

## ARTIGO DE REVISÃO

### IMUNOMODULAÇÃO PELA PRÓPOLIS

G. Fischer, S.O. Hübner, G.D. Vargas, T. Vidor

Universidade Federal de Pelotas, Laboratório de Virologia e Imunologia, Faculdade de Veterinária, Rua Carlos de Carvalho, 372/401, CEP 96030-270, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: geferson.fischer@gmail.com

#### RESUMO

A própolis, uma substância resinosa produzida pelas abelhas melíferas a partir de exsudatos coletados em diferentes partes das plantas, tem sido utilizada há séculos na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas. Esta substância apresenta atividade antiinflamatória, antitumoral, antioxidante e imunomoduladora, embora muitos dos seus mecanismos de ação sejam desconhecidos. A imunomodulação pela própolis pode estar associada tanto com a estimulação quanto com a supressão de determinados eventos da resposta imune. Os efeitos antagônicos e muitas vezes não complementares sobre o sistema imunológico podem ser decorrentes da grande variabilidade química existente entre diferentes amostras de própolis, bem como das diferentes metodologias adotadas nos estudos científicos, resultando em variada ação farmacológica. Este artigo teve como objetivo revisar e discutir alguns aspectos relacionados à ação da própolis sobre o sistema imunológico.

**PALAVRAS-CHAVE:** Própolis, sistema imunológico, modulação.

#### ABSTRACT

**IMMUNOMODULATION INDUCED BY PROPOLIS.** Propolis is a resinous substance produced by honeybees from exudates collected from different parts of the plants. It has been used for centuries in popular medicine due to its therapeutic characteristics. This substance presents anti-inflammatory, anti-tumoral, anti-oxidant and immunomodulator activities, even though many of its mechanisms of action are still unknown. Immunomodulation induced by propolis can be associated with stimulation as well as suppression of certain events of the immune response. The antagonistic and sometimes noncomplementary effects on the immunological system can be attributed to the wide chemical variability present among different propolis samples, as well as to the different methodologies used in scientific studies, resulting in a varied pharmacological action. This work aims at reviewing and discussing some aspects related to the mechanism of action of propolis on the immunological system.

**KEY WORDS:** Propolis, immune system, modulation.

#### INTRODUÇÃO

A própolis é um produto resinoso natural produzido pelas abelhas melíferas a partir de substâncias coletadas em diferentes partes das plantas, como brotos, casca, botões florais e exsudatos resinosos (MARCUCCL, 1995; BURDOCK, 1998). As abelhas transportam estas substâncias até a colméia e as modificam por meio da adição de cera, pólen e produtos do seu metabolismo, como a enzima salivar  $\beta$ -glicosidase, aumentando a sua ação farmacológica (PARK *et al.*, 1998; PINTO *et al.*, 2001; PARK *et al.*, 2002; STRADIOTTI *et al.*, 2004).

A composição da própolis é extremamente complexa. Mais de 300 substâncias diferentes já foram identificadas (BURDOCK, 1998; BANKOVA *et al.*, 2000). Suas características constitutivas podem variar de

acordo com a espécie de abelha e época do ano em que é coletada (BANKOVA, 2005). Contudo, a origem botânica (BANKOVA *et al.*, 2000; BANKOVA, 2005) parece ser o fator mais importante a ser considerado na tentativa de explicar a variabilidade química entre diferentes amostras de própolis. Em zonas temperadas, como na Europa, América do Norte e regiões não tropicais da Ásia, a fonte dominante para a produção da própolis é o exsudato do botão de álamo (*Populus* sp.) (BANKOVA *et al.*, 2000). As amostras originárias destas regiões são quimicamente similares, predominantemente compostas por substâncias flavonóides como o éster feniletílico do ácido cafeico (CAPE) (BANKOVA *et al.*, 2000). No entanto, nas regiões de clima tropical, há uma grande variabilidade química entre as amostras de própolis, em consequência da grande diversidade vegetal utilizada para a sua produção. PARK *et al.*

(2002) identificaram 12 tipos diferentes de própolis no Brasil. A mais conhecida e estudada é a própolis verde, produzida a partir de uma planta conhecida popularmente por alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*). Esta espécie não é adaptada às condições naturais existentes em outros países (MIYATAKA *et al.*, 1997), o que confere à própolis verde características químicas e biológicas diferenciadas. Mais ao sul do país, as resinas de *Araucaria angustifolia* L. e *Eucalypto citriodora* contribuem decisivamente para a produção deste apiterápico (BANKOVA *et al.*, 1999; MIDORIKAWA *et al.*, 2001). Nas amostras brasileiras de própolis os compostos fenólicos, como o artemillin C e o ácido hidroxicinâmico, são as principais substâncias (PEREIRA *et al.*, 2003).

Utilizada pelas abelhas contra a proliferação de microrganismos (BANKOVA *et al.*, 2000), a própolis apresenta várias outras propriedades bioativas. Dentre elas destacam-se a ação antiviral (BURDOCK, 1998; FISCHER *et al.*, 2005), antiinflamatória (ANSORGE *et al.*, 2003), antioxidante (SCHELLER *et al.*, 1989) e antiparasitária (DECASTRO; HIGASHI, 1995; DANTAS *et al.*, 2006). Apesar de demonstradas algumas atividades imunomoduladoras da própolis como ativação de macrófagos e aumento das respostas imunes humoral e celular (DIMOV *et al.*, 1992; ORSI *et al.*, 2000; FISCHER *et al.*, 2007), muitos destes mecanismos de ação são desconhecidos. O objetivo deste artigo foi revisar alguns aspectos relacionados à ação da própolis sobre o sistema imunológico.

## IMUNOMODULAÇÃO

A imunomodulação pode ser exercida mediante a potencialização ou através de supressão de elementos do sistema imunológico (KIRKLEY, 1999). Neste sentido, vários estudos têm sido conduzidos na busca de substâncias capazes de auxiliar o sistema imune no combate a microrganismos patogênicos, ou a doenças com outras etiologias, tais como câncer e doenças auto-imunes (LABRO, 2000). Atualmente, a utilização de própolis como uma substância imunomoduladora tem sido considerada uma alternativa para a prevenção e cura de diversas enfermidades (ORSOLIC; BASIC, 2003).

A imunomodulação exercida pela própolis ocorre de forma contraditória, às vezes sendo descrita como estimulante, e outras vezes como inibidora de determinados eventos imunológicos. Provavelmente, estes efeitos antagônicos devem-se, dentre outros fatores, à complexidade química da própolis. Para BANKOVA (2005), comparar amostras de própolis de origens geográficas distintas é o mesmo que comparar extratos de duas plantas que pertencem a famílias diferentes, tal a sua variabilidade química e, conseqüentemente, suas propriedades farmacológicas. A

imunomodulação pela própolis também pode estar diretamente relacionada à forma de extração dos seus compostos bioativos. O tipo de solvente empregado, além do protocolo adotado, poderá resultar em maior ou menor eficiência de extração de determinadas substâncias como os compostos fenólicos, nos quais se concentra a maior parte da atividade farmacológica da própolis. Além disso, a combinação das diferentes substâncias naturais que compõem a própolis, provavelmente resultando em efeito sinérgico, é essencial para a sua atividade biológica (KUJUMGIEV *et al.*, 1999).

## PRÓPOLIS E IMUNOESTIMULAÇÃO

Uma das formas de imunomodulação pela própolis ocorre através da ativação de macrófagos (ORSOLIC; BASIC, 2003). Estas células desempenham um papel fundamental na defesa do organismo, através da fagocitose, geração de radicais livres, mediação de processos inflamatórios e secreção de uma variedade de substâncias bioquimicamente diferentes, como enzimas, citocinas e componentes do sistema complemento. A ação da própolis sobre os macrófagos resulta em aumento da capacidade fagocítica (ORSI *et al.*, 2000), estimulação da secreção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), e outras substâncias como o óxido nítrico (NO) e espécies reativas do oxigênio (DIMOV *et al.*, 1992; IVANOVSKA *et al.*, 1995a; ORSI *et al.*, 2000; KHAYAL *et al.*, 2003). Os compostos da própolis solúveis em água (WSPD), como ácidos aromáticos e flavonóides, atuam estimulando a produção da proteína C1q pelos macrófagos, um componente essencial para a ativação da via clássica do sistema complemento (DIMOV *et al.*, 1992).

Algumas amostras de própolis do Brasil e da Bulgária são capazes de aumentar a atividade bactericida dos macrófagos. No entanto, estudos revelaram maior eficiência da própolis brasileira, provavelmente em função de sua composição química diferenciada. Segundo os pesquisadores, a produção de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e nitrogênio (NO) estavam envolvidos no aumento da atividade funcional destas células (ORSI *et al.*, 2005).

A atividade imunomoduladora da própolis também pode ser observada através do incremento das respostas imunes celular e humoral, o que foi constatado pelos autores da presente revisão (FISCHER *et al.*, 2007) ao estudarem a capacidade adjuvante de um extrato etanólico da própolis verde brasileira. Quando a própolis foi adicionada ao herpesvírus suíno tipo 1 (SuHV-1) em uma vacina inativada, inoculada em camundongos, houve um incremento na resposta imune celular, observado através do aumento da expressão de mRNA de interferon gama (IFN- $\gamma$ ) sem, no entanto, estimular a resposta imune humoral. Já a associação desse extrato com o antígeno (SuHV-1) e hidróxido de

alumínio, por sua vez, aumentou tanto a resposta imune celular quanto a humoral, quando comparado com um tratamento em que o SuHV-1 foi utilizado isoladamente com o hidróxido de alumínio. O efeito adjuvante da própolis verde tornou-se ainda mais evidente no teste de capacidade de proteção vacinal, pois a inclusão do extrato etanólico nas vacinas experimentais aumentou o percentual de animais protegidos após desafio com o SuHV-1, mesmo no tratamento em que a própolis foi utilizada isoladamente com o antígeno e não conferiu aumento da resposta humoral. Neste caso, o incremento na resposta imune celular, proporcionado pela própolis, foi suficiente para a proteção dos animais desafiados (FISCHER *et al.*, 2007). A análise química desta amostra de própolis, por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), revelou altos níveis de compostos fenólicos, tais como ácido cinâmico e derivados. A atividade imunoestimulante dos compostos fenólicos é atribuída ao incremento da proliferação de linfócitos (IVANOVSKA *et al.*, 1995b).

Os dados obtidos por FISCHER *et al.* (2007) estão de acordo com os conceitos formulados por COX; COULTER (1997), permitindo classificar a própolis como um adjuvante não particulado. Segundo estes pesquisadores, os adjuvantes não particulados, considerados imunomoduladores, são aqueles cuja atividade não depende de nenhuma partícula, e que se beneficiam da associação com um adjuvante particulado. Estas substâncias, por não se combinarem ao antígeno, são rapidamente processadas pelas células do sistema imune e induzem a uma resposta imune humoral fraca. Por outro lado, quando um antígeno é adsorvido em um adjuvante particulado, como o hidróxido de alumínio, a partícula formada facilita seu direcionamento para as células apresentadoras de antígeno e prolonga a exposição antigênica às células do sistema imune, amplificando a resposta imune (LINDBLAD, 2004). Este fato pode explicar o aumento da resposta imune humoral ao SuHV-1 na espécie estudada, imunizada com a própolis associada ao hidróxido de alumínio (FISCHER *et al.*, 2007). Resultado semelhante foi observado quando a própolis verde foi utilizada como uma substância adjuvante associada a vacinas inativadas contra o herpesvirus bovino tipo 5 - BoHV-5 (FISCHER *et al.*, 2006). Os bovinos que receberam a vacina com própolis apresentaram níveis significativamente mais elevados de anticorpos ( $P < 0,01$ ) em relação a um grupo controle sem própolis. Segundo SFORCIN *et al.* (2005), a habilidade em modular a síntese de anticorpos é parte da atividade imunoestimulante da própolis. Apesar do mecanismo detalhado da sua ação sobre células do sistema imune ser desconhecido, a estimulação de macrófagos à produção de citocinas capazes de amplificar a resposta imune humoral pode ser um dos mecanismos envolvidos (ANSORGE *et al.*, 2003).

A possibilidade de utilização da própolis como adjuvante (FISCHER *et al.*, 2006; FISCHER *et al.*, 2007) é relevante se considerarmos que um dos principais problemas encontrados na produção de vacinas é a disponibilidade de substâncias que possam potencializar a ação de antígenos pouco imunogênicos, como os inativados e os recombinantes. Embora novas substâncias sejam constantemente avaliadas quanto a sua capacidade adjuvante, de um modo geral, a produção de vacinas de uso veterinário continua atrelada à utilização dos sais de alumínio ou de emulsões oleosas. Desta forma, a possibilidade do uso de própolis para promover e/ou direcionar as respostas imunes para determinados antígenos poderá resultar em um grande benefício na aquisição de imunidade pelo uso de vacinas.

Ao pesquisar os efeitos dos WSPD de uma amostra croata de própolis ou do CAPE isoladamente, ORSOLIC *et al.* (2004) detectaram aumento na produção de NO pelos macrófagos e inibição na síntese de DNA de células tumorais da linhagem HeLa. Em altas concentrações, o NO é responsável pela indução de apoptose em linfócitos T auxiliares e os resultados obtidos são semelhantes à capacidade antitumoral da própolis. Segundo os pesquisadores (VEEN *et al.*, 1999), esta propriedade pode ser resultado de atividades sinérgicas dos compostos polifenólicos da própolis. Efeito semelhante foi observado no crescimento de células tumorais malignas em camundongos com a utilização do artepillin C, uma substância bioativa da própolis brasileira (ORSOLIC; BASIC, 2003). Além da inibição do crescimento destas células, foi observado um aumento no número total de linfócitos T auxiliares, indicando ativação do sistema imune em estudos realizados com camundongos (BANSKOTA *et al.*, 2001; PARK *et al.*, 2004). Para BANSKOTA *et al.* (2001), a atividade antitumoral do artepillin C parece ser atribuída à indução de apoptose celular. Os compostos polifenólicos induzem à apoptose através de um aumento na permeabilidade das membranas mitocondriais, liberação do citocromo C e a sua conjugação com a proteína mitocondrial de choque Apaf-1 e procaspase 9, seguido pela ativação da via das caspases (GALATI *et al.*, 2000).

Similares aos macrófagos, os linfócitos *Natural Killer* (NK), que apresentam atividade citotóxica sobre várias células tumorais ou células infectadas por vírus, são considerados o primeiro mecanismo de defesa do organismo (VIVIER *et al.*, 2004). Aumento na atividade destas células contra células tumorais foi observado no baço de camundongos tratados com uma amostra brasileira de própolis (SFORCIN *et al.*, 2002). Segundo estes pesquisadores, novos estudos são necessários para elucidar este mecanismo de ação. No entanto, eles sugerem que macrófagos ativados produzem citocinas como TNF- $\alpha$  e

interleucina 12 que agem nas células NK, aumentando a sua atividade citotóxica.

A própolis, portanto, pode ser considerada uma importante substância com atividade antitumoral. Apesar desta propriedade ter sido identificada com a utilização de amostras de própolis de origens geográficas diferentes, o mecanismo de ação parece ser semelhante em todos os estudos, com ativação de células imunes como macrófagos e linfócitos NK e indução de apoptose por compostos polifenólicos. Desta forma, os dados obtidos têm resultado em uma forte indicação do uso da própolis como uma nova opção para o tratamento de doenças tumorais.

### PRÓPOLIS E IMUNOSSUPRESSÃO

A supressão do sistema imunológico pode ter como conseqüência a proliferação de microrganismos oportunistas que vivem nos organismos vivos e, por este motivo, normalmente é tida como um evento prejudicial. No entanto, há circunstâncias em que a atividade do sistema imune deve ser reduzida ou suprimida. Em casos de transplante, por exemplo, a *tendência natural do sistema imune é rejeitar o órgão enxertado*, e potentes drogas imunossupressoras são necessárias para evitar tais rejeições e aumentar a taxa de sobrevivência dos enxertos. Também as doenças autoimunes devem ser controladas através do uso de agentes imunossupressores.

As substâncias flavonóides encontradas na própolis podem inibir a proliferação de linfócitos de camundongos *in vitro* (SÁ-NUNES *et al.*, 2003). Uma amostra brasileira de própolis mostrou-se capaz de ativar macrófagos *in vivo*, estimulando a produção de IFN- $\gamma$  e NO e, conseqüentemente, reduzindo a proliferação de linfócitos. Níveis suficientemente elevados de IFN- $\gamma$  estimulam a atividade da enzima óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) por macrófagos ativados, gerando concentrações de NO que prejudicam a proliferação de células T (GHERARDI *et al.*, 2000). O NO tem sido considerado o principal fator derivado de macrófagos com atividade imunossupressora (MILLS, 1991).

A redução no número de células T também pode ocorrer através da ação de um composto ativo da própolis, o CAPE (PARK *et al.*, 2004). A ativação destas células induz a expressão de fatores de transcrição como o NFkB, que regula a expressão de genes envolvidos na resposta imune, estimulando a expressão de citocinas inflamatórias, moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) e a adesão de moléculas envolvidas na metástase de tumores (ORBAN *et al.*, 2000; BAEZA-RAJA; MUÑOZ-CÁNOVES, 2004). O CAPE é um inibidor específico do NFkB e suprime a sua interação com o DNA dos linfócitos (NATARAJAN *et al.*, 1996; PARK *et al.*, 2004) inibindo a resposta

linfoproliferativa, provavelmente devido à inibição da expressão gênica. (MÁRQUEZ *et al.*, 2004). Além de inibir o NFkB, o CAPE é capaz de inibir o fator nuclear de células T ativadas (NFAT), resultando em inibição da transcrição do gene de IL-2 e da proliferação de células T.

Portanto, algumas das substâncias bioativas da própolis, como os flavonóides, podem ser utilizadas como drogas imunossupressoras em associação ou substituição de outros imunossupressores, como os corticosteróides. O mecanismo de ação da própolis, neste caso, é semelhante ao destas substâncias, inibindo o NFkB, estimulando a produção de NO ou alterando a expressão de genes de citocinas sem, no entanto, haver relato de efeitos adversos. A divergência destes dados com os obtidos por outros pesquisadores que detectaram aumento nas respostas imunes humoral e celular, indicando ativação do sistema imune, provavelmente se deve à diferença na composição das amostras de própolis utilizadas, bem como na metodologia empregada (BANSKOTA *et al.*, 2001; PARK *et al.*, 2004; FISCHER *et al.*, 2006; FISCHER *et al.*, 2007).

A inibição do NFkB pela própolis também está estreitamente relacionada com a sua propriedade antiinflamatória. A hipótese levantada por SONG *et al.* (2002), utilizando uma amostra coreana de própolis, e reforçada por PAULINO (comunicação pessoal) que utilizou a própolis verde brasileira, é de que a atividade antiinflamatória da própolis se deve à inibição na expressão do gene da iNOS, interferindo no sítio NFkB do promotor iNOS. Neste caso, há uma redução na produção de NO, um importante mediador biológico envolvido nos processos inflamatórios e imunológicos (NUSSLER; BILLIAR, 1993). Segundo CHEN *et al.* (2005), substâncias flavonóides como o CAPE inibem a ativação do NFkB, reduzindo a expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória aguda, incluindo os das citocinas pró-inflamatórias IL- $\beta$  e TNF- $\alpha$ . Resultado semelhante foi obtido por BLONSKA *et al.* (2004) que, utilizando um extrato etanólico de uma amostra polonesa de própolis, detectaram inibição da expressão dos genes de IL-1 $\beta$ , em uma linhagem de macrófagos (J774A.1).

O CAPE também pode atuar sobre os macrófagos inibindo a produção das enzimas lipoxigenase e cicloxigenase (KHAYYAL *et al.*, 2003) e a produção de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), um importante mediador inflamatório (MIRZOEVA; CALDER, 1996). Redução nos níveis de PGE<sub>2</sub> e das citocinas IL-6 e IL-8 foi observada em processos inflamatórios crônicos das vias aéreas, como a asma (KHAYYAL *et al.*, 2003), após a administração de extratos de própolis de origens geográficas diversas, demonstrando um grande potencial para tratamento dessas alterações. Atualmente, substâncias imunossupressoras como os corticosteróides tópicos ou sistêmicos são utilizadas para suprimir as

alterações inflamatórias crônicas observadas na asma. Entretanto, segundo ROMAGNANI (1997), o ideal é que se possa converter a resposta das células T aos antígenos alérgenos, de uma resposta predominantemente humoral (Th2) para celular (Th1). Neste sentido, a ação antiinflamatória da própolis pode ser promissora para tratamento de indivíduos asmáticos. Ao se analisar os resultados dos estudos conduzidos por SY *et al.* (2006) em um modelo para estudo de asma em camundongos, a utilização da uma solução aquosa de própolis inibiu a produção de citocinas relacionadas à resposta humoral (IL-10 e IL-5) e aumentou a produção de IFN- $\gamma$ , relacionado com a resposta de células T CD4+, em sobrenadantes de cultivos de esplenócitos, demonstrando tendência de modulação do sistema imune para a resposta celular.

A ação antiinflamatória da própolis também ocorre através da inibição do sistema complemento. A diminuição na atividade das vias clássica e alternativa em experimentos *in vitro* foi atribuída à inibição da função da enzima C3 convertase, um dos alvos de ação dos WSPD no sistema complemento (IVANOVSKA *et al.*, 1995a). A hipótese destes autores, que utilizaram uma amostra búlgara de própolis, na forma de extrato aquoso, é que os flavonóides e os compostos fenólicos foram as substâncias com atividade anti-complemento, uma vez que as demais substâncias encontradas representavam menos de 3% da fração de própolis utilizada. Apesar de ser um dos principais mecanismos pelos quais o reconhecimento do antígeno é convertido em uma defesa efetiva contra uma infecção, o sistema complemento pode estar envolvido em respostas inflamatórias indesejáveis. Desta forma, a ação anti-complemento da própolis pode ser altamente benéfica, pois, através da inibição de importantes mediadores da inflamação derivados do sistema complemento, os efeitos adversos de determinados processos inflamatórios poderiam ser reduzidos.

## CONCLUSÃO

A imunomodulação causada pela própolis tem sido observada tanto na estimulação como na supressão de determinados eventos da resposta imune, tornando-a potencialmente aplicável como uma substância imunoestimulante, ou no combate a processos inflamatórios indesejáveis ou tumores. Apesar de vários estudos abordarem a influência da própolis sobre o sistema imunológico, muitos resultados não são complementares ou tornam-se antagônicos, provavelmente em função de diferenças metodológicas ou da grande diversidade química entre as amostras de própolis utilizadas. Os dados indicam a necessidade de ampliação dos estudos relacionados às propriedades bioativas da própolis, visando o esclarecimento destas contradições.

## REFERÊNCIAS

- ANSORGE, S.; REINHOLD, D.; LENDECKEL, U. Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF- $\beta$ 1 production of human immune cells. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.58c, p.580-589, 2003.
- BAEZA-RAJA, B.; MUÑOZ-CÁNOVES, P. MAPK-induced nuclear factor-kB activity is required for skeletal muscle differentiation: role of interleukin-6. *Molecular Biology of the Cell*, v.15, p.2013-2026, 2004.
- BANKOVA, V.; KRASTEVA, G.B.; SFORCIN, J.M.; FRETE, X.; KUJUMGIEV, A.; RODELLA, R.M.; POPOV, S. Phytochemical evidence for the plant origin of Brazilian propolis from São Paulo State. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.54, p.401-405, 1999.
- BANKOVA, V.S.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, v.31, p.3-15, 2000.
- BANKOVA, V. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, v.100, p.114-117, 2005.
- BANSKOTA, A.H.; TESUKA, Y.; KADOTA, S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytotherapy Research*, v.15, p.561-571, 2001.
- BLONSKA, M.; BRONIKOWSKA, G.; PIETSZ, G.; CZUBA, Z.P.; SCHELLER, S.; KROL, W. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and its flavones on inducible gene expression in J774A.1 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, v.91, p.25-30, 2004.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, v.36, n.4, p.347-363, 1998.
- CHEN, M.; KENG, P.C.; LIN, P.Y.; YANG, C.; LIAO, S.; CHEN, W. Caffeic acid phenethyl ester decreases acute pneumonitis after irradiation *in vitro* and *in vivo*. *BMC Cancer*, v.5, n.158, p.1-9, 2005.
- COX, J.C.; COULTER, A.R. Adjuvants - a classification and review of their modes of action. *Vaccine*, v.15, n.3, p.248-256, 1997.
- DANTAS, A.P.; OLIVIERI, B.P.; GOMES, F.H.M.; DE CASTRO, S.L. Treatment of *Trypanosoma cruzi*-infected mice with propolis promotes changes in the immune response. *Journal of Ethnopharmacology*, v.103, p.187-193, 2006.
- DE CASTRO, S.L.; HIGASHI, K. Effect of different formulation of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.46, p.55-58, 1995.

- DIMOV, V.; IVANOVSKA, N.; BANKOVA, V.; POPOV, S. Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against Gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine*, v.10, n.12, p.817-823, 1992.
- FISCHER, G.; DUMMER, L.A.; VIDOR, T.; PAULINO, N.; PAULINO, A.S. Avaliação da ação antiviral de uma solução de própolis sobre o Herpesvírus Bovino e o Vírus da Diarréia Viral dos Bovinos. In: ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 7., 2005, Pelotas, RS. *Anais*. Pelotas, 2005.
- FISCHER, G.; CLEFF, M.B.; DUMMER, L.A.; CAMPOS, F.S.; STORCH, T.; QUINCOZES, C.G.; VILELA, C.; PAULINO, N.; PAULINO, A.S.; VIDOR, T. Avaliação da capacidade coadjuvante de um extrato alcoólico de própolis verde em bovinos vacinados contra o Herpesvírus Bovino tipo 5. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, 2006, Aracaju, SE. *Anais*. Aracaju, 2006.
- FISCHER, G.; CONCEIÇÃO, F.R.; LEITE, F.P.L.; DUMMER, L.A.; VARGAS, L.D.; HÜBNER, S.O.; DELLAGOSTIN, O.A.; PAULINO, N.; PAULINO, A.S.; VIDOR, T. Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. *Vaccine*, v. 25, p.1250-1256, 2007.
- GALATI, G.; TENG, S.; MORIDANI, M.Y.; CHAN, T.S.; O'BRIEN, P.J. Cancer chemoprevention and apoptosis mechanisms induced by dietary polyphenolics. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, v.17, p.311-349, 2000.
- GHERARDI, M.M.; RAMIREZ, J.C.; ESTEBAN, M. Interleukin-12 (IL-12) enhancement of the cellular immune response against human immunodeficiency virus type 1 env antigen in a DNA prime/vaccinia virus boost vaccine regimen is time and dose dependent: suppressive effects of IL-12 boost are mediated by nitric oxide. *Journal of Virology*, v.74, n.4, p.6278-6286, 2000.
- IVANOVSKA, N.D.; DIMOV, V.B.; PAVLOVA, S.; BANKOVA, V.S.; POPOV, S.S. Immunomodulatory action of propolis. V. Anticomplementary activity of a water-soluble derivate. *Journal of Ethnopharmacology*, v.47, p.135-143, 1995a.
- IVANOVSKA, N.; NEYCHEV, H.; STEFANOVA, Z.; BANKOVA, V.; POPOV, S. Influence of cinnamic acid on lymphocyte proliferation, cytokine release and *Klebsiella* infection in mice. *Apidologie*, v.26, p.73-81, 1995b.
- KHAYYAL, M.T.; EL-GHAZALY, M.A.; EL-KHATIB, A.S.; HATEM, A.M.; VRIES, P.J.F.; EL-SHAFFEL, S.; KHATTAB, M.M. A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, v.17, p.93-102, 2003.
- KIRKLEY, S.A. Proposed mechanisms of transfusion-induced immunomodulation. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v.6, n.5, p.652-657, 1999.
- KUJUMGIEV, A.; TSVETKOVA, I.; SERKEDJIEVA, Y.; BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; POPOV, S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, v.64, p.235-240, 1999.
- LABRO, R. Interference of antibacterial agents with phagocyte functions: immunomodulation or "immuno-fairy tales"? *Clinical Microbiology Reviews*, v.13, n.4, p.615-650, 2000.
- LINDBLAD, E.B. Aluminium adjuvants - in retrospect and prospect. *Vaccine*, v.22, p.3658-3668, 2004.
- MARCUCCI, M.C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, v.26, p.83-99, 1995.
- MÁRQUEZ, N.; SANCHE, R.; MACHO, A.; CALZADO, M.A.; FIEBICH, B.L.; MUNOZ, E. Caffeic acid phenethyl ester inhibits T-cell activation by targeting both nuclear factor of activated T-cells and NF-kappaB transcription factors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v.308, n.3, p.993-1001, 2004.
- MIDORIKAWA, K.; BANSKOTA, A.H.; TEZUKA, Y.; NAGAOKA, T.; MATSISHIGE, K.; MESSAGE, D.; HUERTAS, A.A.; KADOTA, S. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis of propolis. *Phytochemical Analysis*, n.12, p.366-373, 2001.
- MILLS, CD. Molecular basis of "suppressor" macrophages. Arginine metabolism via the nitric oxide synthetase pathway. *Journal of Immunology*, v.146, p.2719-2723, 1991.
- MIRZOEVA, O.K.; CALDER, P.C. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, v.55, n.6, p.441-449, 1996.
- MIYATAKA, H.; NISHIKI, M.; MATSUMOTO, H.L.; FUJIMOTO, T.; MATSUKA, M.L.; SATOH, T. Evaluation of propolis. I: Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v.20, n.5, p.496-501, 1997.
- NATARAJAN, K.; SINGH, S.; BURKE, T.R.; GRUNBERGER, D.; AGGARWAL, B.B. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kB. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, v.93, p.9090-9095, 1996.
- NUSSLER, A.K.; BILLIAR, T.R. Inflammation, immunoregulation and inducible nitric oxide synthase. *Journal of Leukocyte Biology*, v.54, n.2, p.171-178, 1993.

- ORBAN, Z.; MITSIADES, N.; BURKE, T.R.; TSOKOS, M.; CHROUSOS, G.P. Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation. *Neuroimmunomodulation*, v.7, p.99-105, 2000.
- ORSI, R.O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, S.A.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v.6, n.2, p.205-219, 2000.
- ORSI, R.O.; SFORCIN, J.M.; FUNARI, S.R.; BANKOVA, V. Effects of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against *Salmonella Typhimurium*. *International Immunopharmacology*, v.5, n.2, p.359-368, 2005.
- ORSOLIC, N.; BASIC, I. Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: a factor of antitumor reactivity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.84, p.265-273, 2003.
- ORSOLIC, N.; KNEZEVI, A.H.; SVER, L.; TERZI, S.; BASIC, I. Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, v.94, p.307-315, 2004.
- PARK, Y.K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J.A.S. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.18, n.3, p.313-318, 1998.
- PARK, Y.K.; ALENCAR, S.M.; SCAMPARINI, A.R.P.; AGUIAR, C.L. Própolis produzida no sul do Brasil, Argentina e Uruguai: evidências fitoquímicas de sua origem vegetal. *Ciência Rural*, v.32, n.6, p.997-1003, 2002.
- PARK, J.H.; LEE, J.K.; KIM, H.S.; CHUNG, S.T.; EOM, J.H.; KIM, K.A.; CHUNG, S.J.; PAIK, S.Y.; OH, H.Y. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. *Internacional Immunopharmacology*, v.4, p.429-436, 2004.
- PEREIRA, A.S.; PEREIRA, A.F.M.; TRUGO, L.C.; AQUINO NETO, F.R. Distribution of quinic acid derivatives and other phenolic compounds in Brazilian propolis. *Zeitschrift für Naturforschung*, v.58c, p.590-593, 2003.
- PINTO, M.S.; FARIA, J.E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S.T.A.; PEREIRA, C.S.; GIOSO, M.M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.38, n.6, p.278-283, 2001.
- ROMAGNANI, S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunology Today*, v.18, n.6, p.263-266, 1997.
- SÁ-NUNES, A.; FACCIOLI, L.H.; SFORCIN, J.M. Propolis: lymphocyte proliferation and IFN- $\gamma$  production. *Journal of Ethnopharmacology*, v.87, p.93-97, 2003.
- SHELLER, S.; OWCZAREK, S.; KROL, W.; MALINOWSKA, B.; NIKODEMOWICZ, E.; ALEKSANDROWICZ, J. Immunisierungsversuche bei zwei fallen von alveolitis fibroticans bei abnehmender leistungsfähigkeit des immunsystems unter anwendung von propolis-athanolextrakt (EEP), esberitox N und eines calcium-magnesium-preparates (dolomit). *Heilkunst*, v.102, p.249-255, 1989.
- SFORCIN, J.M.; KANENO, R.; FUNARI, S.R.C. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of brazilian propolis on natural killer activity. *Journal of Venomous Animals and Toxins*, v.8, n.1, p.19-29, 2002.
- SFORCIN, J.M.; ORSI, R.O.; BANKOVA, V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. *Journal of Ethnopharmacology*, v.98, n.3, p.301-305, 2005.
- SONG, Y.S.; PARK, E.; HUR, G.M.; RYU, Y.S.; KIM, Y.M.; JIN, C. Ethanol extract of propolis inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.80, p.155-161, 2002.
- STRADIOTTI, D.; QUEIROZ, A.C.; LANA, R.P.; PACHECO, C.G.; EIFERT, E.C.; NUNES, P.M.M. Ação da própolis sobre a desaminação de aminoácidos e a fermentação ruminal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.4, p.1086-1092, 2004.
- SY, L.B.; WU, Y.; CHIANG, B.; WANG, Y.; WU, W. Propolis extracts exhibit immunoregulatory activity in an OVA-sensitized airway inflammatory animal model. *Internacional Immunopharmacology*, v.6, p.1053-1060, 2006.
- VEEN, R.C.; DIETLIN, T.A.; PEN, L.; GRAY, J.D. Nitric oxide inhibits the proliferation of T-helper 1 and 2 lymphocytes without reduction in cytokine secretion. *Cellular Immunology*, v.193, p.194-201, 1999.
- VIVIER, E.; NUNES, J.A.; VÉLY, F. Natural killer cell signaling pathways. *Science*, v.306, p.1517-1519, 2004.

Recebido em 12/12/06  
Aceito em 15/3/08