

Potencial acción ateroprotectora de algunos productos apícolas

Yoelsis Garcia-Mayea, Ariadna Costa-Mugica*, Dianelis Mondéjar-Álvarez**, Alexis Vidal-Novoa*.

*Dpto. Bioquímica, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, calle 25, entre calles I y J. Vedado, La Habana, Cuba.

**Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos, Calzada de Infanta 1158, La Habana, Cuba.

Departamento de Genética, Centro de Investigaciones Apícolas, El Cano. Arroyo Arenas. La Lisa, La Habana, Cuba. Código Postal : 19190 yogamayea@eeapi.cu; ygmayea@yahoo.com

Recibido: 2 de diciembre de 2011.

Aceptado: 14 de marzo de 2012.

Palabras clave: enfermedades cardiovasculares, LDL, antioxidantes, mieles específicas, propóleos, polen apícola, aterosclerosis, estrés oxidativo.
Key words: cardiovascular disease, LDL, antioxidants, specific honeys, propolis, bee pollen, atherosclerosis, oxidative stress.

RESUMEN. La aterosclerosis es una enfermedad crónica, de carácter multifactorial y etiología compleja que constituye la principal causa de muerte en países occidentales y en Cuba. En las fases iniciales ocurre la retención de lipoproteínas aterogénicas en la capa íntima arterial, donde se favorecen sus modificaciones oxidativas e hidrolíticas y consecuentemente, se modifican sus propiedades biológicas y la homeostasis de la pared arterial a nivel focal. El estrés oxidativo puede ser definido como una alteración en el balance pro-oxidantes/antioxidantes a favor de los oxidantes y se ha reportado que está asociado positivamente con la progresión de la enfermedad. Un suministro adecuado de alimentos o extractos naturales ricos en compuestos antioxidantes o de ambos son una buena alternativa para su modulación. Los productos apícolas (mieles, propóleos y polen) de diferentes orígenes geográficos (incluyendo Cuba) son ricos en compuestos antioxidantes (enzimas, algunas vitaminas, aminoácidos y polifenoles), aunque su composición y concentración depende fundamentalmente de su origen botánico. Debido a que estos productos podrían proteger al organismo del estrés oxidativo mediante la creación de una barrera potencialmente antioxidante, su evaluación como potenciales agentes ateroprotectores es de gran interés científico. En este sentido, numerosos estudios demuestran la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes en cantidades considerables en mieles, propóleos y polen apícola de Cuba y otros países y brindan evidencias de sus potenciales efectos ateroprotectores.

ABSTRACT. Atherosclerosis is a chronic disease of complex etiology, with multifactorial character and complex etiology that constitutes the main cause of mortality in occidental countries and Cuba. In the initial phases occurs the atherogenic lipoproteins retention in the arterial intima, where oxidative and hydrolytic changes are favored and consequently alter their biological properties and homeostasis of the arterial wall at focal level. Oxidative stress can be defined as an alteration in the balance of pro-oxidants/anti-oxidants, with a predominance of pro-oxidants. It has been reported that it is positively associated with disease progression. An appropriate supply of foods and/or natural extracts rich in antioxidants are a good alternative for its modulation. Bee products (honeys, propolis and pollen) of different geographical origins (including Cuba) are rich in antioxidant compounds (enzymes, some vitamins, amino acids and polyphenols) but its composition and concentration depend mainly of its botanical origin. Because these products may protect the body from oxidative stress through the creation of a potentially antioxidant barrier, its evaluation as potential atheroprotective agents is of great scientific interest. In this sense, numerous studies demonstrate the presence of compounds with antioxidant properties in considerable quantities in honeys, propolis and bee pollen of Cuba and other countries and their potential atheroprotective effects.

INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es una enfermedad crónica fibroproliferativa, de carácter multifactorial, en la que el estrés oxidativo y la inflamación son procesos esenciales que contribuyen a su avance.¹ Se caracteriza por la acumulación de lípidos y elementos fibrosos en las grandes arterias y la intervención de múltiples células del sistema inmunitario (monocitos, macrófagos, mastocitos, células dendríticas, linfocitos T y células T citotóxicas naturales) y de la pared vascular (células endoteliales, células musculares lisas y fibroblastos). La enfermedad comienza en la vida fetal, progresa lentamente durante la niñez y la adolescencia, y acelera su desarrollo en la vida adulta.² Puede llegar a causar eventos clínicos fatales tales como: infarto del miocardio, infarto cerebral y trombosis, con amputación de algún miembro.³ Actualmente constituye la principal causa de muerte en Estados Unidos, Europa, muchos países de Asia y Cuba^{4,5} y se cree que la enfermedad se torne global en los próximos 10 años debido a su incremento vertiginoso en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo, por el aumento de factores de riesgo metabólicos asociados, como la presencia de síndrome metabólico y la diabetes.^{6,7}

La fase inicial de la aterosclerosis involucra la retención de lipoproteínas aterogénicas en la íntima arterial, proceso que favorece modificaciones oxidativas e hidrolíticas que alteran sus propiedades biológicas.⁸ El estrés oxidativo es factor causal esencial en todos sus estadios, incidiendo desde el inicio mediante la modificación oxidativa de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) hasta la activación y agregación plaquetaria que precipitan la aterotrombosis.^{9,10}

Lo anterior justifica que la modulación de la enfermedad mediante la manipulación de la dieta y el tratamiento farmacológico constituya una prioridad de los sistemas de salud en la actualidad.¹ Entre las alternativas más interesantes en este sentido, se encuentran los antioxidantes, los cuales han atraído considerable atención como agentes moduladores del estrés oxidativo asociado al avance de las lesiones.¹¹⁻¹³

Dentro de la búsqueda de antioxidantes más potentes y que adicionalmente no tengan efectos nocivos para la salud humana, existe un creciente interés por los extractos de origen natural obtenidos a partir de diferentes fuentes. En este sentido, se han estudiado las propiedades beneficiosas de extractos de vegetales y frutales como fuentes de antioxidantes naturales, lo que justifica la estimulación a su consumo para una alimentación más sana.¹⁴ Todos ellos presentan una amplia variedad de antioxidantes como β -caroteno, licopeno, ascorbato, vitamina E y polifenoles.¹⁵ Las evidencias epidemiológicas indican que existe una correlación inversa entre el consumo de comidas ricas en compuestos fenólicos y la incidencia de enfermedades cardiovasculares.¹⁶ Su mecanismo de acción está relacionado con la capacidad de unirse a polímeros biológicos (enzimas, transportadores de hormonas y ADN), quelar iones metálicos de transición, catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres.¹⁷

Asimismo, se sabe que la mayoría de los productos apícolas (mieles, propóleo, polen) de diferentes orígenes geográficos (incluyendo Cuba) son ricos en compuestos antioxidantes.^{14,18-22} Esto estimula la evaluación de algunos productos apícolas cubanos en beneficio de la salud humana, específicamente como agentes ateroprotectores, debido a que su consumo podría proteger al organismo del estrés oxidativo mediante la creación de una barrera potencialmente antioxidante.²³

El presente trabajo se propuso exponer el posible uso de algunos productos apícolas ricos en antioxidantes naturales en la modulación de la aterosclerosis, a partir de la relación existente entre el estrés oxidativo y el desarrollo de esta enfermedad. A su vez, la caracterización de la actividad antioxidante y ateroprotectora de estos productos de amplia demanda nacional e internacional, les daría valor agregado y contribuiría a su mejor comercialización.

LA LESIÓN ATEROSCLERÓTICA

Las lesiones ateroscleróticas se caracterizan por la formación de placas en el árbol arterial. Estas consisten en lesiones focales de la capa íntima, con acumulación de lípidos, fibrosis e inflamación.²⁴ En sus formas avanzadas exhiben una microanatomía particular: una capa fibrosa de tejido conectivo, con acumulación de restos necróticos, lípidos intra y extracelulares, mezclados con linfocitos T, macrófagos y células musculares lisas.²⁵ Usualmente estas lesiones conducen a un estrechamiento de la luz del vaso que puede comprometer el flujo sanguíneo a través de este.¹⁰

ALGUNAS HIPÓTESIS ACERCA DEL SURGIMIENTO DE LA ENFERMEDAD

Aún cuando los eventos que inician la formación de la estría adiposa (lesión más temprana de la enfermedad) no están del todo esclarecidos, se han formulado varias hipótesis que tratan de explicarlos.²⁶ Aunque no son mutuamente excluyentes, hacen énfasis en determinados eventos como necesarios y suficientes para desencadenar las lesiones ateroscleróticas. La hipótesis de la respuesta a la retención enfatiza la interacción de las LDL con los proteoglicanos de la matriz extracelular de la íntima arterial como causante de las lesiones, mientras que la hipótesis de las modificaciones oxidativas realza el papel de la oxidación de las LDL como evento desencadenante esencial en la progresión de la enfermedad.^{9,27,28}

Hipótesis de la respuesta a la retención de las LDL

La íntima arterial (donde se inicia la lesión) está constituida por una densa red tridimensional de elementos electronegativos: los proteoglicanos. Se plantea que las LDL, en su tránsito normal por la íntima, pueden interactuar con ellos mediante atracciones electrostáticas mediadas por secuencias aminoácidas positivas específicas en la apolipoproteína B-100 (ApoB-100).²⁹ Esto aumenta el tiempo de retención de las LDL en la íntima arterial, facilitando sus modificaciones oxidativas e hidrolíticas, lo cual conduce a cambios importantes desde el punto de vista funcional.³⁰ Las LDL resultan factores quimiotácticos para monocitos que se diferencian a macrófagos, lo cuales comienzan a internalizarlas de forma no regulada a través de sus receptores basurero (RB), con la consecuente acumulación de colesterol intracelular y formación de las llamadas células espumosas. Este proceso conduce a la formación de la estría adiposa.²⁵

De esta forma, se desarrolla una secuencia de eventos de retención y modificación de las LDL en la matriz extracelular, seguido de proliferación de células e inflamación del tejido. Estos eventos constituyen un proceso cíclico que conduce al progreso crónico de las lesiones ateroscleróticas.³¹

Hipótesis de las modificaciones oxidativas

La presentación de esta hipótesis hace más de 20 años representó un hito en el campo de la investigación básica y aplicada en la aterosclerosis.³² Contribuyó considerablemente a postular el mecanismo de iniciación de la lesión y fue la primera en establecer un nexo directo entre las LDL y la aterogénesis, sustentando la aceptación de la hipercolesterolemia como un factor causante de la enfermedad coronaria.⁹ Desde su postulación y hasta la fecha ha sido motivo de polémica en la comunidad científica y constantemente salen a la luz nuevas evidencias en relación con su importancia en la progresión de la enfermedad.³²⁻³⁶

La hipótesis de las modificaciones oxidativas se centra en el concepto de que la oxidación de las LDL es un evento desencadenante en la aterosclerosis. Uno de sus aportes más acertados es la vinculación de la oxidación de la partícula al reconocimiento por los RB de los macrófagos y la consecuente formación de las células espumosas.^{34,36,37}

Las LDL pueden sufrir alrededor de 100 modificaciones diferentes, muchas de las cuales son reconocidas como epítopes específicos de oxidación por los RB de los macrófagos, a la vez que constituyen buenos inmunógenos para los componentes de la inmunidad innata y adquirida.^{33,38} Sus fosfolípidos oxidados son capaces de modificar proteínas y otros lípidos, no solo en las LDL, sino también, en otros componentes celulares y extracelulares.^{7,38}

MODIFICACIONES OXIDATIVAS EN LA VASCULATURA RELACIONADAS CON LA GENERACIÓN DE LAS LDLOX: PAPEL DE LAS ESPECIES OXIDANTES

De forma general, el estrés oxidativo se define como una alteración en el balance pro-oxidantes/antioxidantes a favor de los oxidantes, que son los causantes del daño que ocurre en esas circunstancias.³⁹ Entre las características que lo definen está: el incremento en la formación de especies reactivas del oxígeno (ERO), de especies reactivas del nitrógeno (ERN) y el daño a biomoléculas celulares (fundamentalmente a proteínas, lípidos y ADN).⁴⁰

Dentro del grupo de las ERO se incluyen tanto los radicales del oxígeno (superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxilo (OH^{\cdot}), peroxi (RO_2^{\cdot}) y alcoxi (RO^{\cdot}) como oxidantes no radicalarios (ácido hipocloroso ($HOCl$), ozono,⁴¹ peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$), oxígeno en estado de singlete (1O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2)). Por otra parte, las ERN incluyen el radical del óxido nítrico (NO^{\cdot}), el radical del dióxido de nitrógeno (NO_2^{\cdot}) y otros óxidos de nitrógeno, así como productos derivados de la reacción química del NO^{\cdot} con el $O_2^{\cdot-}$ o con otras moléculas (los radicales RO_2^{\cdot} y RO^{\cdot}).⁴²

Las especies reactivas exhiben diferente grado de reactividad, por ejemplo, el $ONOO^{\cdot}$ y el OH^{\cdot} generan ambientes poderosamente oxidantes mientras que el H_2O_2 se considera un oxidante más débil. Asimismo, las especies oxidantes no radicalarias tienden a reaccionar preferencialmente con proteínas, mientras que las radicalarias son las que comúnmente inician el proceso de peroxidación lipídica.⁴³ El estrés oxidativo local está involucrado en la actividad de la placa y en su progresión hacia una forma más vulnerable.¹⁰

Las LDL están formadas por un núcleo hidrofóbico de ésteres de colesterol y triacilglicéridos rodeados por una monocapa externa que se compone de fosfolípidos, colesterol libre y niveles variables de antioxidantes y estabilizada por una molécula de ApoB-100 que rodea la partícula lipídica. Se consideran agregados complejos con infinidad de productos susceptibles a la oxidación.^{9,44,45}

Con independencia de la especie iniciadora, una vez que comienza la oxidación de las LDL mediada por radicales libres, la lipoperoxidación en cadena procede. Primariamente, se forman los hidroperóxidos lipídicos, los que a su vez generan un grupo de productos finales que incluyen hidróxidos, cetonas y aldehídos.^{9,46}

La lipoperoxidación es una reacción en cadena que se inicia cuando un radical suficientemente reactivo (como el radical OH^{\cdot}) abstrae un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado. El radical lipoxil (L^{\cdot}) resultante rápidamente se adiciona a un O_2 para generar un radical lipoperoxil (LOO^{\cdot}) que puede propagar a su vez la reacción en cadena al generar otro radical L^{\cdot} y un hidroperóxido lipídico ($LOOH$) (Fig. 1). De esta manera, por cada radical iniciante se generan muchos $LOOH$.

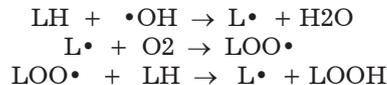


Fig.1. Proceso de lipoperoxidación mediada por radicales libres.⁴⁷

Varios tipos celulares de las paredes vasculares, como macrófagos, células musculares lisas y células endoteliales, son capaces de modificar a las LDL, lo que aumenta la susceptibilidad de estas partículas a la posterior internalización por los macrófagos. Su oxidación in vivo está influenciada tanto por su composición (factores intrínsecos) como por el microambiente en el cual se encuentren (factores extrínsecos),⁴⁸ estando involucradas tanto reacciones oxidativas enzimáticas como no enzimáticas. Varios autores coinciden en que su sitio de oxidación es el espacio subendotelial, sobre todo, por el elevado contenido de antioxidantes y proteínas queladoras de iones metálicos existentes en el plasma.¹⁰

Varias enzimas han sido consideradas fuentes de metabolitos oxidantes en células de la pared arterial. Entre ellas, se pueden citar las NAD(P)H oxidasas (principal fuente de ERO en la vasculatura),⁴⁹ las óxido nítrico sintasas,⁵⁰ la xantina oxidasa,⁵¹ oxigenasas de la respiración mitocondrial,⁵² mieloperoxidasas,⁵³ y lipoxigenasas.⁵⁴

Múltiples efectos proaterogénicos de las LDLox han sido reportados cuya acción está en dependencia del grado de oxidación de la partícula: pueden atraer monocitos e inducir su adhesión al endotelio, promover la formación de células espumosas, dañar células (por vías necróticas y apoptóticas), inducir la migración y la proliferación de las células musculares lisas, promover disfunción endotelial y propiedades procoagulantes de las células vasculares.^{9,13,55,56}

ESTADO ANTIOXIDANTE EN LA VASCULATURA

Un inefectivo sistema de defensa antioxidante conduce a estrés oxidativo excesivo que finalmente causa daño celular. Por tanto, este sistema de defensa es importante tanto para proteger a las células de las lesiones del estrés oxidativo como para inhibir la oxidación de las LDL en la matriz extracelular de la íntima arterial.^{10,57}

Los principales antioxidantes de los sistemas biológicos están presentes también en las paredes vasculares y se pueden clasificar en antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Dentro del primer grupo se incluyen la superóxido dismutasa, la catalasa, la glutatión peroxidasa y la transferasa. Muchas de estas enzimas antioxidantes están presentes en las arterias normales, probablemente dentro de las células vasculares, pues el fluido extracelular carece normalmente de antioxidantes enzimáticos. Por otra parte, los antioxidantes no enzimáticos son compuestos de bajo peso molecular que pueden provenir de la dieta o ser sintetizados endógenamente, a su vez, se pueden subdividir en hidrosolubles y liposolubles.⁵⁸ Los antioxidantes no enzimáticos hidrosolubles incluyen compuestos endógenos como el glutatión, el ácido úrico y la bilirrubina, así como compuestos derivados de la dieta como la vitamina C y una gran variedad de polifenoles. Estos últimos están despertando un creciente interés en el

campo de la aterosclerosis por sus efectos positivos sobre la función vascular, asociado a su elevada capacidad para neutralizar ERO, lo que está muy relacionado con su estructura - dobles enlaces conjugados y grupos hidroxilos en anillos aromáticos.^{59,60} Los antioxidantes liposolubles incluyen la vitamina E, el ubiquinol y el β -caroteno que se transportan por las partículas de LDL.⁴⁴

Aunque se ha informado que las concentraciones de los antioxidantes enzimáticos están alteradas en las enfermedades vasculares, los resultados reportados son contradictorios con respecto a su presencia en las lesiones y su papel en la progresión de la enfermedad. Por otro lado, las evidencias sugieren que las alteraciones en los antioxidantes no enzimáticos extracelulares sí tienen un papel fundamental en este sentido.^{61,62} La acción antioxidante de la vitamina C resulta particularmente interesante en este contexto. Su capacidad de regenerar la vitamina E es un mecanismo bien establecido que protege de la oxidación a esta última en membranas y micelas. En el caso de las LDL, cobra mayor importancia al evitar la acción prooxidante de la vitamina E. Los alentadores resultados obtenidos en la modulación de la aterogénesis mediante la manipulación de coantioxidantes de la dieta indican que esta puede resultar una estrategia útil para inhibir la oxidación de lipoproteínas en la pared arterial.^{63,64}

Asimismo, varios modelos animales sugieren que cuando el sistema antioxidante endógeno se encuentra deprimido, el suplemento de antioxidantes exógenos puede ser útil para prevenir y/o intervenir terapéuticamente desórdenes cardiovasculares oxidativos,^{65,66} ya que la oxidación de las LDL y la progresión de las lesiones están asociadas a la carencia local de estos compuestos.^{11,59}

ALGUNOS PRODUCTOS APÍCOLAS, SU POTENCIAL ACCIÓN ATEROPROTECTORA

Mieles

La relación entre las abejas y el hombre se remonta a la Edad de Piedra, quizás debido a que la miel de abejas era el único edulcorante disponible en la antigüedad. No fue hasta principios del siglo XIX que la producción de azúcar industrial comenzó a reemplazarla en este sentido.

Las abejas elaboran la miel a partir de néctar floral predominante o combinándolo con exudados de las plantas. Se le llama en este último caso, miel de áfidos o melatos. La primera escritura sobre la miel de abeja se encontró en Sumeria, antigua Mesopotamia, y data del 2100-2000 AC.^{67,68} Las culturas antiguas la usaban con propósitos nutricionales y médicos.^{69,70} Entre las principales propiedades medicinales que se les ha conferido están: efecto anestésico, cicatrizante, humectante, bactericida, antioxidante y antiinflamatorios, además, reducen la formación de exudados más rápidamente que los tratamientos estándares.⁷¹⁻⁷³ Estas propiedades también les han sido reconocidas a mieles de Cuba en recientes estudios clínicos, en los que han sido utilizadas con éxito en el tratamiento de pacientes con heridas infectadas, sin necesidad de ser combinadas con agentes antimicrobianos o sustancias estimulantes para reparar estas lesiones.^{74,75}

La miel puede ser definida como una disolución sobresaturada de azúcares, minerales, proteínas, aminoácidos libres, enzimas y vitaminas,^{76,77} pero su composición y concentración, y por tanto sus propiedades, dependen principalmente de la(s) fuente(s) floral(es) de su procedencia, de la estación del año en que es colectada, de factores ambientales y de su posterior procesamiento y almacenamiento.^{12,71} Esto hace que cada muestra de miel "específica" tomada en un apiario determinado sea prácticamente única. No obstante, esta variabilidad puede reducirse considerablemente debido a que muchas plantas melíferas son estacionales y con un adecuado diseño de muestreo que estandarice el procesamiento y almacenamiento puede lograrse que el origen botánico de las mieles sea el factor de variación más influyente.

Al menos 181 sustancias han sido encontradas en las mieles,⁷⁸ de las cuales, algunas como los polifenoles (ácidos fenólicos y flavonoides), ciertas enzimas (glucosa oxidasa y catalasa), algunas vitaminas (vitamina C) y aminoácidos, tienen propiedades antioxidantes.^{63,71,79-83} Son varios los estudios que brindan evidencias sobre la capacidad antioxidante que poseen algunas mieles específicas, por ejemplo: son capaces de absorber ERO e inhibir la oxidación in vitro mediada por cobre de las LDL; las mieles oscuras muestran una capacidad de absorción de ERO significativamente mayor que las claras, lo que está directamente relacionado con su contenido de fenoles;^{14,84} dosis diarias de 1,2-1,5 g de miel/g de peso corporal aumentan la capacidad antioxidante y reductora del suero de sujetos sanos,⁸⁵ así como las concentraciones sanguíneas de vitamina C (en un 47 %), caroteno (en un 3 %) y glutatión reductasa (en un 7 %);²³ asimismo, dosis diarias de 70 g de miel por 30 d consecutivos (N = 55 sujetos experimentales) provocaron una disminución significativa de las concentraciones de colesterol total, colesterol asociado a LDL y peso corporal (clásicos factores de riesgo de la aterosclerosis), así como un aumento de las de colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) (lipoproteína que realiza el transporte reverso de colesterol y es considerada ateroprotectora), tanto en personas "sanas" como en pacientes con estas variables alteradas.⁸⁶ Según Khalil y Sulaiman (2010) los compuestos antioxidantes presentes en las mieles (sobre todo, los polifenoles) son útiles en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Ej. enfermedades en las arterias coronarias), ya que presentan efectos antitrombóticos, antiisquémicos y vasodilatadores.⁸⁷⁻⁸⁹ Las evidencias anteriores sugieren que el consumo de dosis adecuadas de mieles (preferiblemente oscuras) provocan un efecto ateroprotector sistémico que reduce significativamente los principales factores de riesgo de la enfermedad, lo cual podría estar positivamente asociado con el potencial antioxidante de dichas mieles.

En un estudio realizado con mieles monoflorales cubanas provenientes de distintas zonas geográficas de la región central de Cuba, se incluyeron mieles de campanilla blanca [*Turbina corymbosa* (L.) Raf.] (CB), campanilla morada [*Ipomoea triloba* L.] (CM), Leñatero [*Govania polygama* (Jack) Urb] (LÑ), Soplillo [*Lysiloma latisiquum* (L.) Benth] (SP), mangle prieto [*Avicennia germinans* Jacq] (MP) y una miel artificial (MA) elaborada solo con los azúcares más abundantes existentes en las mieles y en las proporciones adecuadas, disueltos en agua destilada. Todas las muestras evaluadas presentaron actividad antirradicalaria contra 2,2-Difenil-1-picrilhidracil (DPPH) y los radicales superóxidos ($O_2^{\cdot-}$), pero en este sentido, las mieles de LÑ y CB representaron los límites superior e inferior respectivamente. En el caso de la capacidad de eliminación de $O_2^{\cdot-}$ se encontró una asociación positiva

con la concentración de las mieles utilizadas en los ensayos. En la eliminación de radicales OH^{\cdot} las mieles más eficientes fueron SP y LÑ, seguidas por MP y CB, la CM y la MA fueron las menos eficientes (Fig. 2).

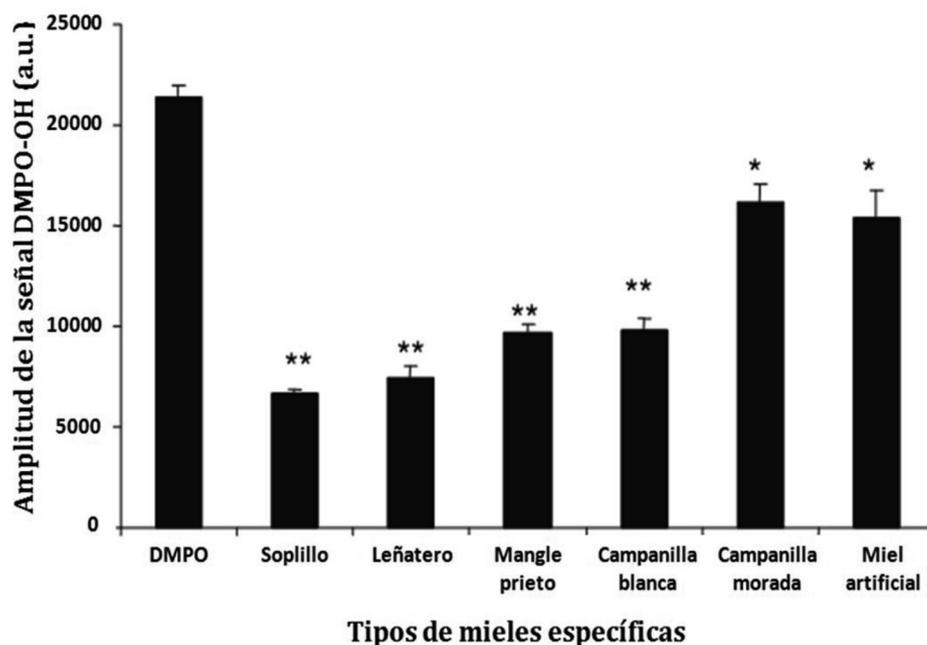


Fig. 2. Actividad anti OH^{\cdot} de cinco tipos de mieles específicas colectadas en diferentes puntos geográficos de la región central de Cuba. La amplitud de la señal (a.u.) del control positivo (Reacción de Fenton) fue comparada con la amplitud de las señales correspondientes a los aductos DMPO-OH detectados en presencia de cada una de las muestras de mieles. Las barras de error se refieren a la desviación estándar; * Diferencias significativas entre la muestra y el control con $p < 0,05$; ** Diferencias significativas entre la muestra y el control con $p < 0,01$.

Como era de esperarse las mieles de LÑ presentaron las mayores concentraciones de antioxidantes totales y la mayor capacidad protectora frente a los procesos de peroxidación lipídica, mientras que las de CB presentaron concentraciones significativamente inferiores de antioxidantes y de protección contra la lipoperoxidación, con respecto al resto de las mieles analizadas, las que mostraron valores intermedios.⁹⁰

Asimismo, una correlación positiva fue encontrada entre el contenido de antioxidantes y la actividad antirradiación contra DPPH, lo que está en concordancia con lo encontrado por Meda y cols.⁹¹ y sugiere que la actividad antioxidante de las mieles monoflorales cubanas, y su posible efecto ateroprotector, podría ser similar a la reportada para mieles de otras áreas geográficas.

Propóleos

El propóleo es una resina cerosa, de composición compleja y consistencia viscosa, que las abejas elaboran a partir de partículas resinosas de diferentes plantas y utilizan en la construcción, reparación y protección de la colmena.⁹² La mayor parte del propóleo en Venezuela y Cuba proviene de las resinas florales de plantas representantes del género *Clusia*,⁹³ pero en otras zonas tropicales se obtiene de otros géneros y familias de plantas.⁹⁴

Del propóleo se han aislado más de 180 compuestos. Sus principales componentes son resinas y bálsamos que contienen flavonoides y ácidos fenólicos o sus ésteres (50 %), contenidos muy variables de ceras (7,5 a 35 %), aceites volátiles (10 %), polen (5 %) e impurezas (4,4 a 19,5 %). Además, contienen pequeñas cantidades de terpenos, taninos, restos de la secreción de las glándulas salivares de las abejas y algunos contaminantes. Los principales compuestos activos son los flavonoides: flavonas, flavonoles, flavononas y flavononoles. Debe señalarse que la mayoría de los estudios no pretenden determinar su composición química completa, si no algunos componentes de interés, en especial los flavonoides.

El propóleo ha sido ampliamente utilizado desde la antigüedad con diversas finalidades. Actualmente, se investigan los efectos y posibles usos del propóleo en biología y medicina, destacando su uso como suplemento dietético y en la industria farmacéutica. Es un producto de extraordinario interés al que se le atribuyen efectos antiinflamatorios, inmunoestimulantes, hepatoprotectores, carcinoestáticos, antimicrobianos, antivirales, antifúngicos, antiprotozoarios, anestésicos y de regeneración tisular.^{22,95-97}

Otra de las magníficas propiedades del propóleo es su actividad antioxidante. Es una fuente natural de antioxidantes que protegen a las lipoproteínas séricas de la oxidación.⁹⁸ Estas propiedades se deben a su actividad antirradiación (contra los radicales alcoxil y, en menor grado, superóxido) y a la acción quelante que ejercen sobre los iones cobre, los que están relacionados con la oxidación de las LDL en lesiones avanzadas.^{99,100} Se ha reportado que algunos propóleos ejercen sus efectos antioxidantes en el colon, disminuyendo la concentración de hidroperóxidos lipídicos y, como algunos de sus componentes se absorben y pasan a la circulación, actúan como antioxidantes hidrofílicos a la vez que aumentan la concentración tisular de vitamina C.¹⁰¹ En pacientes con episodios isquémicos

el propóleo parece reducir el riesgo de accidentes cerebro-vasculares.¹⁰²

En un estudio realizado con muestras de propóleo de la región de Manzanillo, Cuba, se encontró que no presentaron actividad antirradicalaria contra los radicales $O_2^{\cdot-}$ a las concentraciones ensayadas, sin embargo, sí actuaron sobre los radicales OH^{\cdot} y fueron capaces de quelar hierro e inhibir la lipoperoxidación mediada por metales o no.¹⁰³ Igualmente otras muestras de este producto natural cubano han sido usadas con resultados positivos en la curación de heridas sépticas faciales,¹⁰⁴ y han brindado evidencias de su actividad antiinflamatoria y analgésica.¹⁰⁵ Propiedades inmunoestimulantes y radioprotectoras de los propóleos cubanos fueron encontradas por Suárez y cols. (2000), los que sugirieron que dichos efectos beneficiosos podrían ser consecuencia de la actividad antioxidante y secuestradora de radicales libres del producto.¹⁰⁶

Polen

Otro de los productos apícolas de gran interés por su uso como suplemento nutricional (debido a su gran contenido proteico) y antioxidante natural es el polen o pan de abejas, como también se le conoce.¹⁰⁷ Un estudio realizado con polen apícola de 12 especies de plantas evidenció una elevada variabilidad en el contenido de fenoles (aproximadamente entre 400 y 2 300 mg de fenilpropanoides por cada 100 g de polen), así como una capacidad antioxidante total (medida como inhibición de la peroxidación lipídica) positivamente asociada a la concentración de fenilpropanoides.¹⁸ A pesar de no existir estudios previos sobre el potencial antioxidante de muestras de polen apícola de Cuba, se considera que debe mostrar propiedades similares a las reportadas para muestras de otros países, ya que recientes análisis han mostrado que presentan una composición similar, con una concentración de proteínas elevada.¹⁰⁸⁻¹¹⁴

CONCLUSIONES

Dada la gran cantidad de sustancias oxidantes descritas en la vasculatura arterial y su efecto sobre la oxidación de las LDL, principal lipoproteína aterogénica, la estrategia actual de muchos grupos de investigación relacionados con el estudio de la aterosclerosis se basa en la modulación del balance oxidantes/antioxidantes a favor de estos últimos. El consumo de antioxidantes está inversamente asociado con la incidencia de enfermedades cardiovasculares. En este sentido, el trabajo con productos apícolas de diferentes orígenes geográficos (incluyendo Cuba) como fuente de antioxidantes naturales es un tema de interés. Numerosos estudios demuestran la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes en cantidades considerables en mieles, propóleos y polen apícola y brindan evidencias de sus potenciales efectos ateroprotectores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lee S, Park Y, Zuidema MY, Hannink M, Zhang C. Effects of intervention on oxidative stress and inflammation of cardiovascular diseases. *World J Cardiol.* 2011;3(1):18-24.
- Fernández-Britto JE. La lesión aterosclerótica: estado del arte a las puertas del siglo XXI. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1998;17(2):112-127.
- Greaves DR, Gordon S. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *Trends Immunol.* 2001;22(4):180-181.
- MINSAP Anuario Estadístico, 2010. Available at: <http://files.sld.cu/dne/files/2011/04/anuario-2010-e-sin-graficos1.pdf>, February 10th, 2011.
- Organización-Mundial-de-la-Salud. Top ten causes of death, 2008. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html>, February 10th, 2011.
- Hansson GK, Robertson A-KL, Söderberg-Nauclér C. Inflammation and Atherosclerosis. *The Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease.* 2006;1:297-329.
- Hartvigsen K, Chou MY, Hansen LF, Shaw PX, Tsimikas S, Binder CJ, Witztum JL. The role of innate immunity in atherogenesis. *J Lipid Res.* 2009;50:388-393.
- Hurt-Camejo E, Camejo G. Why are plasma apoB lipoproteins atherogenic? The hypothesis of response to retention. *Invest Clin.* 2001;42(1):43-73.
- Chisolm GM, Steinberg D. The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radical Biology & Medicine.* 2000;28(12):1815-1826.
- Stocker R, Keaney JFJ. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004;84:1381-1478.
- Nogushi N. Novel insights into the molecular mechanisms of the antiatherosclerotic properties of antioxidants: the alternatives to radical scavenging. *Free Radical Biology & Medicine.* 2002;33(11):1480-1489.
- Pérez-Jiménez J, Serrano J, Taberner M, Arranz S, Díaz-Rubio ME, García-Diz L, Goñi I, Saura-Calixto F. Bioavailability of phenolic antioxidants associated with dietary fiber: Plasma antioxidant capacity after acute and long-term intake in human. *Plant Foods Hum Nutr.* 2009;64:102-107.
- Steinberg D. An interpretive history of the cholesterol controversy, part V: The discovery of the statins and the end of the controversy. *J Lipid Res.* 2006;47:1339-1351.
- Gheldof N, Engeseth NJ. Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples. *J. Agric. Food Chem.* 2002;50(10):3050-3055.
- Larson RA. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry.* 1988;27(4) 969-978.
- Karakaya S. Bioavailability of Phenolic Compounds. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2004;44(6):453-464.
- Saskia ABE, Van A, Bast AALT. Structural Aspects of Antioxidant Activity of Flavonoids. En: *Flavonoids in health and Disease.* Ed Marcel Dekker, Inc. New York. 1998 9:221-251.
- Leja M, Mareczek A, G. Wyzgolik, Klepacz-Baniak J, Czekonska K. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry* 2007;100:237-240.
- Aljadi AM, Kamaruddin MY. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry.* 2004;85:513-518.
- Al-Mamari M, Al-Meerri A, Al-Habori M. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research.* 2002;22:1041-1047.
- Hegazi AG, El-Hady FK. Influence of Honey on the Suppression of Human Low Density Lipoprotein (LDL) Peroxidation (in vitro). *Evid Based Complement Alternat Med.* 2009;6(1):113-121.

22. Farré R, Frasqueti I, Sánchez A. El própolis y la salud. *Ars Pharmaceutica*. 2004;45(1):21-43.
23. Al-Waili NS. Effects of daily consumption of honey solution on hematological indices and blood levels of minerals and enzymes in normal individuals. *J Med Food*. 2003;6:135-140.
24. Nilsson J, Hansson GK. Autoimmunity in atherosclerosis: a protective response losing control? *J Intern Med*. 2008;263(5):464-478.
25. Ross R, Fuster V. The pathogenesis of atherosclerosis. En: *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*. (eds) Fuster, V; R. Ross y E. Topol. J. Lippincott Raven Publishers, Philadelphia: 1996.
26. Andersson J, Libby P, Hansson GK. Adaptive immunity and atherosclerosis. *Clinical Immunology*. 2010;134:33-46.
27. Tannock LR, King VL. Proteoglycan mediated lipoprotein retention: a mechanism of diabetic atherosclerosis. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008;9(4):289-300.
28. Nakashima Y, Wight TN. Early atherosclerosis in humans: role of diffuse intimal thickening and extracellular matrix proteoglycans. *Cardiovasc Res*. 2008;79(1):14-23.
29. Borén J, Olin K, Lee I, Chait A, Wight TN, Innerarity TL. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *J Clin Invest*. 1998;101:2658-2664.
30. Nakajima K, Nakano T, Tanaka A. The oxidative modification hypothesis of atherosclerosis: The comparison of atherogenic effects on oxidized LDL and remnant lipoproteins in plasma. *Clinica Chimica Acta*. 2006;367:36-47.
31. Hurt-Camejo E, Camejo G. [Why are plasmatic apoB lipoproteins atherogenic? The hypothesis of response to retention]. *Invest Clin*. 2001;42 Suppl 1:43-73.
32. Steinberg D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J Lipid Res*. 2009;50 Suppl:376-381.
33. Berliner JA, Watson AD. A Role for Oxidized Phospholipids in Atherosclerosis. *N Engl J Med*. 2005;353:1-9.
34. Heinecke JW. Lipoprotein oxidation in cardiovascular disease: chief culprit or innocent bystander? 2006;203(4):813-816.
35. Navab M, Anantharamaiah GM, Reddy ST, Lenten BJV, Ansell BJ, Fonarow GC, Vahabzadeh K, Hama S, Hough G, Kamranpour N, Berliner JA, Lusis AJ, Fogelman AM. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J Lipid Res*. 2004;45:993-1007.
36. Yoshida H. Front line of oxidized lipoproteins: role of oxidized lipoproteins in atherogenesis and cardiovascular disease risk. *Rinsho Byori*. 2010;58(6):622-630.
37. Steinberg D. An interpretive history of the cholesterol controversy, part III: mechanistically defining the role of hyperlipidemia. *J Lipid Res*. 2005;46:2037-2051.
38. Gutierrez J, Ballinger SW. Free radicals, mitochondria, and oxidized lipids: the emerging role in signal transduction in vascular cells. *Circ Res*. 2006;99(9):924-932.
39. Halliwell B. Reactive oxygen species and the Central Nervous System. *J Neurochem*. 1992;59:1609-1623.
40. Khanna S. Protection against oxidative stress and redox regulation of cellular responses [Tesis para optar por el Título de Doctor en Ciencias Naturales]. Finlandia: Departamento de Fisiología, Universidad de Kuopio; 2000. Available at: <http://www.uku.fi/vaitokset/2000/khan2.pdf>, February 10th, 2011.
41. Nebel S, Lank DB, O'hara PD, Fernández G, Haase B, Delgado F, Estela FA, Ogden LJE, Harrington B, Kus BE, Lyons JE, Mercier F, Ortego B, Takekawa JY, Warnock N, Warnock SE. Western sandpipers (*Calidris mauri*) during the nonbreeding season: spatial segregation on a hemispheric scale. *Auk*. 2002;119(4):922-928.
42. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J*. 1996;313:17-29.
43. Vissers MC, Stern A, Kuypers F, Vandenberg J, Winterbourn CC. Membrane changes associated with lysis of red blood cells by hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med*. 1994;16:703-712.
44. Esterbauer H, Jurgens G, Quehenberger O, Koller E. Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res*. 1987;28:495-509.
45. Voet D, Voet J. *Biochemistry*. 2nd ed; 2004.
46. Tsimikas S, Miller YI. Oxidative modification of lipoproteins: mechanisms, role in inflammation and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Curr Pharm Des*. 2011;17(1):27-37.
47. Stocker R, Keaney JF. Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol Rev*. 2004;84:1381-1478.
48. Young IS, McEneaney J. Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*. 2001;29(2):358-361.
49. Mohazzab KM, Wolin MS. Sites of superoxide anion production detected by lucigenin in calf pulmonary artery smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 1994;267:815-822.
50. Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, Tordo P, Pritchard KAJ. Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:9220-9225.
51. McNally JS, Davis ME, Giddens DP, Saha A, Hwang J, Dikalov S, Jo H, Harrison DG. Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;285:2290-2297.
52. Ballinger SW, Patterson C, Knight-Lozano CA, Burow DL, Conklin CA, Hu Z, Reuf J, Horaist C, Lebovitz R, Hunter GC, McIntyre K, Runge MS. Mitochondrial integrity and function in atherogenesis. *Circulation*. 2002;106:544-549.
53. Heinecke JW. Mass spectrometric quantification of amino acid oxidation products in proteins: insights into pathways that promote LDL oxidation in the human artery wall. *FASEB J*. 1999;13:1113-1120.
54. Belkner J, Wiesner R, Rathman J, Barnett J, Sigal E, Kühn H. Oxygenation of lipoproteins by mammalian lipoxygenases. *Eur J Biochem*. 1993;213:251-261.
55. Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radical Biology & Medicine*. 1996;20(5):707-727.
56. Levitan I, Volkov S, Subbaiah PV. Oxidized LDL: Diversity, Patterns of Recognition and Pathophysiology. *Antiox. & Redox Signaling*. 2010;13 (1):1-37.
57. Mann GE, Niehueser-Saran J, Watson A, Gao L, Ishii T, Winter Pd, Siow RC. Nrf2/ARE regulated antioxidant gene expression in endothelial and smooth muscle cells in oxidative stress: implications for atherosclerosis and preeclampsia. *Shengli Xuebao*. 2007;59:117-127.
58. Palinski W. United they go. Conjoint regulation of aortic antioxidant enzymes during atherogenesis. *Circ Res*. 2003;93:183-185.
59. Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. *Atherosclerosis*. 2006;187:1-17.
60. Silva FA, Borges F, Guimaraes C, Lim JLFC, Matos C, Reis S. Phenolic acids and derivatives: studies on the relationship among structure, radical scavenging activity and physicochemical parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000;48(6):2122-2126.
61. Hoen PAC, Van-der-Lans CAC, Bijsterbosch MK, Berkel TJC, Twisk J. Aorta of apo E-deficient mice responds to atherogenic stimuli by a prelesional increase and subsequent decrease in the expression of antioxidant enzymes. *Circ Res*. 2003;93:262-269.

62. de-Pascual-Teresa S, Moreno DA. Flavanols and anthocyanins in cardiovascular health: a review of current evidence. *Int J Mol Sci* 2010;11(4):1679-1703.
63. Choy KJ, Deng YM, Hou JY, Wu B, Lau AK, Witting PK, Stocker R. Coenzyme Q10 supplementation inhibits aortic lipid oxidation but fails to attenuate intimal thickening in balloon injured New Zealand White rabbits. *Free Radic Biol Med*. 2003;35:300-309.
64. Retsky KL, Chen K, Zeind J, Frei B. Inhibition of copper-induced LDL oxidation by vitamin C is associated with decreased copper-binding to LDL and 2-oxohistidine formation. *Free Radical Biology & Medicine*. 1999;26(1/2):90-98.
65. Mukherjee S, Gangopadhyay H, Das DK. Broccoli: a unique vegetable that protects mammalian hearts through the redox cycling of the thioredoxin superfamily. *J Agric Food Chem*. 2008;56:609-617.
66. Yeh CT, Ching LC, Yen GC. Inducing gene expression of cardiac antioxidant enzymes by dietary phenolic acids in rats. *J Nutr Biochem*. 2009;20:163-171.
67. Crane E, ed. History of honey. In: Crane E (ed.) *Honey, a comprehensive survey*. London; 1975. William Heinemann.
68. Crane E, ed. The archaeology of beekeeping. London; 1983. Gerald Duckworth & Co.
69. Crane E, ed. The world history of beekeeping and honey hunting. London; 1999. Gerald Duckworth & Co.
70. Jones R, ed. Honey and healing through the ages. In: Munn P, Jones R (ed) *Honey and healing*. Cardiff; 2001. International Bee Research Association IBRA.
71. Alvarez-Suarez JM, Stefania ST, Bertoli RE, Battino M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterr J Nutr Metab*. 2010;3:15-23.
72. Gunes UY, Eser I. Effectiveness of a honey dressing for healing pressure ulcers. *J Wound Ostomy Continence Nurs*. 2007;34(2):184-190.
73. Gethin G, Cowman S. Bacteriological changes in sloughy venous leg ulcers treated with Manuka honey or hydrogel: an RCT. *J Wound Care*. 2008;17(6):241-247.
74. Rodríguez R, González JH. Métodos alternativos para el tratamiento de pacientes con heridas infectadas. *MEDISAN*. 2011;15(4):503-514.
75. Lavandera I. Curación de heridas sépticas con miel de abejas *Rev Cubana Cir* 2011;50(2).
76. Pérez RA. Analysis of volatiles from Spanish honeys by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Agric Food Chem*. 2002;50:2633-2637.
77. Terrab A, González MML, González AG. Characterisation of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis. *Eur Food Res Technol*. 2003;218:88-95.
78. Chow J. Probiotics and prebiotics: a brief overview. *J Ren Nutr*. 2002;12:76-86.
79. Blasa M, Candiracci M, Accorsi A. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chem*. 2006;97:217-222.
80. Molan PC, Betts JA. Clinical usage of honey as a wound dressing: an update. *J Wound Care*. 2004;13:353-356.
81. Nagai T, Inoue R, Kanamori N, Suzuki N, Nagashima T. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. *Food Chem*. 2006;97:256-262.
82. Patzold R, Bruckner H. Gas chromatographic detection of D-amino acids in natural and thermally treated bee honeys and studies on the mechanism of their formation as result of the Maillard reaction. *Eur Food Res Technol*. 2006;223:347-354.
83. Perez RA, Iglesias MT, Pueyo E, Gonzalez M, de-Lorenzo C. Amino acid composition and antioxidant capacity of Spanish honeys. *J Agric Food Chem*. 2007;55:360-365.
84. Beretta G, Orioli M, Facino RM. Antioxidant and radical scavenging activity of honey in endothelial cell cultures (EA.hy926). *Planta Med*. 2007;73(11):1182-1189.
85. Schramm DD, Karim M, Schrader HR. Honey with high levels of antioxidants can provide protection to healthy human subjects. *J Agric Food Chem*. 2003;51:1732-1735.
86. Yaghoobi N, Al-Waili N, Ghayour-Mobarhan M. Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. *Sci World J*. 2008;20:463-469.
87. Jendekova L, Kojsova S, Andriantsitohaina R, Pechanova O. The time-dependent effects of Provinols on brain NO synthase activity in L-NAME-induced hypertension. *Physiol. Res*. 2006;55:S31-S37.
88. Khalil MI, Sulaiman SA. The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart diseases: a review. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2010;7(4):315-321.
89. Rakha MK, Nabil ZI, Hussein AA. Cardioactive and vasoactive effects of natural wild honey against cardiac malperformance induced by hyperadrenergic activity. *J. Med. Food*. 2008;11(1):91-98.
90. Álvarez-Suarez JM, Giampieri F, Damiani E, Astolfi P, Fattorini D, Regoli F, Quiles JL, Battino M. Radical-scavenging Activity, Protective Effect Against Lipid Peroxidation and Mineral Contents of Monofloral Cuban Honeys. *Plant Foods Hum Nutr*. 2012;DOI 10.1007/s11130-11011-10268-11137.
91. Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem*. 2005;91:571-577.
92. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*. 1998;36(4):347-363.
93. Cuesta-Rubio O, Frontana-Urbe B, Ramírez-Apan T, Cárdenas J. Polyisoprenylated Benzophenones in Cuban Propolis; Biological Activity of Nemorosone. *Z Naturforsch*. 2002;57:372-378.
94. Wollenweber E, Buchmann SL. Feral honey bees in the Sonoran Desert: Propolis sources other than poplars (*Populus* spp.). *Z Naturforsch C A J Biosci*. 1997;52(7-8):530-535.pp.?
95. Bankova V. Determining quality in propolis samples. *J Am Apither Soc*. 2000;7(2).
96. Choi YH, Lee WY, Nam SY, Choi KC, Park YE. Apoptosis induced by propolis in human hepatocellular carcinoma cell line. *Int J Mol Med*. 1999;4(1):29-32.
97. Scheller S, Dworniczak S, Waldemar-Klimmek K, Rajca M, Tomczyk A, Shani J. Synergism between ethanolic extract of propolis (EEP) and anti-tuberculosis drugs on growth of mycobacteria. *Z Naturforsch C A J Biosci*. 1999;54(7-8):549-553.
98. Isla M, Nieva M, Sampietro A, Vattuone M. Antioxidant activity of Argentine propolis extracts. *J Ethnopharmacol*. 2001;76(2):165-170.
99. Claus R, Kinscherf R, Gehrke C, Bonaterra G, Basnet P, Metz J. Antiapoptotic effects of propolis extract and propolis on human macrophages exposed to minimally modified low density lipoprotein. *Arzn Forsch Drug Res*. 2000;50(4):373-379.
100. Pascual C, Gonzalez R, Torricella RG. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol*. 1994;41(1-2) 9-13.
101. Sun F, Hayami S, Haruna S, Ogiri Y, Tanaka K, Yamada Y. In vivo antioxidative activity of propolis evaluated by the interaction with vitamins C and E and the level of lipid hydroperoxidases in rats. *J Agric Food Chem*. 2000;48(5):1462-1465.
102. Samoliuk VA. The indices of the antioxidant system and the status of the cerebral blood supply in patients with an ischemic episode on apitherapy. *Lik Sprava* 1995;(1-2) 68-70.
103. Bermúdez-Camps I, Reyes-Hernández I, León-Fernández OS. Evaluación de la actividad antioxidante del propóleo de la región de Manzanillo. Provincia de Granma. Cuba. *Bioquímica*. 2000;25(3):69-74.

104. Quintana-Díaz JC, Alonso-Rodríguez O, Díaz-Velázquez M, López-Milián M. Empleo de la tintura de propóleo al 5 % en la cura de heridas sépticas faciales. *Revista Cubana de Estomatología*. 1997;34 (1).
105. Ledón N, Casacó A, González R, Merino N, González A, Tolón Z. Efectos antipsoriásico, antiinflamatorio y analgésico del propoleo rojo colectado en Cuba. *Rev Cubana Farm* 1996;30 (1).
106. Suárez D, Díaz D, Puente R, Socorro W, Bello JL, Durán L, Barceló E. Estudio preliminar del efecto radioprotector de diferentes propóleos cubanos. *Apiciencia*. 2000;2 (2):1-9.
107. Alvarez-Suarez JM, Stefania ST, Bertoli RE, Battino M. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterr J Nutr Metab*. 2009;2:DOI 10.1007/s12349-12009-10051-12346.
108. Almeida LB, Pamplona LC, Coimbra S, Barth OM. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2005;18(1):105-111.
109. Carpes ST. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Journal of Food Technology*. 2009;12(3):222-229.
110. Somerville DC, Nicol HI. Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and note on laboratory disparity. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 2006;46(1):141-149.
111. Szczesna T. Protein content and amino acids composition of bee-collected pollen originating from Poland, south Korea and China. *Journal of Apicultural Science*. 2006;50(2):91-99.
112. Vit P, Herrera P, Rodríguez D, Carmona J. Caracterización de polen apícola fresco recolectado en Cacute, en los Andes Venezolanos. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*. 2008;32(2):7-11.
113. Vit P, Santiago B. Composición química de polen apícola fresco recolectado en el páramo de Misintá de los Andes Venezolanos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2008;58(4):411-415.
114. Yeverino GM, Arteaga MK, García VY. Evaluación fisicoquímica y microbiológica de mieles y polen (Pollinis) de abejas de diferentes marcas. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2010. Disponible en: www.respyn.uanl.mx/especiales/2010/ee-01-2010/documentos/trabajos_libres/TL28.pdf. January 10th, 2011.