



Propolisin Koronavirüslere Karşı Potansiyel Etkileri

Enes KAYA¹, Ebubekir İZOL¹, Metin GÜRÇAY^{2*}, Halil ŞİMŞEK³

¹ Bingöl Üniversitesi, Arı ve Doğal Ürünler Ar-Ge ve Ür-Ge Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bingöl, Türkiye

² Bingöl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Klinik Öncesi Bilimler Bölümü, Bingöl, Türkiye

³ Bingöl Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Bingöl, Türkiye

Enes KAYA ORCID No : 0000-0003-3973-168X

Ebubekir İZOL ORCID No: 0000-0003-0788-4999

Metin GÜRÇAY ORCID No : 0000-0001-9160-7454

Halil ŞİMŞEK ORCID No : 0000-0002-9637-1265

*Sorumlu yazar: mgurcay@bingol.edu.tr

(Alınış: 06.01.2021, Kabul: 12.10.2021, Online Yayınlanma: 31.12.2021)

Anahtar Kelimeler
Koronavirüs,
propolis,
İmmüno
modülasyon.

Öz: İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık virüs kaynaklı olarak meydana gelmektedir. Araştırmacılar virüslere karşı aşı çalışması yapmakta ve koruyucu materyal olarak bu aşılarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Virüs, dinamiği gereği farklı tür konaklarda zaman zaman mutasyona uğramaları sonucu yeni varyantlar ortaya çıkmaktadır. Bu varyantlar enfekte ettiği bireyin hazırlıksız olan bağışıklık sistemini atlatarak insan hayatını tehdit eder duruma gelebilmektedir. Neyse ki bu virüslere karşı, vücudumuzda kendini yenileyebilme özelliği olan ve kusursuz çalışan bir immün sistem vardır ki sadece bilinenle sınırlı kalmayan, yeni oluşan varyant virüsün genetik yapısına karşı da bağışıklık üretebilmektedir. Viral enfeksiyonlara karşı savunmada, antivirallerin sınırlı etkileri, aşı üretiminin enfekte olanlara sağlanmasının zaman alması, bağışıklık sistemini güçlendirici uygulamaları ön plana çıkartmaktadır. Bu bağlamda bağışıklık sistemimiz, propolis gibi doğal, fonksiyonel ürünler ile desteklenir ve uyarılırsa virüslere karşı daha etkili bir savaş verebilecektir. Propolis, Dünyayı saran SARS CoV-2 salgınına karşı immün sistemde yaptığı modülasyonlarla, PAK-1 bloker etkisi, erken ve daha yüksek bağışıklığın uyarılması, antikor titrelerinin yükseltilmesi, bağışıklık koruma süresinin uzatılması gibi immünmodülatör etkilere sahip olması ile virüslerle mücadelede dikkat çekici bir ürün olduğunu göstermektedir. Bu noktadan hareketle bu derleme makalesinde bağışıklık sistemini harekete geçiren ve bağışıklık sisteminin çalışmasını kolaylaştıran bir arı ürünü olarak bilinen propolisin kullanımında koronavirüslere karşı etkilerinin neler olabileceğini tartıştık.

Potential Effects of Propolis Against Coronaviruses

Keywords
Coronavirus,
Propolis,
Immuno
modulation.

Abstract: Throughout human history, many diseases are caused by viruses. Researchers are working on vaccines against viruses and these vaccines are widely used as protective material. Due to virus dynamics, new variants emerge as a result of mutations in different types of hosts from time to time. These variants can threaten human life by bypassing the unprepared immune system of the infected individual. Fortunately, our body has an immune system that can renew itself and works flawlessly against these viruses. The newly formed variant, which is not limited to the known, can also generate immunity against the genetic structure of the virus. In defense against viral infections, the limited effects of antivirals, the time-consuming need for vaccine production to be provided to the infected, and applications that strengthen the immune system come to the fore. In this context, if our immune system is supported and stimulated with natural, functional products such as propolis, it will be able to fight viruses more effectively. Propolis shows that it is a remarkable product in the fight against viruses with its modulations in the immune system against the SARS CoV-2 epidemic that swept the world, its PAK-1 blocker effect, early and higher immunity stimulation, increased antibody titers, and immunomodulatory effects such as prolonging the duration of immune protection. From this point of view, in this review article, we discussed the effects of propolis, known as a bee product that activates the immune system and facilitates the functioning of the immune system, against coronaviruses.

1. GİRİŞ

Öne Çıkanlar

- Bu derleme, Koronavirüsler (CoV'lar), Propolis ve özellikleri, Propolis'in immünomodülasyon ve etkileri, SARS CoV-2 ve propolis'in PAK-1 bloker etkisi, koronavirüs ve yeni tip koronavirüs (SARS-CoV-2) enfeksiyonlarına karşı vücut savunma sisteminin etkilerini açıklamaktadır.
- Propolisin antiviral özelliğinin yanında immün sistemde meydana getirdiği modülasyonlar ve propolisin koronavirüs ve SARS-CoV-2 enfeksiyonlarında enfeksiyonun prognozu yönündeki etkilerini yorumlamaktadır.

2. KORONAVİRÜSLER

Koronavirüslerden, yeni tip koronavirüs, (Severe Acute Respiratory Syndrome-2, SARS-CoV-2) salgını dünya çapında insan sağlığını ciddi tehdit etmiştir [1]. Coronaviridae ailesi (CoV), memelileri ve kuşları enfekte eden, esas olarak solunum ve gastrointestinal hastalıklara neden olan zarflı RNA virüsleri ailesidir [2]. Birçok hayvan türüne bulaşarak akut ve kronik hastalıklara neden olması yanında, tür atlayarak insanlarda da enfeksiyonlara neden olmakta ve insandan insana bulaşma özelliği ile insanlar arasında hızlı bulaşarak pandemilere neden olmaktadır. Koronavirüs enfeksiyonları, tipik olarak hem hayvanlarda hem de insanlarda solunum ve enterik belirtilerle ortaya çıkar. İnsanlarda, 21. yüzyılın başında Severe Acute Respiratory Syndrome-1 (SARS-CoV-1) ve Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), ortaya çıkan insandan insana bulaşan ve patojenik koronavirüs virüslerdir [3].

Çin'de 2002 ve 2003'te ortaya çıkan SARS-CoV-1 salgını insanlar için nispeten iyi huylu olarak kabul edildi [4]. On yıl sonra, Ortadoğu ülkelerinde pnömoni belirtisi ile hastanelere başvuran hastalardan klinik olarak SARS-CoV-1'i anımsatan bir başka patojenik koronavirüs olan MERS-CoV izole edildi [5]. SARS-CoV-1 ve MERS-CoV için hastalık belirtisi oldukça benzer olsa da, MERS-CoV 'in vaka ölüm oranı SARS-CoV-1 'den çok daha yüksek olduğu belirlendi [6]. Her iki virüs için rezervuar yarasalardı. Çünkü filogenetik çalışmalarda genetik benzerlik taşıyan SARS-CoV-1 ve MERS-CoV' lar yarasalardan da izole edilmişti [3].

2.1. Koronavirüslere kısa bir bakış

Virüs taksonomisinde, insan koronavirüs 229E (alfa koronavirüs), insan koronavirüs OC43 (betakoronavirüs, soy A), SARS-CoV-1 (betakoronavirüs, soy B), insan koronavirüs NL63 (alfakoronavirüs), insan koronavirüs HKU1 (betakoronavirüs, soy A), MERS-CoV (betakoronavirüs, soy C) olmak üzere altı koronavirüs türünün insanlarda hastalığa neden olduğu bilinmekteydi [7]. Ancak, aralık 2019'da Çin'in Wuhan kentinde, pnömonisi olan bir grup hastadan sağlanan ve solunum yolu epitellerinin materyal olarak kullanıldığı numunelerden yeni bir betakoronavirüs izole edildi. Daha sonra virüsün dizin analizi yapıldı. Bu virolojik

çalışmalar sonucunda SARS CoV-2 adlı yeni bir koronavirüs saptandı. Bu virüs SARS-CoV-1 ve MERS-CoV'dan farklı olarak, insanları enfekte eden koronavirüs ailesinin yedinci üyesi olarak virüs taksonomisine girdi [8]. Bu virüsün insandan insana bulaşı, ağız, göz ve burnun mukozasının direkt temas veya indirekt teması yoluyla gerçekleşmekte olduğu belirlendi [9]. Hastalanan insanlarda, ateş (% 83), kuru öksürük (% 82), nefes darlığı (% 31), kas ağrısı (%11), bilinç bulanıklığı (% 9), baş ağrısı (% 8), boğaz ağrısı (% 5), burun akıntısı (% 4), göğüs ağrısı (% 2), ishal (% 2), bulantı-kusma (% 1), zaman zaman şiddetli zatürre, akut solunum sıkıntısı sendromu (ARDS) ve çoklu organ yetmezliklerine kadar değişen belirtilerin ortaya çıktığı belirlendi [10,11].

3. PROPOLİS

Propolis, arıların iğne yapraklı ağaçlardan, bitkilerin tomurcuk, yaprak gövde ve salgılarından topladığı maddeleri başlarında bulunan salgı bezlerinden salgıladıkları enzimlerle işleyerek ürettiği reçine benzeri bir üründür.

Bal arıları propolisi kovan girişini davetsiz misafirlerden korumak ve kovanda istenmeyen mikroorganizmaların üremelerini önlemek amacıyla kullanır. Propolis, polifenoller (flavonoidler, fenolik asit ve esterleri), terpenoidler, steroidler, aromatik asit ve esterleri, alfatik asit ve esterleri, alkoller, aldehitler, kalkanlar, ketonlar, hidrokarbonlar, B1, B2, C ve E vitaminleri, mineraller (kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum, demir, çinko ve bakır) ve aminoasitler gibi sağlığı destekleyen 150 biyoaktif bileşen de dahil olmak üzere 300'den fazla bileşik içerir. Bu sayede antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoan ve anti inflamatuvar gibi çok farklı biyolojik ve farmakolojik özellikler göstermektedir. Propolis sahip olduğu bu biyolojik ve iyileştirici özellikleri nedeniyle, doğal bir ilaç olarak, antik zamanlardan bu yana yaygın olarak kullanılmıştır [12-14].

3.1. Propolis ve antiviral özelliği

Propolis, doğal olarak su geçirmez bir reçine olarak kovan yapımında önemli bir role sahiptir. Atisertik koruyuculuk özelliği ile maya, küf, bakteri ve virüslere karşı etki eder, aynı zamanda antioksidan özelliği de bulunmaktadır [15,16]. Arılar, kovanlarda iç duvarları düzeltmek, peteklerindeki delikleri kapatmak ve kovanın içinde ölen ve koloni sağlığını tehdit eden davetsiz misafirlerin karkaslarını kaldırmak ve kokuşmasını önlemek için propolisi kullanırlar. Antiseptik etkinliği ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle koloniyi hastalıklardan korur ve hijyenik bir ortam oluşmasını sağlar [17,18]. Antiseptik özelliği ile Propolis ve ekstraktları virüsidal etki gösterir. Doğal olarak kuş gribi virüsü, koronavirüs, rift valley fever virüsü, reovirüs, newcastle virüsü, çocuk felci virüsü, rotavirüs, herpesvirüs, bursal hastalığı virüsü, vaccinia virüsü ve influenza virüsleri A ve B' e karşı antiviral aktivite gösterir [19-22]. Antiviral etkisi, virüsün konak hücreye girişini kısmen bloke etmesi, hücrelerde viral replikasyon aşamalarından virüs nükleik asidinin

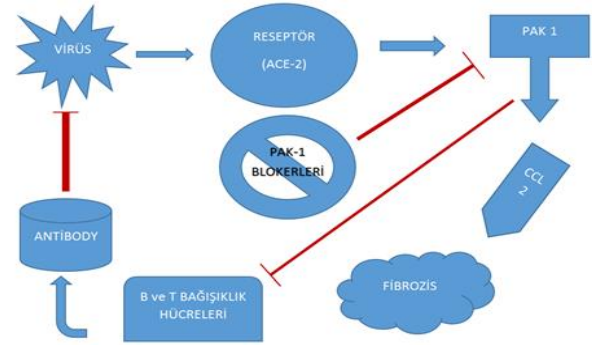
sentezinin bozması ve virüsün hücrelerden salınması aşamalarını etkileyerek virüs çoğalmasını önleyerek antiviral etki oluşturmaktadır [23]. Bu etkinin varlığının bilimsel olarak ispatlanması amacı ile, Amoros ve arkadaşları, propolisin herpes simpleks tip 1 (asiklovire dirençli bir mutant), herpes simpleks tip 2, adenovirüs tip 2, veziküler stomatit virüsü ve poliovirüs tip 2 dahil olmak üzere birçok DNA ve RNA virüsü üzerindeki in vitro laboratuvar çalışmalarında araştırdılar. Bu deneylerde, laboratuvar şartlarında virüsleri çoğaltmak için yaptıkları hücre kültüründe virüslerin replikasyon aşamalarında propolisin replikasyonunun ve saçılımının azaldığını ispat ettiler. Bu deneylerde 30 µg / ml konsantrasyonda propolis katılan grupta, herpes virüslerin hücre kültüründe üremeleri sırasında propolis katılmayan gruba göre virüs titresini 10-3 DKID50 azalttığını saptadılar. Bu çalışmanın veziküler stomatit virüsü ve adenovirüsün ile tekrar yapılması sonucunda bu virüslerin herpesvirüsler gibi virüslere göre daha az duyarlı olduğunu belirlediler [24]. Doğal propolis, HIV-1 virüs enfeksiyonunda virüsün enfekte ettiği konak hücreler olan CD4 lenfositleri ve mikroglial hücreleri üzerindeki anti-HIV-1 aktivitesi araştırmak için normal medikal tedaviye ilave olarak kullanıldı. Bu kullanımlarda Propolis, konsantrasyona bağlı bir şekilde virüs replikasyonunda, viral genlerin protein sentezine dönüştürülmesi aşamasında etki gösterdiği görüldü. Bu etkisinin varlığı çeşitli coğrafi bölgelerden sağlanan propolis numunelerinde saptandı [13].

Ferulik asit (FA), Propolis'in yapısında tanımlanmış ve izole edilmiş bir bileşiktir. Bu bileşimin domuz böbrek (PK-15) hücre kültürlerinde, Porcine Parvovirüs (PPV) üretilmesinde virüsün Bid, Bad, Bim ve Bak genlerinin protein sentezine dönüştürülmesinde, mitokondriyal membran potansiyelini bozduğu, mitokondri aracılı, kaspaza bağımlı apoptik sinyal ve indüklenmiş apoptozu teşvik ettiği tespit edilmiştir. Doğal Propolis bileşiminde bulunan FA'nın bu apoptosis etkisi nedeni ile de Porcine Parvovirüs enfeksiyonlarında antiviral olarak kullanıldığı bilinmektedir [25].

3.2. SARS CoV-2 ve propolis'in PAK-1 bloker etkisi

PAK1 (RAC/CDC42-aktive kinaz 1), anormal aktivasyonu kanserler de dahil olmak üzere çok çeşitli hastalıklara/bozukluklara neden olan başlıca "patojenik" kinazdır. Solunum yolu hastalıklarına neden olan virüsler konakçıların nazofaringeal, orofaringeal veya trakeal mukoza yoluyla enfeksiyona neden olurlar. Günümüzde yaşanan SARS CoV-2 pandemisinde insanların bu enfeksiyona karşı tedavisi için spesifik bir antiviral ilaç henüz bulunamamıştır. Bu nedenle, mukozalara viral yapışmayı azaltabilen veya önleyebilen ve mukoza zarlarından virüs azalmasını sağlayan, patojenik enzim aktivitesini bloke eden ve böylece virüs dozunu, aktivitesini azaltabilen ve / veya bağışıklık tepkisini arttırabilen yöntemleri belirlemek SARS CoV-2 salgını yönetiminde ön plana çıkmıştır. Bu nedenle, propolisin orofaringeal girişte potansiyel SARS CoV-2 inhibitörleri olarak işlev görebilecek düşük maliyetli bir tedavi seçeneğini oluşturacağı öngörülmektedir [26]. Propolis bileşenleri duyarlı hücreler üzerinde bulunan

ACE2, TMPRSS2 ve PAK1 hücre reseptörlerine bağlanma etkisini azaltarak enfeksiyon oluşumu üzerinde engelleyici etkilere sahip olduğunu in vitro ve in vivo ortamlarda kanıtlanmıştır [27,28]. SARS CoV-2 hastaları tedavisi için umut verici bir farmakolojik yaklaşım da, p21 ile aktive edilen kinazlar (PAK'ler) gibi downstream efektörlerini hedeflemektir. PAK1 (RAC / CDC42 ile aktive edilen kinaz 1), anormal aktivasyonu, grip, HIV ve SARS CoV-2 virüs enfeksiyonlarında, yangıyı arttırmakta ve hastaların ağır hastalık tablosu ile karşılaşmasına neden olmaktadır. Bu enzimlerin aktivitesinin azaltılması üzerine etkileri nedeni ile Propolis bileşenleri kullanılmaktadır. [28]. Brezilya yeşil propolisindeki başlıca anti-kanser bileşeni artepilin C (ARC) iken Tayvan'dan subtropikal propolislerden elde edilen doğrudan PAK1'i inhibe eden Nymphaeols adı verilen polifenollerdir [29,30]. Bunlardan başka propolis bileşenleri içinden PAK1-blokerleri arasında bulunan kafeik asit (CA) ve esteri (kafeik asit fenetil ester = CAPE), doğrudan PAK1'i aktive eden RAC'yi (insan hücrelerinde bulunan bir sinyal proteini) inhibe ettiğini gösterilen ilk doğal bileşenlerdendir. RAC'ye bağlı-PAK down regülasyon testinde, kafeik asit RAC1 aktivitesini açıkça inhibe ettiği gösterilmiştir [31]. Propolisin en önemli bileşenlerinden biri olan kafeik asit fenetil ester (CAPE), RAC'yi down- regüle etme özelliği göstermesi şu nedenle önemlidir ki (PAK1) blokerinin aktivasyonu RAC / CDC42 ile gerçekleşir [28]. Bu verilerin ışığında, farklı bölgelerden toplanan tüm propolis çeşitleri için ortak olan, istisnasız PAK1-blokerleri içermesidir [32]. Bu etkiler nedeni ile CAPE'nin akciğerlerde koronavirüs kaynaklı fibrozu durdurmak veya inhibe etmek için bir ajan olarak yararlı olabileceği fikrini vermektedir [28].



Şekil 1: Viral enfeksiyona karşı PAK-1 blokerlerinin ikili hamlesi [28].

3.3. Koronavirüse karşı propolis

Reçineden ekstrakte edilen flavonoidlerin (kaempferol, akasetin, quercetin, galangin ve chrysine) değişken dozlarda sitotoksik olduğu bilinmektedir [33]. SARS araştırmacıları, C vitamini ile birlikte quercetin etkili bir amino peptidaz inhibitörü olduğunu tespit etmişlerdir. Propolis'te bulunan bir flavonol olan quercetin'e özellikle dikkat çekilmektedir [34]. Quercetin ve türevleri in vitro ortamda, SARS CoV-1 ve MERS-CoV ana proteaz aktivitesini inhibe etmiştir. Ayrıca hücresel katlanmamış protein tepkisini (UPR) modüle etmiştir. Koronavirüslerin replikasyonlarında proteazların ve UPR'nin etkisinin önemi fazladır. Quercetin'in bu proteaz aktivitesini inhibe etmesi ve UPR'nin etkisinin modüle edilmesi yoluyla anti-koronavirüs etkilerine

sahip olduğu anlaşılmıştır [33]. Debiaggi ve arkadaşları viral plak indirgeme tekniğini kullanarak hücre kültüründe virüs çoğalmasının miktarını tespit ettikleri çalışmada, doğal propolisten elde edilen bazı bileşenlerin koronavirüs dahil olmak üzere çeşitli DNA ve RNA virüsleri üzerindeki etkilerini araştırdılar. Akasetin ve galangin bileşenlerinin çalışılan virüslerin üzerine herhangi bir enfektivitesi ve replikasyonu üzerine hiçbir etkiye sahip olmadığını, buna karşın krizin ve kaempferolun replikasyonları inhibe etme konusunda oldukça aktif olduğunu gördüler [35]. Yu ve ark. SARS-CoV-1 enfeksiyonunda virüsün replikasyonunu inhibe eden, propolisin de yapısında bulunabilen myricetin 3,7,4',5'-tetramethyl ether, Scutellarein (Sc) ve flavonoidlerinde içinde bulunduğu 64 bileşen üzerine yaptıkları çalışmada, myricetin ve scutellareinin, SARS-CoV helikaz proteini in vitro olarak ATPaz aktivitesini etkileyerek inhibe ettiği ve SARS-CoV kimyasal inhibitörleri olarak işlev görebileceğini göstermişlerdir. Bu çalışma ile ilk kez propolisin de yapısında bulunabilen, myricetin 3,7,4',5'-tetramethyl ether ve Scutellarein (Sc) SARS-CoV kimyasal inhibitörleri olarak işlev görebileceğini göstermektedir [36,37]. SARS-CoV-1'in 3CL gen parçasının inhibitörleri üzerine yaptıkları çalışmada, flavon (apigenin, luteolin ve quercetin) bileşenleri çalışılmış ve çalışma sonucunda, Türk propolisinde de var olan apigenin, luteolin, ve quercetin, SARS-CoV-1 üzerine sırasıyla 3CL (pro) aktivitesini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Biflavon 3CL (pro) inhibitör aktivitesi üzerinde bir etkiye sahip olduğundan, flavonların C-3 'pozisyonunda bir apigenin parçasının varlığı ile daha güçlü aktivitenin ilişkili olduğu görülmüştür [39,40].

3.4. Propolis'in immünmodülasyonu

Tüm propolis çeşitleri antimikrobiyal, anti-neoplastik, anti-enflamatuar, antioksidan, hepatoprotektif, kariostatik ve immünoestimülator aktiviteye sahiptir ve spesifik olmayan bağışıklığı modüle etme özelliği vardır. Brezilya yeşil propolisinin uygulanmasının yaşlı farelerde doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir [15,41]. Propolis ve bazı bileşenleri (sinnamik ve p- koumarik asitler), makrofajlar tarafından salgılanan TNF- α ve interlökin (IL)-1 β üretimini uyarır [42,43]. Bir propolis bileşenleri olan sinnamik asit ve L-lizin kompleksinin konak savunma mekanizmaları üzerindeki etkisi araştırıldı. Klebsiella pneumoniae ile aşılardan önce arka arkaya 3 gün boyunca farelere sinnamik asit lizin kompleksinin, (CN • Ly) intraperitoneal (ip) uygulanmasından sonra koruyucu bir etki gözlenmiştir. CN • Ly'nin etkisi, timik ve dalak lenfositlerinin proliferasyonunu ve mitojen kaynaklı proliferasyonun artırılması ve interlökin-1 (IL-1) ve interlökin-2'nin (IL-2) salınması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu deneylerin tamamında, karşılaştırma için propolis kompleksi içindeki lizin içeriğine eşdeğer bir konsantrasyonda lizin çözeltisi kullanıldı. Sonuçlar,

serbest lizinin baskın olarak T-lenfositleri üzerinde mitojen etki yaparak, T-lenfositleri miktarını artırdı. [44]. Brezilya'da toplanan propolisin immüno-modulator etkisi Leishmania (Viannia) braziliensis deneysel enfeksiyonunda değerlendirildi. Bu çalışmadan elde edilen veriler, propolis ile inkübe edilmeyen gruba göre, propolis ile inkübe edilen makrofajların, Leishmania (Viannia) braziliensis üzerine daha fazla fagosite özelliği kazandırdığı sonuçları elde edildi. Ayrıca propolis ile ön-muamele görmüş farelerde TNF- α üretiminde artış gözlenmiş, enfeksiyon sırasında IL-12 regüle edilmiştir [45]. Propolisin immüno-modulator etkisi sadece makrofajlar üzerine etkisi ile sınırlı kalmamış, bir çok çalışmada lenfosit proliferasyonu üzerinde de bir etkisi olduğu ortaya konulmuştur [44,46]. Sá-Nunes ve ark. Brezilya yeşil propolisinin splenosit proliferasyonu üzerine inhibe edici etkileri, flavonoidlere atfedilen etki ve dalak hücreleri tarafından interferon- (IFN-) γ üretimi üzerindeki artırıcı etkileri gösterdiğini gözlemlemişlerdir [47]. Bağışıklıkta önemli role sahip olan, insan dendritik hücreleri Dendritic cells (DCs) olgunlaşma sürecinde etkisi olan, NF-kB, miRNA ekspresyonu, yüzey reseptör ekspresyonu ve sitokin üretimi gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu artırmaktadır. Propolis, insan dendritik hücrelerini aktive ederek NF-kB sinyal yolunu ve TNF- α , IL-6 ve IL-10 üretimini indükler. Öte yandan propolis, çeşitli TLR ligandları, TNF- α ve IFN α 'ya yanıt olarak DC aktivasyonu ve olgunlaşmasının genel bir özelliği olan miR-155 ekspresyonunu artırır. Propolis, LPS varlığında NF - kB sinyal yolunu ve TNF- α , IL - 6 ve IL - 10 üretimini indükleyerek insan DCs'lerini aktive ettiği saptandı. Ayrıca, hsa-miR-148a ve hsa-miR-148b'nin inhibisyonu, HLA-DR ve pro-enflamatuar sitokinler üzerindeki önleyici etkileri ortadan kaldırdı. Bütün bu veriler gösterdi ki propolis, bağışıklık tepkisinin ilk adımı olan DCs'lerin olgunlaşması ve işlevini modüle ederek kısa süre içerisinde konağın enfeksiyona karşı tepki vermesini sağlar [14].

Propolis gibi doğal maddeler, immüno-modulator etkileri nedeniyle farklı hastalıkların tedavisinde alternatif adjuvan tedaviler olarak kabul edilir [38,47,48]. Propolisin antikor sentezini modüle etme yeteneği, adjuvan aktivitesinin bir parçasıdır, çünkü son zamanlarda propolisin doğuştan gelen bağışıklık tepkisinin farklı hücreleri üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir [49,50]. İnaktif aşılarda bağışıklık seviyesini artırmada kullanılan adjuvan olarak propolis değerlendirilmesi çalışılmış ve propolisin bir aşı adjuvanı olarak kullanılması durumunda, aşılardan insanlarda antikor titrelerinin yükseldiği, bağışıklık koruma süresinin uzatıldığı belirlendi [51,52]. Deneysel olarak sıçanlara propolis adjuvanı içeren aşılarda uygulanması ile, sıçanlarda uygulanan aşılara karşı oluşan antikor üretimini arttırdığı saptandı [49,50]. Adjuvan olarak aşı içerisine katılmadan, Wei-Hua Chu tarafından

yapılan bir deneysel çalışmada aşılınmış balıklara sonradan propolis verilmesi, lökosit aktivitesini ve antikor titresini uyardığı ve enfeksiyonlarla mücadelede mücadeleyi takiben balıkların hayatta kalma oranını arttırdığı gösterilmiştir [53]. Yapılan çalışmalarda propolisin elde edildiği mevsim ve coğrafi kökeninden bağımsız olarak antikor üretimini uyardığı sonucuna varılmıştır [54]. Propolisin aktif bir bileşeni olan kafeik asit fenetil esterinin (CAPE), CAPE'nin in vivo immünomodülatör aktivite üzerindeki etkisi araştırılmış ve bağışıklıkta önemli rol oynayan periferik blood CD4+T-lymphocyte hücreleri, sitokin, IL-2, IL-4 ve IFN- γ seviyeleri kontrol gruba göre CAPE'ye maruz kalan grupta önemli ölçüde artmıştır [55,56]. CAPE ve propolis'in allerjik bozuklukların tedavisinde yararlı olabileceğini önermek de mümkündür. CAPE, astım ve allerjik rinit gibi allerjik hava yolu hastalığının patogenezi ile ilgili CAPE'nin, lipopolisakkaritler (LPS) ile uyarılmış olgun sağlıklı insan IL-12 p40, IL-12 p70, IL-10 protein ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür. Bu inhibisyona bağlı olarak allerjik reaksiyonları azalttığı tespit edilmiştir [48]. Propolis, IFN- γ üreten CD4+ T lenfosit hücrelerinin frekansını Th1-polarizasyon koşulları altında doza bağlı bir şekilde azalttığı ve propolisin Th1 farklılaşması üzerindeki inhibitör etkisi in vivo olarak da gösterilmiştir [57]. (Tablo 1)

3.5. SARS CoV-2 hastaları propolisini ne oranda kullanmalı

Bağışıklık sistemi dengesizlikleri insanlarda çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Bu bağlamda proinflatuar sitokin sentezi, bağışıklık hücresi regülasyonu ve gen ekspresyonuna müdahale ederek bağışıklıkta önemli bir rol oynayabilir [66]. Spesifik beslenme sağlayan veya birden fazla fonksiyonel bileşeni hedefleyen olarak tanımlanan fonksiyonel gıdalar Proinflatuar sitokin sentezi için bir önleyici ilaç biçimi olarak kabul edilmektedir [67]. Propolisin kullanımı toplandığı bölgeye göre değişiklik gösterebilmesini de hesaba katarak genel kullanımda propolis için günlük 10-20 damlaya kadar tavsiye edilmesinin yanında bilimsel bir araştırmada fonksiyonel gıdalardan birisi olan propolisin kullanımı ile ilgili şu dozlar çalışılmıştır:

SARS CoV-2 hastalarında kullanımı ise 21 Temmuz 2020 tarihinde D'Or Araştırma ve Eğitim Enstitüsü araştırmacıları, Sao Rafael Hastanesinde SARS CoV-2'dan etkilenen hastalarda Brezilya Yeşil Propolis Ekstraktının (EPP-AF) kullanımı ile ilgili hastalar 3 gruba bölündü. Kontrol grubuna SARS CoV-2'a karşı standart bakım; standart tedavi, gerektiğinde, tamamlayıcı oksijen (invaziv olmayan ve invaziv), antibiyotikler veya antiviraller, kortikosteroidler, vazopresör desteği, renal replasman tedavisi ve ekstrakorporeal membran oksijenlenmesini (ECMO) içerecek şekilde uygulandı. İkinci gruba standart tedaviye ek olarak oral veya nazal tüp yoluyla uygulanan yeşil propolis özütü EPP-AF 400mg / gün dozunda verildi. Üçüncü gruba ise standart tedaviye ek

olarak oral veya nazal tüp yoluyla yeşil propolis özütü EPP-AF 800mg / gün dozunda verildi [68,69].

3.6. SARS CoV-2 hastalarının tedavisinde propolis kullanırken oluşabilecek yan etkiler

Çok sayıda rapora göre, propolis toksik değildir ve güvenlidir. Fakat propolis bileşiminde 26'dan fazla allerjenik madde belirlenmiştir. En sık olarak, allerjik reaksiyon, kavak tomurcuklarından elde edilen kafeik asit ve sinamik asit esterlerinden kaynaklanır. Aşırı duyarlı insanlarda, kontakt allerjik reaksiyona neden olmaktadır. Bu esterlerin diğer materyallerde bulunması nedeniyle, çapraz allerjik reaksiyon meydana gelebilmektedir [15, 70].

4. SONUÇLAR

İçeriğinde 600'den fazla doğal bileşen tanımlanan propolisin içerik zenginliği adeta onu bir şifa kaynağı yapmaktadır. Propolis, Dünyayı saran SARS CoV-2 salgınına karşı immün sistemde yaptığı modülasyonlarla, PAK-1 bloker etkisi, erken ve daha yüksek bağışıklığın uyarılması, antikor titrelerinin yükseltilmesi, bağışıklık koruma süresinin uzatılması gibi immünomodülatör etkilere sahip olması ile virüslerle mücadelede dikkat çekici bir ürün olduğunu göstermektedir. Ayrıca antiviral aktivitesi in vitro ve in vivo olabildiği, yöresel ve bölgesel olarak toplanıp bitki florasına bağlı olarak propolisin özelliklerinin de değişeceği göz önünde bulundurularak detaylı araştırılması, laboratuvar ve klinik çalışmalarda canlıların sağlığını tehdit eden virüslerin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için propolis etkilerinin belirlenmesinin yanında, SARS CoV-2 ile enfekte hastalarda ve diğer koronavirüs enfekte canlılarda etkisinin araştırılması ve üzerinde durulması gereken doğal, fonksiyonel bir ürün olduğu sonucuna varılmaktadır.

Kısaltmalar

CAPE: Kafeik Asit Fenetil Ester; DC'ler: Dendritik Hücreler; IFN-y: İnterferon-y; IL: İnterlökin; LPS: Lipopolisakkaritler; MAPK: Mitojenle Aktifleştirilen Protein Kinaz; NF- κ B: Nükleer Faktör- κ B; Th1,2: B Lenfositleri Aktive Edildiğinde Farklılaşan T Lenfosit Hücre Çeşitleri HLA-DR: Kromozom 6 Bölgesi 6p21.31 Üzerinde İnsan Lökosit Antijen Kompleksi Tarafından Kodlanan Bir MHC Sınıf II Hücre Yüzey Reseptörü; İntraperitoneal enjeksiyon veya bir IP enjeksiyon: Bir Maddenin Karın Zarı (Vücut Boşluğuna) Enjeksiyonu; NFAT: T-Hücrelerinin Nükleer Faktörü; CN • Ly: Sinamik Asit Lizin Kompleksi; EPP-AF: Brezilya Yeşil Propolis Ekstraktı; TLR: Toll Benzeri Reseptörler; ACE2: Anjiyotensin dönüştürücü enzim 2; MoDC: İnsan Monosit Türevi Dendritik Hücre; TMPS2: Transmembran Proteaz Serin 2; PAK 1: İnsanlarda PAK1 Geni Tarafından Kodlanan Bir Enzim; Severe Acute Respiratory Syndrome-1 (SARS-CoV-1) ve Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV).

Tablo 1: Propolis ve kimyasal bileşenlerinin immünomodülatör aktivitesi [66]

Menşei	Propolis tipi/bitki kaynağı	Ekstrakt / izole edilmiş bileşik (ler) in tipi	Türler / Hücreler	Etki	Ref.
Brezilya	Yeşil propolis / <i>B.dracunculifolia</i>	Propolis	Erkek BALB / c fareleri	Reseptör-2 ve reseptör-4 ekspresyonunun up regülasyonu ve interlökin-1 ve interlökin-6 üretiminde artışlar	[47]
			Erkek C57BL / 6 fare, B16F10 hücre hattı	İnterlökin-2 ve interlökin-10 ve Th1 sitokin (interlökin-2 ve IFN- γ) üretiminin ekspresyonu ve üretiminin uyarılması	[58]
			Erkek BALB / c fareleri	Th1 hücrelerinin oluşumunun inhibisyonu; Th1-polarizasyon koşulları altında IFN- γ üreten CD4+ T hücrelerinin frekansının azaltılması	[57]
			Erkek BALB / c fareleri	Periton makrofajlarında H ₂ O ₂ jenerasyonu artışı ve NO jenerasyonu azalması	[58]
			Erkek BALB / c fareleri	Makrofajlar ile <i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i> 'in parazitlerinin içselleştirilmesi ve öldürülmesinde artış ; TNF- α üretiminde artış ve interlökin-12 üretiminde azalma	[45]
			İnsan kanından monositler	İnsan monositlerinde TLR-4 ve CD80 ekspresyonu ile TNF- α ve IL-10 üretimi	[59]
			Melanom hücreleri (B16F10); erkek C57BL / 6 fare	LPS-stresli farelerde IL- 1 β ve IL-6'nın azaltılması ; kronik strese maruz kalmış ya da edilmemiş melanom taşıyan farelerde IL-1 β ve IL-6 ve Th1 sitokinlerinin uyarılması	[60]
Brezilya'da n Satın Alındı: Acros Organics	Yeşil propolis / <i>B. dracunculifolia</i>	Sinamik ve kumarik asitler	Erkek BALB / c fareleri	İnterlökin-1 β üretiminin uyarılması ve interlökin-6 ve interlökin-10 yapımlarının inhibisyonu	[42]
Brezilya'da n Satın Alındı: Acros Organics	Avrupa, Brezilya, Rusya, Akdeniz ve Avustralya tipi propolis karakteristiği	Kafeik asit	İnsan kanından monositler	<i>C. albicans</i> 'a karşı monosit aktivitesinin uyarılması ; TLR-2 ve HLA-DR ekspresyonunun downregülasyonu ve sitokin üretiminin inhibisyonu	[61]
Brezilya'da n Satın Alındı: Acros Organics	Avrupa, Brezilya, Rusya, Akdeniz ve Avustralya tipi propolislerin özellikleri	Sinamik asit	İnsan kanından monositler	Downregulation of toll-like receptor-2 , insan antijeni sunan hücrelerden HLA-DR moleküllerinin ve CD80'in downregülasyonu; reseptör-4 Toll benzeri, TNF-a inhibisyonu upregülasyonu, α ve interlökin-10 üretimi	[62]
Satın alındı: Sigma Aldrich Co.		Sinamik asit	Dişi IRC fareleri	Lenfosit proliferasyonunun artması ve sitokinlerin interlökin-1 ve interlökin-2'nin salınması	[44]
Brezilya	Yeşil propolis / <i>Baccharis dracunculifolia</i>	Hidroalkolik (HPE) çözümü	Erkek BALB / c fareleri	H ₂ O ₂ jenerasyonunda artış ve NO jenerasyonunda azalma	[63]
			Erkek BALB / c fareleri	Dalak hücreleri çoğalması ve dalak hücreleri tarafından IFN- γ üretiminin artması	[46]
Endonezya	Pasifik bölgesi propolis / <i>Macaranga tanarius</i> ve <i>M. indica</i>	HPE	Erkek BALB / c fareleri	IgG üretimi ve makrofaj fagositoz aktivitesi ve kapasitesinin artması	[64]
Türkiye	Akdeniz propolis / <i>Populus türleri</i> , <i>Okalipütis türleri</i> ve <i>Castanea sativa</i>	Propolis	Sağlıklı insanlardan alınan periferik kan mononükleer hücreleri	Neopterin salınımı ve triptofan yıkımının baskılanması, indoleamin 2,3-dioksijenazın (IDO) enziminin aşağı regülasyonu ve IFN- γ ve TNF- α seviyelerinin azalması	[65]
Satın alındı: Sigma Aldrich Co.	Avrupa tipi propolis karakteristiği	CAPE	Periferik monositlerden üretilen insan monosit türevi dendritik hücreler (MoDC'ler)	IL-12 p40, IL-12 p70, IL-10, IFN- γ - indüklenebilir protein- (IP-)10 seviyelerinin inhibisyonu ; I κ B α fosforilasyonunun inhibisyonu ve NF- κ B aktivasyonu	[48]
			Dişi BALB / c fareleri	IgM antikor üretimi, T lenfosit proliferasyonu, interlökin-4 ve splenositler ile interlökin-2 üretimi ve IFN- γ üretimi artışı	[55]
			İnsan periferik kan mononükleer hücreleri, jurkat hücreleri	Transkripsiyon faktörlerinin NF- κ B ve NFAT'ın inhibisyonu; interlökin-2 gen transkripsiyonunun, interlökin-2 reseptör ekspresyonunun inhibisyonu ve insan T hücrelerinin proliferasyonu	[56]

KAYNAKLAR

- [1] Li C, Zhao C, Bao J et al. Laboratory diagnosis of coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Clin. Chim. Acta.* 2020;510:35–46.
- [2] Masters PS. Coronavirus genomic RNA packaging. *Virology* 2019;537:198–207.
- [3] Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019;17(3):181–192.
- [4] Zhong NS, Zheng BJ, Li YM et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *Lancet* 2003;362(9393):1353–1358.
- [5] Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 2012;367(19):1814–1820.
- [6] De Wit E, Van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016;14(8):523–534.
- [7] Su S, Wong G, Shi W et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol.* 2016;24(6):490–502.
- [8] Zhu N, Zhang D, Wang W et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020;382(8):727–733.
- [9] Docea AO, Tsatsakis A, Albulescu D et al. A new threat from an old enemy: Re-emergence of coronavirus (Review). *Int. J. Mol. Med.* 2020;45(6):1631–1643.
- [10] Madabhavi I, Sarkar M, Kadakol N. CoviD-19: A review. *Monaldi Arch. Chest Dis.* 2020;90(2):248–258.
- [11] Chen N, Zhou M, Dong X et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020;395(10223):507–513.
- [12] Huleihel M, Ishano V. Effect of propolis extract on malignant cell transformation by Moloney murine sarcoma virus. *Arch. Virol.* 2001;146(8):1517–1526.
- [13] Gekker G, Hu S, Spivak M et al. Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *J. Ethnopharmacol* 2005;102(2):158–163.
- [14] Sforcin JM. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phyther. Res.* 2016;30(6):894–905.
- [15] Kurek-Górecka A, Górecki M, Rzepecka-Stojko A et al. Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules* 2020;25(3):556.
- [16] Pascoal A, Feás X, Dias T et al. The Role of Honey and Propolis in the Treatment of Infected Wounds. *Microbiol. Surg. Infect. Diagnosis, Progn. Treat., Elsevier Inc.* 2014:221–234.
- [17] Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. Evidence-based Complement. *Altern. Med.* 2013;2013:13.
- [18] Salatino A, Teixeira ÉW, Negri G, Message D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence-based Complement. *Altern. Med.* 2005;2(1):33–38.
- [19] Maksimova-Todorova V, Manolova N, Gegova G et al. Antiviral action of fractions isolated from propolis. *Acta Microbiol. Bulg.* 1985;17:79–85.
- [20] J Starzyk, S Scheller, J Szaflarski, M Moskwa AS. Biological Properties and Clinical Application of Propolis. II. Studies on the Antiprotozoan Activity of Ethanol Extract of Propolis. *Arzneimittelforschung* 1977;27(6):1198–9.
- [21] Fokt H, Pereira a, Ferreira a M et al. How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Appl. Microbiol.* 2010:481–493.
- [22] Henry K. The Propolis Book 2012; (January):1–15.
- [23] Búfalo MC, Figueiredo AS, De Sousa JPB et al. Anti-poliovirus activity of *Baccharis dracunculifolia* and propolis by cell viability determination and real-time PCR. *J. Appl. Microbiol.* 2009;107(5):1669–1680.
- [24] Amoros M, Sauvager F, Girre L, Cormier M. In vitro antiviral activity of propolis. *Apidologie* 1992;23(3):231–240.
- [25] Ma X, Guo Z, Zhang Z et al. Ferulic acid isolated from propolis inhibits porcine parvovirus replication potentially through Bid-mediate apoptosis. *Int. Immunopharmacol.* 2020;83:106379.
- [26] Bachevski D, Damevska K, Simeonovski V, Dimova M. Back to the basics: Propolis and COVID-19. *Dermatol. Ther.* 2020; 33(4):3–5.
- [27] Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 2020;181(2):271–280.e8.
- [28] Maruta H, He H. PAK1-blockers: Potential Therapeutics against COVID-19. *Med. Drug Discov.* 2020;6:100039.
- [29] Nguyen BCQ, Yoshimura K, Kumazawa S et al. Frondoside A from sea cucumber and nymphaeols from Okinawa propolis: Natural anti-cancer agents that selectively inhibit PAK1 in vitro. *Drug Discov. Ther.* 2017;11(2):110–114.
- [30] Taira N, Nguyen BCQ, Be Tu PT, Tawata S. Effect of Okinawa Propolis on PAK1 Activity, *Caenorhabditis elegans* Longevity, Melanogenesis, and Growth of Cancer Cells. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(27):5484–5489.
- [31] Xu JW, Ikeda K, Kobayakawa A et al. Downregulation of Rac1 activation by caffeic acid in aortic smooth muscle cells. *Life Sci.* 2005;76(24):2861–2872.
- [32] Maruta H. Herbal therapeutics that block the oncogenic kinase PAK1: A practical approach towards PAK1-dependent diseases and longevity. *Phyther. Res.* 2014;28(5):656–672.
- [33] González-Búrquez MDJ, González-Díaz FR, García-Tovar CG et al. Comparison between in Vitro Antiviral Effect of Mexican Propolis and Three Commercial Flavonoids against Canine

- Distemper Virus. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2018;7092416.
- [34] Syed S, Saleem A. Severe Acute Respiratory Syndrome Epidemiology and Control. Lab. Med. 2004; 35(2):112–116.
- [35] Debiaggi M, Tateo F, Pagani L et al. Effects of propolis flavonoids on virus infectivity and replication. Microbiologica 1990; 13(3):207–213.
- [36] Yu MS, Lee J, Lee JM et al. Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13. Bioorganic Med. Chem. Lett. 2012;22(12):4049–4054.
- [37] Kumova U, Korkmaz A, Avcı BC, Ceyran G. Önemli bir arı ürünü : Propolis Derleme (Review). Uludag Bee J. 2002; (May):10–23.
- [38] Lin Y, Ren N, Li S et al. Novel anti-obesity effect of scutellarein and potential underlying mechanism of actions. Biomed. Pharmacother. 2019;117:109042.
- [39] Ryu YB, Jeong HJ, Kim JH et al. Biflavonoids from *Torreya nucifera* displaying SARS-CoV 3CLpro inhibition. Bioorganic Med. Chem. 2010; 18(22):7940–7947.
- [40] Altun SK. Phenolic Characterization of Some Propolis Samples of Anatolia. 2020; 9(2):97–104.
- [41] Gao W, Wu J, Wei J et al. Brazilian green propolis improves immune function in aged mice. J. Clin. Biochem. Nutr. 2014; 55(1):7–10.
- [42] Bachiega TF, Orsatti CL, Pagliarone AC, Sforcin JM. The effects of propolis and its isolated compounds on cytokine production by murine macrophages. Phyther. Res. 2012;26(9):1308–1313.
- [43] Conti BJ, Santiago KB, Cardoso EO et al. Propolis modulates miRNAs involved in TLR-4 pathway, NF- κ B activation, cytokine production and in the bactericidal activity of human dendritic cells. J. Pharm. Pharmacol. 2016;68(12):1604–1612.
- [44] Ivanovska N, Neychev H, Stefanova Z et al. Influence of cinnamic acid on lymphocyte proliferation, cytokine release and *Klebsiella* infection in mice. Apidologie 1995; 26(2):73–81.
- [45] Da Silva SS, Thomé GDS, Cataneo AHD et al. Brazilian propolis antileishmanial and immunomodulatory effects. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2013.
- [46] Sá-Nunes A, Faccioli LH, Sforcin JM. Propolis: Lymphocyte proliferation and IFN- γ production. J. Ethnopharmacol. 2003;87(1):93–97.
- [47] Orsatti CL, Missima F, Pagliarone AC et al. Propolis immunomodulatory action in vivo on Toll-like receptors 2 and 4 expression and on pro-inflammatory cytokines production in mice. Phyther. Res. 2010;24(8):1141–1146.
- [48] Wang LC, Lin YL, Liang YC et al. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the functions of human monocyte-derived dendritic cells. BMC Immunol. 2009;10:39.
- [49] Murad JM, Calvi SA, Soares AMVC et al. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. J. Ethnopharmacol. 2002;79(3):331–334.
- [50] Sforcin JM, Kaneno R, Funari SRC. Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. J. Venom. Anim. Toxins 2002;8(1):19–29.
- [51] Fischer G, Conceição FR, Leite FPL et al. Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with SuHV-1. Vaccine 2007;25(7):1250–1256.
- [52] Shen Z, Medicine YY. Propolis, a new adjuvant. Chinese J. Prev. Vet. Med. 1989; 5:55–57.
- [53] Chu WH. Adjuvant effect of propolis on immunisation by inactivated *Aeromonas hydrophila* in carp (*Carassius auratus gibelio*). Fish Shellfish Immunol. 2006;21(1):113–117.
- [54] Sforcin JM, Orsi RO, Bankova V. Effect of propolis, some isolated compounds and its source plant on antibody production. J. Ethnopharmacol. 2005;98(3):301–305.
- [55] Park JH, Lee JK, Kim HS et al. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. Int. Immunopharmacol. 2004; 4(3):429–436.
- [56] Márquez N, Sancho R, Macho A et al. Caffeic Acid Phenethyl Ester Inhibits T-Cell Activation by Targeting Both Nuclear Factor of Activated T-Cells and NF- κ B Transcription Factors. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2004; 308(3):993–1001.
- [57] Okamoto Y, Hara T, Ebato T et al. Brazilian propolis ameliorates trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice by inhibiting Th1 differentiation. Int. Immunopharmacol. 2013;16(2):178–183.
- [58] Missima F, Sforcin JM. Green Brazilian propolis action on macrophages and lymphoid organs of chronically stressed mice. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2008; 5(1):71–75.
- [59] Búfalo MC, Bordon-Graciani AP, Conti BJ et al. The immunomodulatory effect of propolis on receptors expression, cytokine production and fungicidal activity of human monocytes. J. Pharm. Pharmacol. 2014;66(10):1497–1504.
- [60] Sforcin J. The effect of propolis on pro-inflammatory cytokines produced by melanoma-bearing mice submitted to chronic stress. J. ApiProduct ApiMedical Sci. 2009; 1(1):11–15.
- [61] Búfalo MC, Sforcin JM. The modulatory effects of caffeic acid on human monocytes and its involvement in propolis action. J. Pharm. Pharmacol. 2015;67(5):740–745.
- [62] Conti BJ, Búfalo MC, Golim MDA et al. Cinnamic acid is partially involved in propolis immunomodulatory action on human monocytes. Evidence-based Complement. Altern. Med. 2013;2013:1–8.
- [63] Orsi RO, Funari SRC, Soares AMVC et al. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. J. Venom. Anim. Toxins 2000; 6(2):205–219.
- [64] Syamsudin, Dewi RM. Immunomodulatory and In vivo Antiplasmodial Activities of Propolis Extracts Research and Development Center for Pharmacy

- and Biomedicine , Jakarta , Jl Percetakan Negara , Jakarta , Indonesia Department of Pathology , Faculty of Medicine , University of I. Am. J. Pharmacol. Toxicol. 2009;4(3):75–79.
- [65] Girgin G, Baydar T, Ledochowski M et al. Immunomodulatory effects of Turkish propolis: Changes in neopterin release and tryptophan degradation. *Immunobiology* 2009;214(2):129–134.
- [66] Ding S, Jiang H, Fang J. Review Article Regulation of Immune Function by Polyphenols. *J. Immunol. Res.* 2018.
- [67] del Cornò M, Scazzocchio B, Masella R, Gessani S. Regulation of Dendritic Cell Function by Dietary Polyphenols. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2016;56(5):737–747.
- [68] Propolis: Uses, Side Effects, Interactions, Dosage, and Warning, Available from: <https://www.webmd.com/vitamins/ai/ingredientmono-390/propolis>.
- [69] The Use of Brazilian Green Propolis Extract (EPP-AF) in Patients Affected by COVID-19. - Full Text View - [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04480593#moreinfo), Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT04480593#moreinfo>.
- [70] Pobiega K, Kraśniewska K, Gniewosz M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends Food Sci. Technol.* 2019; 83:53–62.