz y en refrigeración.

6.3.7.2 Preparación de la muestra.

Pesar 10 miligramos del EEP y disolver en metanol grado reactivo, aforar a 10 mililitros.

Las concentraciones a preparar y a evaluar son en un rango de 1, 3, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 y 250 µg/mL.

Al tener los sistemas anteriores preparados se procede de la siguiente manera:

a) Colocar en tubos de ensaye, 250 microlitros de la muestra y 750 microlitros de solución de DPPH•.

b) Proteger de la luz y dejar reposar 30 minutos.

c) Determinar la absorbancia a 540 nm en un espectrofotómetro de absorción UV-VIS.

d) Como control negativo se utiliza metanol y control positivo se utiliza quercetina a las mismas condiciones que el compuesto problema.

e) Los resultados se reportan obteniendo el porcentaje de reducción y se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reducción} = (\text{Absorbancia del DPPH}\bullet) - [\text{Absorbancia de la mezcla (DPPH}\bullet + \text{compuesto problema)}] * 100$$

6.4 Para la actividad antimicrobiana.

6.4.1 Método de difusión en agar.

Esta es una prueba cualitativa que únicamente reflejará si la muestra a evaluar inhibe el crecimiento microbiano. Se evalúa la actividad antimicrobiana del extracto de los propóleos, el cual se coloca en sensidiscos y difundirá sobre la placa de agar; si hay inhibición del crecimiento del microorganismo a evaluar se observará un halo alrededor del sensidisco.

6.4.1.1 Preparación de reactivos.

Estándar No. 0.5 de MacFarland: añadir 500 microlitros de sulfato de bario (BaSO_4) y aforar a 100 mililitros de H_2SO_4 al 0.36 N.

6.4.1.2 Microorganismos de referencia.

a) Bacterias:

Staphylococcus aureus: ATCC.

Escherichia coli: ATCC.

b) Levadura:

Candida albicans: ATCC.

6.4.1.3. Medio de cultivo.

Para conservación y preparación del inóculo:

Para bacterias: Caldo Müeller-Hinton (MH).

Para levadura: Caldo Dextrosa Sabouraud (SDA).

Se prepara de acuerdo a especificaciones del proveedor.

Para el método de difusión en agar

Para bacterias y levadura: Agar Müeller-Hinton (MH) suplementado con 2 % de glucosa y 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de azul de metileno.

Se prepara de acuerdo a especificaciones del proveedor.

6.4.1.4 Preparación de la muestra.

Pesar 160 miligramos del EEP y disolver en 100 microlitros de etanol al 70 %.

6.4.1.5 Preparación de la suspensión de microorganismos.

a) Tomar una asada de las colonias sembradas del microorganismo a evaluar y sumergirla en 5 mililitros de caldo Müeller-Hinton para bacterias o caldo Sabouraud para levaduras.

b) Enjuagar bien en el líquido para descargar todo el material y retirar el asa.

c) El tubo de cultivo se incuba a 37°C / 24 horas para bacterias y para levaduras por 35°C /48 horas.

d) Ajustar la densidad del inóculo de acuerdo al tubo 0.5 del Nefelómetro de MacFarland (aproximadamente $1-5 \times 10^6$ células/mL)

e) La comparación de la turbidez se realiza a 625 nm en el espectrofotómetro y la absorbancia debe de ser entre 0.08 – 0.10.

6.4.1.6 Preparación de sensidiscos.

Se emplearán discos de papel Whatman No. 5, de 5 mm de diámetro (previamente esterilizados). Los discos se impregnarán con 10 microlitros de la solución de EEP (160 mg/100 μL) para que tengan una concentración de 16 miligramos de EEP y se dejarán secar a temperatura ambiente por 24 horas.

6.4.1.7 Procedimiento.

a) A partir del inóculo con una concentración de $1-5 \times 10^6$ UFC/ mL, realizar con un hisopo estéril un sembrado masivo sobre las placas de agar MH para bacterias y levaduras.

b) Con ayuda de una aguja estéril, colocar los sensidiscos impregnados de la muestra de los propóleos procurando dejarlo en el centro de la caja.

c) Permitir que el sensidisco se adhiera a la placa de agar, teniendo la precaución de evitar desplazamientos del disco. En caso de que se evalúen más de una muestra de EEP en la misma caja, se recomienda dejar al menos 1.5 cm de distancia entre cada sensidisco y el borde de la caja.

d) Incubar a 37°C / 24 horas para las bacterias y 35°C / 48 horas para la levadura.

e) Como control negativo se emplearán discos impregnados con 10 microlitros de etanol al 70%.

f) Como control positivo se emplearán discos de antibióticos y antifúngicos conocido de marca comercial.

6.4.1.8 Resultados.

Después del tiempo de incubación, con una regla calibrada de milímetros o de preferencia con un Vernier, medir el diámetro de los halos de inhibición y se repetirá la medición a las 48 horas para la levadura.

6.4.1.9 Interpretación.

La presencia de un halo de inhibición indica actividad antimicrobiana y se reportará el diámetro de los halos de inhibición (en mm). La ausencia de halo de inhibición indicará que no existe actividad antimicrobiana.

7.1 Evaluación de la conformidad.

La evaluación de la conformidad de los productos objeto de la presente Norma Oficial Mexicana, se llevará a cabo en laboratorios oficiales, laboratorios aprobados o autorizados por la Secretaría y en laboratorios acreditados y aprobados en los términos de lo dispuesto por la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

7.2 Los resultados emitidos por los laboratorios serán válidos para los propóleos de los productores solicitantes que provengan de un mismo lote y lugar de recolección y la vigencia de los resultados será de un año.

8. Sanciones

El incumplimiento a las disposiciones contenidas en la presente Norma, será sancionado conforme a lo establecido en la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

9. Concordancia con normas y lineamientos internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con ninguna norma internacional al momento de su elaboración.

10. Bibliografía

10.1 Catálogo Internacional de Colores <http://catalog.weidmueller.com>.

10.2 Diario Oficial da República Federativa do Brasil. (2001). Ministerio de Agricultura e do Abastecimento. Instrução normativa No. 3, de 19 de janeiro da 2001. Seção1, p. 18-23. Recuperado el 23 de junio de 2011 de www.extranet.agricultura.com.br

10.3 Norma Argentina, Instituto Argentino de Normalización (2008). Normas IRAM-INTA 15935-1, Parte 1: Propóleos en bruto.

10.4 Norma Argentina, Instituto Argentino de Normalización (2008). Normas IRAM-INTA 15935-2, Parte 2. Extractos de propóleos.

10.5 Norma Ramal Cubana (1994). Propóleos Materia Prima. Especificaciones. Apicultura NRAG-1135-94. Ministerio de Agricultura. La Habana, Cuba.

10.6 Norma Ramal Cubana (1994). Extracto fluido y extracto blando, NRAG 1129 Ministerio de Agricultura. La Habana, Cuba.

10.7 Norma Rusa (1977). Propóleos. Métodos analíticos para el control de su calidad.

10.8 Norma Ramal Rusa RST-RSFSR-317-77. Diario Oficial de San Salvador. (2003).

10.9 Norma Salvadoreña Obligatoria NSO 65.19.02.03: Calidad de propóleo crudo. Recuperada el 15 de enero de 2013 de <http://faolex.fao.org>

10.10 González Guerra, A. (1997). Propóleos: un camino hacia la salud. La Habana, Cuba: Pablo de la Torre.

10.11 Rodríguez Pérez, B. (2015). Perfil químico de propóleos mexicanos para su aplicación en medicina veterinaria. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

10.12 Bankova, Vassia, *et al.*, (2016). Standard methods for *Apis mellifera* propolis research, Journal of Apicultural Research, DOI: 10.1080/00218839.2016.1222661.

11. Disposiciones transitorias

Artículo único. La presente Norma Oficial Mexicana, entrará en vigor a los 180 días siguientes al de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Ciudad de México, a 31 de agosto de 2017.- El Director General de Normalización Agroalimentaria de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, **Juan José Linares Martínez**.- Rúbrica.

NORMA Oficial Mexicana NOM-003-SAG/GAN-2017, Propóleos, producción y especificaciones para su procesamiento. Disponible en el siguiente link: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5500103&fecha=06/10/2017

5.4.4 NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.

Disponible en el siguiente link: https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5259329&fecha=13/07/2012

5.4.5 NORMA Oficial Mexicana NOM-037-SSA2-2002, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.

Disponible en el siguiente link: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/037ssa202.html>