

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Pólen Apícola: Benefícios Nutricionais e
Medicinais
Faculdade de Ciências e Tecnologias

Oleksiy Stopin

Dissertação
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel

2020

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Pólen Apícola: Benefícios Nutricionais e
Medicinais
Faculdade de Ciências e Tecnologias

Oleksiy Stopin

Dissertação
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel

2020

Pólen Apícola: Benefícios Nutricionais e Medicinais

Declaração de autoria do trabalho

Declaro ser o autor deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam na lista de referências incluída.

(Oleksiy Stopin)

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor

AGRADECIMENTOS

Ao longo de todo o meu percurso foram muitas as pessoas que me apoiaram para nunca desistir, mesmo nos momentos de maior desmotivação, e sempre me incentivaram a seguir em frente com os meus sonhos e objetivos, e por isso estou muito grato a todos os que de alguma forma foram uma fonte de força e inspiração para que chegasse até aqui.

Para elaborar esta tese de mestrado contei com o apoio e colaboração de várias pessoas, às quais deixo aqui os meus agradecimentos:

À Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel, por ter aceite ser minha orientadora, pela disponibilidade e pelos conhecimentos transmitidos;

Aos meus amigos, pela amizade e alegria, por todo o incentivo, por todos os momentos felizes que proporcionaram;

Aos meus colegas de trabalho, por sempre me terem apoiado em todo o percurso, com palavras de incentivo e orgulho;

À minha namorada, por todo o amor e confiança, por fazer o possível e o impossível para que nunca me faltasse nada, por todos os incentivos e por todo o apoio.

Obrigado!

RESUMO

Historicamente os produtos apícolas foram utilizados como uma abordagem terapêutica e no consumo de alimentos, enquanto os dados mais recentes incluem alguns detalhes importantes que poderiam validá-los como suplementos alimentares e como medicamentos devido às suas propriedades biológicas. Neste trabalho de revisão, foram abordadas diversas pesquisas científicas sobre o pólen apícola (PA), onde foram estudadas e analisadas as suas propriedades nutricionais e medicinais, bem como as principais limitações da sua utilização. A ingestão de antioxidantes dietéticos derivados de PA está associada com a prevenção e tratamento de múltiplas doenças. Os efeitos benéficos do PA na saúde resultam da presença de múltiplos polifenóis que possuem propriedades anti-inflamatórias, fitoesteróis e ácidos gordos, que desempenham funções anticancerígenas, bem como polissacáridos, que estimulam a atividade imunológica. Dos principais estudos de atividade biológica do PA, *in vitro* e experiências com animais, a estimulação da apoptose e a inibição da proliferação celular em múltiplas linhas celulares podem ser um dos principais efeitos adjuvantes terapêuticos a serem explorados na redução do crescimento dos tumores nos humanos. A crescente investigação da atividade do PA na área de urologia e na área de imunoalergologia levaram num futuro próximo a uma maior utilização do pólen apícola nos tratamentos contra a prostatite crônica nos homens e contra a febre dos fenos. Além disso, será apresentada uma discussão sobre as lacunas de investigação para ajudar a realizar novas experiências que completam as principais diretivas de eficiência, segurança e controlo de qualidade da Organização Mundial de Saúde (OMS) para estes produtos.

Palavras-chave: Pólen apícola; benefícios nutricionais; atividade biológica; aplicação terapêutica;

ABSTRACT

Historically, beehive products have been used as a therapeutic approach and in nutrition, while the latest data include some important details that could validate them as dietary supplements and as medication due to their biological properties. In this review, several scientific research on bee pollen (BP) was mentioned, where its nutritional and medicinal properties were studied and analyzed, as well as the main limitations of its use. The intake of dietary antioxidants derived from BP is associated with the prevention and treatment of multiple diseases. The beneficial health effects of BP result from the presence of multiple polyphenols, that have anti-inflammatory properties, phytosterol and fatty acids that perform anticancer functions, as well as polysaccharides, which stimulate immune activity. Of the main studies of biological activity of experiments in BP, in vitro and animals, the stimulation of apoptosis and inhibition of cell proliferation in multiple cell lines may be one of the main therapeutic adjuvant effects to be explored in reducing tumor growth in humans. The increasing investigation of BP activity in the area of urology and in the area of immunoallergology will lead, soon, to a greater use of bee pollen in treatments against chronic prostatitis in men and hay fever. In addition, a discussion regarding some important gaps in research will be presented to help carry out new experiments that complete the main World Health Organisation (WHO) efficiency, safety and quality control directives for these products.

Keywords: Bee pollen; nutritional benefits; biological activity; therapeutic application.

LISTA DE ABREVIATURAS

AF – Aflatoxinas;

AFB1 – Aflatoxina B1;

AG – Ácidos gordos;

AGE – Ácidos gordos essenciais;

AGMI – Ácidos gordos monoinsaturados;

AGPI – Ácidos gordos polinsaturados;

AGS – Ácidos gordos saturados;

AP – Alcaloides pirrolizidínicos;

BMDC - Mastócitos derivadas da medula óssea;

BPH – Hipertrofia benigna da prostática;

CAT – Catalase;

CP – Cisplatina;

CPPS – Síndrome da dor pélvica crónica;

CYP450 – Citocromo P450;

DASC – Linhas celulares de astrocitoma difuso;

DON – Desoxinivalenol;

E-BP - Extratos etanólicos de PA de *Salix* spp.;

ERO – Espécies reativas de oxigénio;

FB – Fumonisininas.

GABA – Ácido gama aminobutírico;

GP – Glutathione peroxidase;

GPX – Glutathione peroxidase;

GR – Glutathione redutase;

GSH – Glutathione;

GST – Glutathione-S-transferase;

HPLEC-PAD – Cromatografia de troca de ligandos de alto desempenho com detecção amperimétrica pulsada;

HPTLC - Cromatografia em camada fina de alto desempenho;

HUVECs – Células endoteliais da veia umbilical humana;

LC – ESIMS – Espectrometria de massa de ionização por eletrospray;

LPO – Peroxidação lipídica;

MAPK – Proteína quinase ativada por mitogénio;

MDA – Malondialdeído;

NF-kB – Fator de transcrição nuclear kappa-B;

OT – Ocratoxinas;

OTA – Ocratoxina A;

OVA – ovalbumina;

PPA – Ácido propiónico;

SOD – Superóxido dismutase;

SVGp12 – Astroglia humana normal;

TEAC – Capacidade antioxidante equivalente ao Trolox;

TMZ – Temozolomida;

U87MG – Glioblastoma multiforme humano;

VEGF – Fator de expressão renal do crescimento endotelial vascular;

ZEN – Zearalenona;

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE ABREVIATURAS	VII
1. INTRODUÇÃO	1
2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PÓLEN	3
2.1 Proteínas e aminoácidos	3
2.2 Hidratos de carbono.....	3
2.3 Lípidos.....	4
2.4 Compostos Fenólicos.....	4
2.4.1. Ácidos fenólicos.....	5
2.4.2 Flavonoides.....	7
2.5 Vitaminas e bioelementos.....	9
3. VARIABILIDADE QUÍMICA	9
4. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E ATIVIDADE	14
4.1 Atividade antioxidante e imunomoduladora.....	16
4.2 Atividade anti-inflamatória.....	17
4.3 Atividade antimicrobiana	18
4.4 Anemia e o sistema hematopoiético	19
4.5 Propriedades antialérgicas	20
4.6 Atividade antineoplásica.....	21
4.6.1 Estudos <i>in vitro</i> do pólen apícola relacionados com compostos bioativos.....	21
4.6.2 Estudos <i>in vivo</i> em modelos animais	23
Efeitos hepatoprotetores.....	23
4.6.3 Terapias complementares com aplicação de pólen apícola associadas a tratamentos antineoplásicos (atividades antinociceptivas e antiinflamatórias e ansiedade).....	25
4.7 Atividade na prostatite crónica e cancro da próstata (<i>in vitro</i>).....	27
4.8 Pólen apícola como estratégia terapêutica promissora de profilaxia contra o COVID-19 (SARS-CoV-2)	29
5. EFEITOS SECUNDARIOS E CONTAMINANTES	30
5.1 O pólen como alergénico.....	30

5.2 Elementos tóxicos e potencialmente tóxicos	32
5.3 Alcaloides pirrolizidínicos.....	33
5.4 Micotoxinas no pólen	33
6. ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS E PERSPETIVAS FUTURAS.....	34
7. CONCLUSÃO	35
8. BIBLIOGRAFIA.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas básicas de alguns ácidos fenólicos e seus derivados presentes no pólen...	6
Figura 2. Estrutura básica dos flavonoides.....	7
Figura 3. Exemplos de flavonoides presentes no PA.	8

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição floral, ano de recolha, frequência, classificação da amostra, cor dos pellets de pólen (Spulber et al., 2017).....	10
Tabela 2. Composição química e valor energético das espécies de pólen apícola (média ± desvio padrão).....	11
Tabela 3. Teor de minerais no pólen (mg/kg). (Média ± desvio padrão).....	12
Tabela 4. Propriedades terapêuticas do pólen	15

1. INTRODUÇÃO

Embora o termo pólen tenha sido estabelecido no século XVII a partir da palavra latina que define o pó fino (farinha), este material vegetal é conhecido como "alimento" há séculos. Para todos os insetos *Apidae*, e para alguns que não pertencem a este género, o pólen é a principal fonte de alimento durante o desenvolvimento. Neste sentido, as abelhas utilizam pólen para a produção de geleia real (alimentos básicos para a rainha larval e as larvas operárias) ou diretamente como alimento devido à grande quantidade de proteínas e lípidos presentes nele. Uma vez que beneficia imensamente a dieta dos insetos, o pólen tornou-se, sobretudo, um componente importante da alimentação animal, principalmente como uma fonte excepcional de proteínas e um bom substituto natural dos antibióticos. (Kostić et al., 2020)

No que diz respeito ao pólen como alimento para os seres humanos, a primeira revisão foi provavelmente apresentada nos anos 70. Os dados atualmente disponíveis sugerem que para alguns atletas de diferentes países, o pólen como suplemento dietético era um componente importante para a prevenção de algumas infeções respiratórias. Desde então, foi feito um "avanço significativo" sobre a aplicação do pólen como suplemento dietético e o número de artigos de investigação disponíveis aumentou drasticamente. A presença dominante e o alto teor de hidratos de carbono, proteínas e lípidos destacam o pólen como um suplemento natural ideal que fornece energia; tem bom valor nutricional, regula certas funções bioquímicas e fortalece os sistemas imunológicos e fisiológicos do corpo. O pólen apícola (PA) é uma fonte importante de diferentes compostos, tais como vitaminas [com a prevalência de vitaminas do grupo B, carotenoides (como luteína, β -criptoxantina e β -caroteno)], minerais, e polifenóis. Os principais compostos biologicamente ativos são os flavonoides e os fitoesteróis. (Kostić et al., 2020)

Nesta revisão são resumidos os conhecimentos sobre este produto apícola bem como do pólen obtido diretamente das flores, no que diz respeito à nutrição e possíveis aplicações de saúde e terapêuticas para um futuro mercado. Este pólen existe sob a forma de produtos específicos, comercializados com nomes diferentes. Cernitron, Cernitol e Prostat/ Poltit são preparações de pólen de relva ou centeio, enquanto Cernitin e Graminex contêm diferentes pólenes de flores. Pesquisas realizadas em ambos os tipos de pólen (pólen apícola e pólen de flores) revelam atividade biológica semelhante para ambos. (Campos et al., 2010)

A ação terapêutica mais notável do valor clínico do pólen é o seu efeito anti-prostático e anticancerígeno. Além disso, existem também referências a propriedades antianemia,

antiaterosclerótico, anti-osteoporose e efeitos anti-alérgicos, em estudos efetuados com animais. Os ensaios pré-clínicos humanos são escassos e às vezes ausentes. Nesta revisão são abordados a composição e as bioatividades do pólen apícola, baseando se em diversos estudos *in vivo* e *in vitro* que investigaram os seus efeitos anticancerígenos, a sua eficácia na prevenção e tratamento de diversas toxicidades induzidas por agentes citotóxicos em modelos animais e doentes com cancro.

Entre as doenças do século XXI, uma das maiores preocupações é o aumento do número de casos de cancro. Aprender a lidar com a doença e fornecer melhores ferramentas para os profissionais de saúde que ajudam os pacientes durante e após os tratamentos será uma forma bem sucedida de tratamento no futuro. Cirurgias, quimioterapia e radioterapia são os métodos mais utilizados, juntamente com a imunoterapia e a terapia molecular. Os factores múltiplos associados a estes protocolos conduzem, por vezes, a tumores metastáticos descontrolados, bem como a taxas elevadas de efeitos adversos. Por isso, cientistas, médicos e doentes com cancro fazem esforços e investem tempo para desenvolver esquemas de tratamentos futuros mais seguros e eficazes. A investigação com produtos apícolas chegou agora a um ponto em que será assegurado um eventual papel nesses protocolos, nomeadamente a eficácia, a segurança e o controlo da qualidade. (Mărgăoan et al., 2019)

Também foi atribuída grande importância a algumas propriedades antinutricionais do pólen e aos possíveis contaminantes, tais como os alcaloides pirrolizidínicos e micotoxinas que tornam a ingestão deste produto apícola prejudicial para a saúde humana. O pólen apícola assume importante papel como elemento causador de muitas alergias nos humanos, mas também pode ser usado para a dessensibilização dessas alergias. As vacinas à base de pólen foram utilizadas com sucesso em ensaios clínicos duplos cegos para dessensibilização contra a febre do feno e, por conseguinte, merecem uma investigação mais aprofundada. Campos et al. (2010) reviu e discutiu as estratégias de utilização e terapêutica do pólen. (2010)

O presente trabalho faz uma revisão sobre a composição química e as atividades biológicas e aplicações do pólen apícola.

2. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PÓLEN

É possível encontrar cerca de 200 substâncias nos grãos de pólen de diferentes espécies vegetais. No grupo de substâncias químicas estão incluídos proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos e ácidos gordos, compostos fenólicos, enzimas e coenzimas, bem como vitaminas e bioelementos. Além disso, no pólen, há quantidades significativas de ácidos nucleicos, especialmente RNA. (Komosinska-Vassev et al., 2015)

2.1 Proteínas e aminoácidos

O pólen apícola contém em média 22,7% de proteínas, incluindo 10,4% de aminoácidos essenciais, como metionina, lisina, treonina, histidina, leucina, isoleucina, valina, fenilalanina e triptofano. (Komosinska-Vassev et al., 2015)

Num estudo realizado por Nogueira et al. (2012), onde foram analisadas oito amostras de pólen comercial proveniente de Portugal e Espanha, o teor de proteínas mostrou diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$), para a amostra de origem espanhola, com valores que variaram entre $25,15 \pm 1,64$ e $12,50 \pm 0,58$ para as amostras espanholas e portuguesas, respetivamente. A grande variabilidade do teor proteico encontrado no pólen apícola pode ser parcialmente explicada pela variação natural da composição que é uma consequência de origens distintas das plantas. Enquanto o teor de aminoácidos e proteínas depende da origem floral, a concentração de aminoácidos essenciais é bastante estável e, portanto, não varia de acordo com a origem botânica do pólen. Além disso, as proteínas incluem os 22 aminoácidos básicos, e são adequados para o consumo humano. (Guine, 2015)

2.2 Hidratos de carbono

A análise de açúcares em cinco amostras de pólen apícola de diferentes países (Israel, China, Roménia e Espanha) realizada por Qian et al. (2008), através da cromatografia em camada fina de alto desempenho (HPTLC), cromatografia de troca de ligandos de alto desempenho com detecção amperométrica pulsada (HPLC-PAD) e HPLC acoplado à cromatografia líquida - espectrometria de massa de ionização por "eletrospray" (LC – ESIMS) permitiu detetar glicose,

frutose e sacarose como açúcares principais e, em quantidades menores, um trissacarídeo, provavelmente melezitose. (2008)

2.3 Lípidos

Entre os lípidos, que ocupam a fração de 5,1% da composição do pólen, destacam-se ácidos gordos essenciais (AGE). Ácidos como o linoleico, γ -linoleico e os fosfolípidos atingem 2,0%, enquanto os fitoesteróis, principalmente sitosterol, estão presentes na quantidade de 1,1%. (Araújo et al., 2017) De acordo com a revisão realizada por estes autores, 11 ácidos gordos foram identificados e quantificados (C_4 a C_{18}).

O ácido linolénico (Fração total de ácidos gordos polinsaturados (AGPI), C_{18} : 3n3, variando de 1,471 a 1,758 g / 100 g de pólen) e o ácido linoleico (AGPI, C_{18} : 2n6c, variando entre 0,657 e 0,970 g / 100 g de pólen) foram os ácidos gordos (AG) detectados em maiores quantidades. Ácidos palmítico (fração total de ácidos gordos saturados (AGS, C_{16} : 0) e oleico (AGPI, C_{18} : 1n9) também estavam presentes em grandes quantidades e as suas concentrações variaram significativamente entre as amostras. (Araújo et al., 2017) Os ácidos gordos saturados (AGS) variaram de $0,655 \pm 0,011$ a $1,345 \pm 0,033$; ácidos gordos monoinsaturados (AGMI) variaram de $0,328 \pm 0,024$ a $0,0950 \pm 0,028$; enquanto os valores obtidos para os ácidos gordos polinsaturados (AGPI) estavam entre $1,861 \pm 0,060$ e $2,758 \pm 0,162$. (Araújo et al., 2017)

2.4 Compostos Fenólicos

Outro grupo importante que entra na composição do pólen são compostos fenólicos que representam 1,6% do total. Este grupo inclui flavonoides, catequinas e ácidos fenólicos. Entre os flavonoides que ocorrem no pólen, existem principalmente campferol, quercetina e isorramnetina, enquanto no grupo de ácidos fenólicos, 0,2%, existe principalmente ácido clorogénico. (Komosinska-Vassev et al., 2015)

Os polifenóis são componentes do pólen que determinam a sua atividade antioxidante. O seu conteúdo ascende a 3%-5% e pode variar significativamente dependendo da origem da matéria-prima. O perfil dos compostos fenólicos devido à sua especificidade, e a estabilidade qualitativa

e quantitativa, pode servir como um indicador importante da qualidade das cargas do pólen. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

2.4.1. Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são componentes bioativos do pólen (Figura 1). O seu conteúdo ascende, em média, a 0,19%. Constituem um grupo de estruturas e propriedades variadas. As moléculas contêm um anel aromático e um grupo carboxilo. Entre eles, é possível diferenciar ácidos benzoicos, ácidos fenilacéticos e ácidos cinâmicos e seus derivados. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

Os derivados dos ácidos cinâmicos e benzoicos são os mais importantes. Os derivados do ácido cinâmico hidroxilado são antioxidantes mais eficazes do que os derivados do ácido benzoico. A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos é determinada pelo número de grupos hidroxilos, pela colocação de grupos funcionais e por quaisquer efeitos estéricos causados por eles. Os derivados da mono-hidroxilados do ácido benzóico têm as melhores propriedades antioxidantes quando o grupo hidroxilo se encontra na posição *meta*-, enquanto que os derivados di-hidroxilados do ácido benzóico são caracterizados por uma elevada atividade antioxidante quando os grupos de encontram nas posições *orto*- e *meta*-. O ácido gálico (3,4,5-ácido trihidrobenzóico) tem uma grande capacidade antioxidante, a nível da capacidade antioxidante equivalente a 3 mM trolox (TEAC), devido aos seus três grupos hidroxilo acessíveis. A fixação de grupos de metilo aos grupos 3-OH e 5-OH diminui a sua atividade em comparação com os derivados da tri-hidroxilados. A adição do terceiro grupo hidroxilo ao resorcinol (1,3 benzenediol) na posição *meta*- diminui a atividade antioxidante. Pirogalhol (1,2,3-tri-hidroxibenzeno) pode servir aqui como um exemplo. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

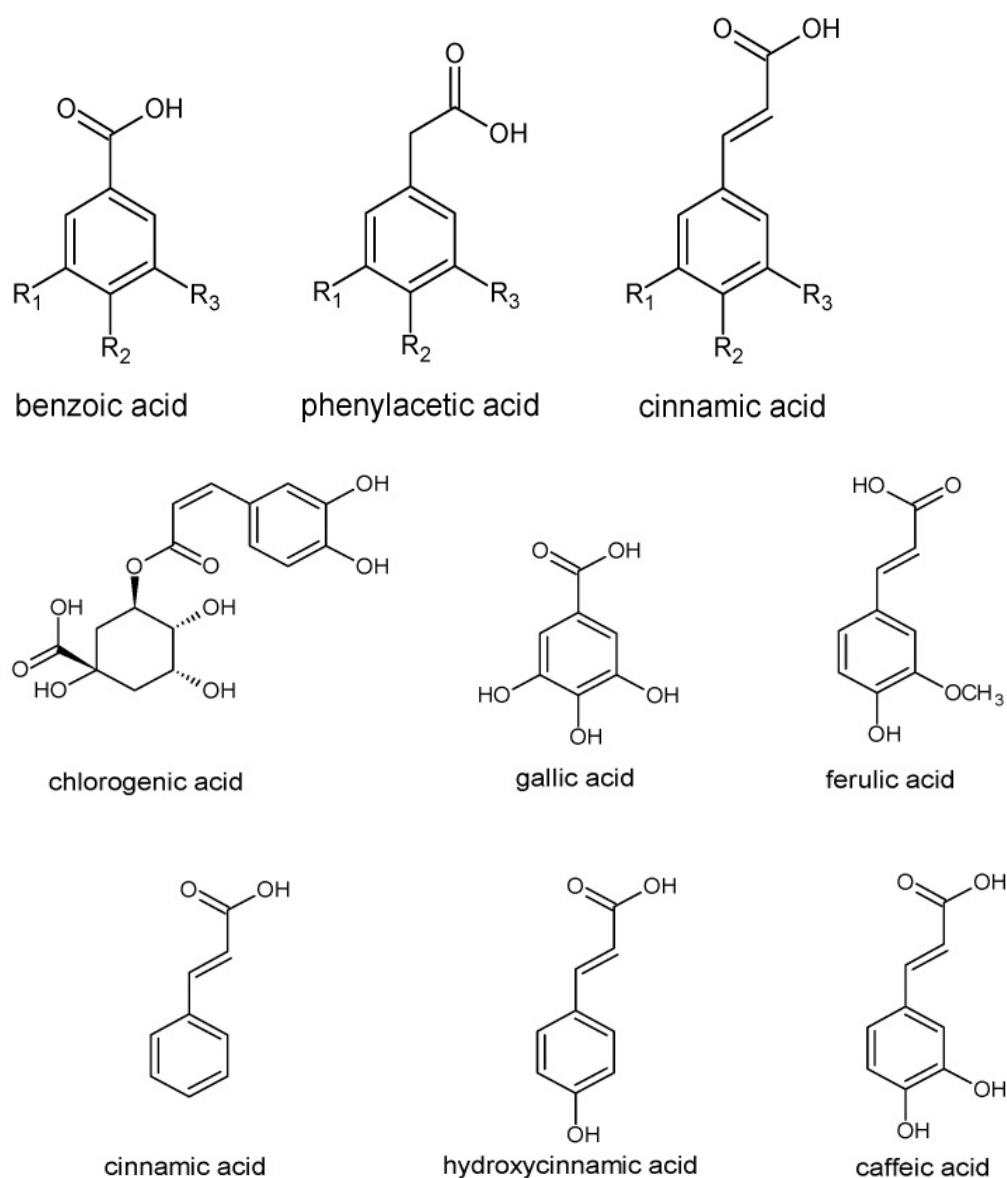


Figura 1. Estruturas básicas de alguns ácidos fenólicos e seus derivados presentes no pólen.

Os derivados do ácido cinâmico são antioxidantes mais eficazes do que os derivados do ácido benzoico devido à introdução de um grupo de etileno entre o anel fenil e o grupo carboxílico, o que aumenta a capacidade de libertação de hidrogénio. Difenóis como os ácidos cafeico, clorogénico e protocatequina demonstram uma maior capacidade de captar radicais livres do que os monofenóis. Os ácidos fenólicos mais comuns são os ácidos clorogénico, galico, ferúlico, cinâmico e o ácido cafeico, bem como o ácido hidroxicinâmico, ácidos *orto*-cumárico e *para*-cumárico. Nos compostos fenólicos presentes no pólen, foram determinados os seguintes fenilpropanóides e derivados do ácido benzoico: 3,4-ácido di-hidroxibenzoico, 4-hidroxibenzoico e ácidos vanilólicos e 4-hidroxibenzoico. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

2.4.2 Flavonoides

Os flavonoides constituem o grupo mais significativo de compostos entre os polifenóis presentes no pólen. A estrutura química dos flavonoides caracteriza-se pela presença de um sistema de anéis difenilpropanos ($C_6-C_3-C_6$) (Figura 2) com um esqueleto benzo- γ -pyrona (Figura 2). (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

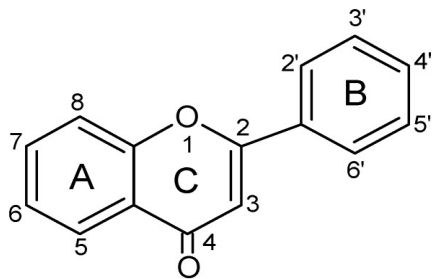


Figura 2. Estrutura básica dos flavonoides.

Sete grupos de flavonoides distinguem-se devido à sua estrutura química: flavonas, flavonois, flavanonas, flavanos, isoflavonas e chalconas. Os flavonoides estão presentes no pólen principalmente sob a forma de glicosídeos, que são moléculas com um grupo açúcar, entre os quais os glicosídeos flavonólicos estão presentes em maiores quantidades. A presença de uma ligação glicosídica reduz as propriedades antioxidativas devido aos efeitos estéricos. O nível de agliconas livres (flavonoides) é um melhor indicador da qualidade das cargas de pólen do que o teor de aminoácidos livres. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

Na composição química das cargas de pólen, entram várias formas e tipos de flavonoides. Os principais flavonois do pólen apícola são a quercetina e o campferol (Figura 3), bem como os seus glicosídeos.

Entre os glicosídeos mais comuns encontram-se a rutina (rutosido), que é quercetina 3-*O*-rutósido. A respetiva parte do açúcar é formada por dissacárido de glicose e ramnose. A estrutura da quercetina (Figura 3) é responsável pelas suas propriedades biológicas. O nível adequado de teor de rutina determina a qualidade biológica e nutricional das cargas do pólen. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

Outros glicosídeos presentes no PA são: hiperósido (quercetina-3-*O*-galactosido), querctrina (quercetina-3-*O*-ramnósido), isoquerctrina (quercetina-3-*O*-glucósido), bem como quercetina 3,7-*O*-diglucósido e quercetina-3-*O*-soforósido. Além disso, entre os flavonoides do pólen

foram identificados, a miricetina (Figura 3) e seus glicósidos, bem como 8-metoxi-herbacetina, tricetina, isorramnetina e galangina. Flavonoides menos comuns são glicosídeos específicos e característicos de plantas particulares: 8-*O*-metil-herbacetina-3-*O*-glucosido, característica do pólen coletado a partir das plantas *Raphanus raphanistrum* L. e 8-metoxikaemferol 3-neo-hesperidósido, 8-metoxi-kaempherol-3-glucósido, e kaempherol-3-neo hesperidósido do espinheiro comum *Crataegus monogyna* Jacq. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

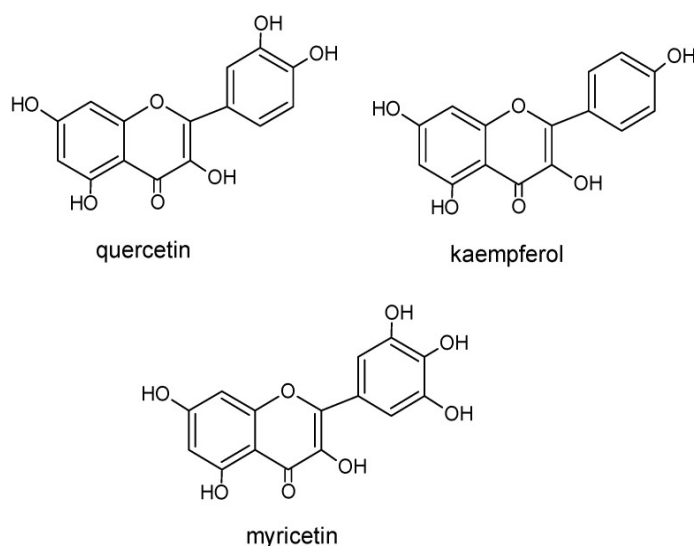


Figura 3. Exemplos de flavonoides presentes no PA.

Flavonas presentes no pólen apícola são: glicosídeos de apigenina - vitexina (apigenina-*C*-glicósido) e vitexina-*O*-ramnosido, glicósidos de luteolina e crisina. Flavanonas identificadas no pólen são naringenina e pinocembrina. Entre as isoflavonas detectadas no pólen encontram-se genisteína glicósido e selagina. Genisteína tem uma estrutura de uma isoflavona e é considerada um fitoestrogênio devido à sua capacidade de se ligar com receptores de estrogênio. Esta propriedade está intimamente relacionada com as propriedades hipolipêmicas e anticancerígenas do pólen apícola. (Rzepecka-Stojko et al., 2015)

Outros flavonoides são leucoantocianidinas e catequinas. O teor médio dos primeiros é de 0,27%. As catequinas são o grupo mais pequeno entre os flavonoides do pólen e estão, em média, presentes numa quantidade de 0,09%. O teor total de flavonoides, tanto de flavonoides livres como na forma ligada sob a forma de glicósido, varia entre 0,25% e 1,4%. (Kostić et al., 2020)

2.5 Vitaminas e bioelementos

O pólen pode conter até 0,7 g/100 g de diferentes vitaminas lipofílicas (vitaminas A e E) e vitaminas hidrofílicas (grupo B e vitamina C). Foram determinadas as seguintes concentrações de vitaminas antioxidantes A, E e C em trinta amostras de pólen coletado de pólen apícola da Turquia: 22,0-53,7 µg/g (vitamina A) 180,0-340,7 µg/g (vitamina E) e 304,3-768,3 µg/g (vitamina C). Além disso, seis amostras de pólen obtidas de um apiário local na cidade de Pariquera Açú (Brasil) continham de 14 a 119 µg/g e 19,4 a 43,0 µg/g de vitaminas C e E, respectivamente. A presença significativa de carotenoides, como precursores da vitamina A, é um benefício adicional do pólen. Esses compostos estão exclusivamente relacionados com os processos de fotossíntese e podem ser transferidos de plantas para animais e humanos através da dieta. A quantidade média de β-caroteno no pólen seco é de 0,07% (0,07 g/ 100 g). Foi relatado que as quantidades de carotenoides totais, β-caroteno e provitamina A em amostras de pólen brasileiros frescos foram as seguintes: 27,1-344,6 µg/g, 3,8-99,3 µg/g, e 0,3-6,5 µg/g, respectivamente. Concentrações semelhantes para o conteúdo de carotenoides totais (49,9-425,3 µg/g) e β-caroteno (0-13,2 µg/g) foram determinadas em amostras frescas de pólen coletadas na Romênia. Semelhante às vitaminas, os carotenoides são bastante instáveis devido à presença do sistema conjugado de ligações duplas e é por isso que eles são muito sensíveis à secagem de ar quente, cozimento e armazenamento. (Spulber et al., 2017)

3. VARIABILIDADE QUÍMICA

A identificação microscópica tem demonstrado um grande número de pólen de diversas espécies florais, por exemplo de 20 taxa ou mais têm sido identificadas. Para determinar a frequência das amostras de pólen, Spulber et al. (2017) estudou várias amostras de pólen apícola no que diz respeito à identificação botânica e verificou que cinco amostras eram monoflorais, duas amostras eram multiflorais representadas por oito espécies botânicas e três eram triflorais compostas por pólen de *Aesculus*, *Tilia* e *Zea mays*. A família *Asteraceae* foi dominante neste estudo com o maior número de espécies, presentes nas amostras seguidas por *Rosaceae*.

A identificação das cores do pólen apícola mostrou uma variabilidade evidente associada à origem botânica podendo assim ser uma ferramenta útil para a identificação macroscópica associada ao tempo de recolha e composição floral da área. Foi encontrada uma variedade de

cores, mas o amarelo é o mais prevalente. O tipo de pólen recolhido pelas colônias de abelhas tem cores de amarelo claro a roxo e vermelho escuro (Tabela 1). A maioria das amostras apresentava uma cor uniforme, diferentes tons de cor foram encontrados em algumas amostras, enquanto que nalgumas amostras foram identificados dois ou mais grupos de cores nos mesmos pellets. A identificação botânica revelou que se tratava de uma mistura de tipos de pólen. (Spulber et al., 2017)

Tabela 1. Composição floral, ano de recolha, frequência, classificação da amostra, cor dos pellets de pólen (Spulber et al., 2017)

Amostra	Origem botânica identificada	Tipo principal de pólen	Ano de colheita	Frequência (%)	Cor	Classificação da amostra
S1	<i>Brassicaceae</i>	<i>Brassica sp.</i>	2015	91	Amarelo 102 C	monofloral
S2	<i>Asteraceae</i>	<i>Carduus sp.</i>	2015	93	Roxo 5115 C	monofloral
S3	<i>Asteraceae</i>	<i>Taraxacum officinale</i>	2015	56	Laranja 130 C	heterofloral
S4	<i>Fagaceae</i>	<i>Aesculus sp.</i>	2015	68	Vermelho 1685 C	bifloral
S5	<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantago lanceolata</i>	2015	52	Creme claro 601 C	heterofloral
S6	<i>Asteraceae</i>	<i>Helianthus annuus</i>	2016	91	Laranja 130 C	monofloral
S7	<i>Malvaceae</i>	<i>Tilia sp.</i>	2016	79	Amarelo 108 C	bifloral
S8	<i>Rosaceae</i>	<i>Prunus L. sp.</i>	2016	94	Verde 584 C	monofloral
S9	<i>Rosaceae</i>	<i>Crataegus monogyna</i>	2016	94	Amarelo-verde 585 C	monofloral
S10	<i>Poaceae</i>	<i>Zea mays</i>	2016	78	Amarelo escuro 115 C	bifloral

As amostras de pólen apícola foram analisadas do ponto de vista nutricional e de características físico-químicas e os respetivos resultados foram comparados com o mesmo tipo de pólen de outras áreas ou países. Os resultados da composição química indicam variações significativas dos tipos de pólen analisados (Tabela 2). (Spulber et al., 2017)

Tabela 2. Composição química e valor energético das espécies de pólen apícola (media \pm desvio padrão)

Amostra	Origem botânica dominante	Humidade (g/ 100 g)	Acidez livre (mEq/Kg)	Cinza (g/100g)	Lípidos (g/100g)	Proteínas (g/100 g)	Hidratos de carbono (g/100g)	Energia (Kcal/100g)
S1	<i>Nabiça</i>	16.92 \pm 1.34	146 \pm 0.05	2.66 \pm 0.40	5.47 \pm 0.73	20.41 \pm 1.89	42.57 \pm 2.03	301.15 \pm 4.08
S2	<i>Cardo</i>	22.77 \pm 1.99	143 \pm 0.03	1.66 \pm 0.25	3.21 \pm 0.81	15.54 \pm 1.27	41.15 \pm 3.23	255.65 \pm 3.56
S3	<i>Dente-de-leão</i>	20.13 \pm 1.75	128 \pm 0.01	1.38 \pm 0.31	2.07 \pm 0.55	13.76 \pm 0.99	43.55 \pm 2.98	247.87 \pm 2.72
S4	<i>Castanheiro</i>	24.94 \pm 2.00	288 \pm 0.07	2.04 \pm 0.23	1.33 \pm 0.37	20.61 \pm 1.35	45.30 \pm 3.02	275.61 \pm 2.86
S5	<i>Tanchagem</i>	18.68 \pm 1.55	134 \pm 0.05	1.80 \pm 0.10	3.16 \pm 0.46	14.83 \pm 1.74	48.63 \pm 2.76	282.28 \pm 3.33
S6	<i>Girassol</i>	26.36 \pm 1.49	195 \pm 0.04	1.34 \pm 0.12	5.20 \pm 0.77	13.16 \pm 0.76	35.81 \pm 1.85	242.68 \pm 2.56
S7	<i>Lima</i>	21.96 \pm 1.32	168 \pm 0.01	2.62 \pm 0.25	2.30 \pm 0.42	16.31 \pm 0.88	32.23 \pm 1.74	214.86 \pm 3.78
S8	<i>Arvores de fruta</i>	23.36 \pm 1.53	268 \pm 0.03	2.81 \pm 0.22	3.26 \pm 0.51	24.14 \pm 1.14	43.27 \pm 2.01	298.98 \pm 4.11
S9	<i>Espinheiro</i>	31.08 \pm 2.16	294 \pm 0.05	2.09 \pm 0.17	2.80 \pm 0.46	22.06 \pm 2.01	41.89 \pm 3.11	281.0 \pm 3.07
S10	<i>Milho</i>	21.77 \pm 1.09	221 \pm 0.05	1.55 \pm 0.21	1.71 \pm 0.26	14.08 \pm 1.53	23.31 \pm 1.95	164.95 \pm 2.99

No que diz respeito ao teor de humidade, os dados obtidos registaram valores entre 16,92 e 31,08% com o teor mais alto na amostra *Crataegus* sp. Isto provavelmente ocorreu devido à elevada humidade relativa do ar no tempo de colheita e que é um fator que influencia o valor deste parâmetro no pólen apícola fresco. A acidez livre variava de 128 meq/Kg na amostra dominada pelo tipo de pólen *Taraxacum* e 294 meq/Kg na que era dominada pelo tipo *Crataegus monogyna*. Estes resultados confirmaram o carácter ácido encontrado também no pólen multifloral brasileiro com valor mínimo de 105,3 meq/Kg e máximo de 609,9 meq/Kg e PA colombiano (valores entre 155 e 402 meq/kg, com 256 (± 67) meq/kg como valor médio. As variações mais elevadas são encontradas entre os lípidos e os hidratos de carbono, que oscilam entre 1,33 – 5,47% para os lípidos e 23,31 – 48,63% para os hidratos de carbono. O valor mais elevado para o teor de hidratos de carbono foi encontrado para o pólen de *Plantago* sp. e o mais baixo para o pólen de *Zea mays*, uma gama semelhante também foi obtida no oeste de França quando foi usado o mesmo método para determinação de hidratos de carbono. Os resultados obtidos para cinzas e teor total de proteína foram semelhantes aos descritos no pólen apícola brasileiro com um teor mínimo de cinzas e proteínas de 1,9 e 15%, respetivamente. Os resultados da composição mineral são reportados na Tabela 3. (Spulber et al., 2017)

Tabela 3. Teor de minerais no pólen (mg/kg). (Media \pm desvio padrão)

Amostra	Potássio	Magnésio	Calcio	Ferro	Zinco
S1	4099 \pm 3.44	1505 \pm 1.43	2437 \pm 1.78	58.03 \pm 0.27	28.78 \pm 0.65
S2	2296 \pm 2.81	474.3 \pm 0.98	1282 \pm 0.95	27.45 \pm 0.61	59.57 \pm 1.15
S3	1980 \pm 0.99	286.1 \pm 0.77	1373 \pm 0.64	24.20 \pm 0.36	23.31 \pm 0.33
S4	4284 \pm 3.24	412.2 \pm 2.02	294.1 \pm 1.09	37.11 \pm 0.42	34.41 \pm 0.47
S5	3212 \pm 2.80	398.1 \pm 2.00	1275 \pm 1.75	29.34 \pm 0.57	20.21 \pm 0.67
S6	2245 \pm 3.03	315.4 \pm 1.64	1294 \pm 1.63	22.98 \pm 0.52	26.76 \pm 0.99
S7	2866 \pm 1.75	1277 \pm 0.87	4335 \pm 2.06	27.94 \pm 0.39	57.08 \pm 0.75
S8	4073 \pm 3.21	666.7 \pm 1.05	1155 \pm 1.34	150.9 \pm 1.11	32.92 \pm 0.62
S9	3405 \pm 2.66	672.2 \pm 1.34	1231 \pm 1.77	40.19 \pm 0.89	28.41 \pm 0.40
S10	2628 \pm 1.86	647.9 \pm 0.96	414.8 \pm 0.89	21.73 \pm 0.23	38.66 \pm 0.53

As propriedades físico-químicas das amostras de pólen fresco proveniente da Roménia mostram uma grande variação entre as fontes vegetais. O pólen apícola de *Prunus* sp., *Aesculus* sp. e

Brassica sp. é uma fonte importante de proteína, enquanto o PA de *Plantago lanceolata* contém a maior quantidade de hidratos de carbono e o maior teor total de lípidos foi encontrado no pólen de *Brassica* sp.. (Shen et al., 2018)

O conteúdo lipídico total (g / 100 g pólen apícola, massa seca) do pólen também é diverso, variando de 1 a 13. A alta variabilidade depende do tipo de pólen e do conteúdo em ácidos gordos, carotenóides e vitaminas lipofílicas. Os lípidos presentes no pólen incluem altos níveis de ácidos gordos essenciais de cadeia longa, sendo os mais abundantes os ácidos linoléico, γ -linolênico e palmítico. Além disso, também são encontrados diferentes ácidos orgânicos (acético, cítrico, glucónico, láctico, málico, oxálico, tartárico, succínico). Destes, o ácido glucónico exibe a maior concentração. (Mărgăoan et al., 2019)

Através da análise da composição de ácidos gordos dos lípidos totais em 16 amostras de pólen apícola da Roménia foram identificados 14 ácidos gordos, dos quais os mais abundantes foram os ácidos α -linolénico (32,96% em média), palmítico (25,80% em média) e linoleico (22,17% em média). Com base na conclusão dos autores, as percentagens resultam das várias origens botânicas das amostras. O efeito benéfico dos ácidos gordos n -3 na prevenção e controle de doenças cardiovasculares, hiperinsulinemia e possivelmente diabetes tipo 2 é bem conhecido. A combinação de pólen apícola com altos níveis de ácido α -linolénico (n -3) junto com uma proporção próxima de 1:1 de ácidos gordos polinsaturados n -6 a n -3 (AGPI) prova ser uma fonte balanceada de AGPI essenciais para a saúde humana. Esses ácidos exercem uma variedade de benefícios à saúde, tendo o pólen apícola um valor de ácido ω -3 mais alto do que a maioria das plantas. Como esses compostos são eficazes na redução da agregação plaquetária, eles podem ser úteis no tratamento de doenças cardiovasculares. Se os AGPI forem tomados como suplemento e em doses mais elevadas, devem ser consumidos com cautela pelos pacientes com cancro para evitar episódios hemorrágicos, principalmente se forem submetidos a procedimentos cirúrgicos. Normalmente, as doses de pólen apícola (15 g / dia) não atingem o nível de hemorragia; em comparação com um estudo que demonstrou que os eventos hemorrágicos aparecem com doses de 3 g / dia de suplementação de ω -3 combinada com varfarina ou aspirina. (Mărgăoan et al., 2019)

Alguns componentes secundários do pólen apícola desempenham papéis importantes na nutrição e na saúde em geral. O pólen apícola contém mais de 100 enzimas e coenzimas, 16 ácidos gordos, todas as vitaminas conhecidas e 3–8% de substâncias minerais. Além disso, flavonóides, carotenóides, mais de 20 oligoelementos, reguladores de crescimento, hormonas e antioxidantes são compostos que contribuem para as bioatividades potenciais do pólen apícola

em um amplo espectro. Por exemplo, os dados do pólen apícola colombiano incluem níveis de $6,9 + 3,5$ g de lípidos, $23,8 \pm 3,2$ g de proteínas e fibra alimentar total $14,5 \pm 3,5$ g. O teor de humidade era de $7,7 \pm 5,2$ g / 100 g de cinzas à base de matéria seca de $2,5 \pm 0,4$ g. Os ácidos gordos foram principalmente α -linolénico, palmítico e linoleico. (Mărgăoan et al., 2019)

4. PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E ATIVIDADE

O pólen apícola tem um elevado valor nutricional e inclui compostos bioativos, que têm um impacto bastante positivo na saúde humana e, portanto, são considerados como "alimentos funcionais". Estes produtos são ricos em proteínas, açúcares simples, aminoácidos essenciais e ácidos gordos insaturados, participando assim no fortalecimento do sistema imune e no combate aos microrganismos patogénicos, o que leva a uma boa reparação de tecidos. Os produtos apícolas entram na constituição de muitos alimentos funcionais, tais como probióticos, fibras, fitoquímicos (polifenóis, ácidos fenólicos, triterpenos esteroides), péptidos bioativos, minerais, vitaminas e ácidos orgânicos. Além disso, entre todos estes compostos, os compostos fenólicos, os flavonoides e os carotenoides têm sido alvo de estudo aprofundado para situações de cancro, arteriosclerose, sistema imunitário enfraquecido, doença de Parkinson, Alzheimer, doenças cardiovasculares e artrite, bem como para efeitos preventivos e terapêuticos significativos no corpo contra o envelhecimento prematuro. A principal desvantagem destas atividades é que o que pode ser significativo para alguns deles pode ser perigoso para outros; por exemplo, o efeito angiogénico é benéfico para a arteriosclerose, artrite, Parkinson, Alzheimer e doenças cardiovasculares. No cancro, podem ter um efeito anti-inflamatório; no entanto, devem ser cuidadosamente avaliados para o rácio benefício-risco, uma vez que aquela atividade angiogénica pode ser perigosa. (Mărgăoan et al., 2019)

O pólen representa a unidade reprodutiva masculina das flores, e devido ao seu alto teor proteico, é necessário para a alimentação da descendência e das abelhas que servem dentro da colmeia. As necessidades nutricionais essenciais das abelhas são semelhantes à dos humanos, nomeadamente proteínas, hidratos de carbono, lípidos, minerais e vitaminas. Desde os tempos antigos, o pólen tem sido reconhecido pelos seus valores nutricionais, descrito pelos egípcios como "o pó que dá vida"; os seus efeitos curativos e a sua utilização na nutrição humana não eram totalmente conhecidos ou descobertos até ao desenvolvimento de armadilhas de pólen no século XIX. Ganhou atenção na área bioquímica e médica quando foi descoberto que tem

atividade anti-neoplásica e eliminação de espécies reativas de oxigênio, devido à presença de múltiplos compostos bioativos. Historicamente, o pólen foi usado no tratamento de diferentes doenças, nomeadamente como antibiótico, na função hepática e renal ou simplesmente como um suplemento de nutrientes e vitaminas para o corpo humano.

De todas as bioatividades historicamente conhecidas, as propriedades terapêuticas dos pólenes específicos da espécie são resumidas no quadro IV (Campos et al., 2010)

Tabela 4. Propriedades terapêuticas do pólen

Propriedades	Tipo de PA
Antibiótico	<i>Castanea spp., Eucalyptus spp., Taraxacum spp., Trifolium spp., Zea mays L.</i>
Antiaterogénico	<i>Aesculus hippocastanum L., Castanea sativa Mill., Prunus spp., Salix spp</i>
Anti-anémico	<i>Acacia spp., Citrus spp., Crataegus spp., Papaver spp., Tilia spp</i>
Antitússico	<i>Papaver spp</i>
Diurético	<i>Centaurea cyanus L., Prunus spp., Taraxacum spp</i>
Digestivo	<i>Acacia spp., Lavandula spp., Rosmarinus officinalis L.</i>
Cardioprotetor	<i>Crataegus spp.</i>
Hepatoprotetor	<i>Aesculus hippocastanum L., Castanea sativa Mill., Cystus incanus L., Prosopis juliflora (Sw.) DC., Schisandra chinensis (Turcz.) Baill., Taraxacum spp.</i>
Função renal	<i>Brassica napus L., Phoenix dactylifera L., Schisandra chinensis Turcz.) Baill., Trifolium alexandrinum L., Zea mays L.</i>
Immunomodulador	<i>Eucalyptus spp., Malus spp.</i>
Cicatrização de úlceras	<i>Brassica napus L.</i>

Atualmente, o pólen apícola é utilizado como alimento nutritivo e estudado pelas suas potenciais propriedades terapêuticas. Numa triagem geral dos dados publicados, as amostras têm sido referidas com ação contra a prostatite crónica pela sua bioatividade anti-androgénica, como anti-inflamatórios, antioxidantes, pelo potencial antimicrobiano e como agentes anti-

tumorais. O pólen também mostra efeitos importantes em alergias e dessensibilização oral. (Araújo et al., 2017), (Lien Ai Pham-Huy et al., 2008)

4.1 Atividade antioxidante e imunomoduladora

Um antioxidante é uma molécula capaz de retardar ou prevenir a oxidação de outras moléculas. A oxidação é uma reação química que transfere elétrons de uma substância para um agente oxidante. As reações de oxidação podem produzir radicais livres, que iniciam reações em cadeia que danificam as células. Os antioxidantes podem ajudar na eliminação dos radicais livres perigosos e seus intermediários, e inibir outras reações de oxidação ao serem eles próprios oxidados. Como resultado, os antioxidantes são frequentemente agentes redutores, tais como tiois ou polifenóis. A teoria radical da fisiologia humana afirma que os radicais livres ativos estão envolvidos em quase todos os processos de degradação celular e levam à morte celular. Pensa-se que o stress oxidativo contribua para o desenvolvimento de doenças crônicas e degenerativas, tais como cancro, doenças autoimunes, envelhecimento, cataratas, artrite reumatoide, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (Campos et al., 2010).

Em vários estudos, foi relatada uma estreita relação entre a bioatividade antioxidante do pólen e os compostos fenólicos. Verificou-se igualmente que a atividade antioxidante do pólen apícola é específica e independente da sua origem geográfica. A capacidade de eliminação dos radicais livres é uma propriedade interessante que pode ser encontrada noutros produtos apícolas, como por exemplo própolis (Campos et al., 2010)

Foram realizadas experiências que envolveram a alimentação de ratos com pólen apícola durante um mês, a fim de estudar o estado do sistema de redox dos eritrócitos. Verificou-se que o teor de glutathione e dos grupos de SH totais, bem como as atividades de glutathione peroxidase e glutathione reductase nestes animais foram aumentados em comparação com o grupo de controlo. Simultaneamente, foi mostrada uma diminuição do malondialdeído e dos conjugados diénicos nos eritrócitos. A atividade da catalase e da superóxido dismutase foi aumentada, mas o efeito não foi estatisticamente significativo. Concluiu-se que o sistema antioxidante não é especificamente ativado e que os processos oxidativos nos eritrócitos estão bloqueados (Eraslan et al., 2009)

Extratos de pólen apícola foram administrados a ratos, intoxicados por carbaryl (1-naftil metilcarbamato). Níveis/atividades de proteína total, albumina, glicose, triglicéridos, colesterol,

bilirrubina, ureia sanguínea, creatinina, ácido úrico, magnésio, sódio, potássio, cloreto e diferentes enzimas hepáticas foram avaliados nas amostras de soro dos ratos tratados em comparação com os controles, que mostraram um efeito destoxicante do pólen. Embora o carbaryl tenha causado alterações negativas na maioria dos marcadores de stress oxidativo e nos parâmetros bioquímicos do plasma investigados nos controles, estes efeitos foram aliviados com a administração do pólen apícola. (Eraslan et al., 2009)

Recentemente verificou-se que a alimentação de ratos com pólen protege dos efeitos tóxicos do propoxur, um pesticida muito tóxico, que se pensa induzir o stress oxidativo (Eraslan et al., 2009)

Num estudo de 2020, foi investigada a atividade antioxidante e imunomoduladora do pólen apícola proveniente do Brasil e produzidas por abelhas sem ferrão (*Melipona fasciculata*). Foram obtidos três polissacarídeos (WBPPS-1, WBPPS-2 e WBPPS-3) por cromatografia de troca iônica, e suas estruturas preliminares, atividades antioxidante e imunomodulatórias foram investigadas. Os resultados mostraram que WBPPS-1, WBPPS-2 e WBPPS-3 eram compostos por manose, ramnose, ácido galacturônico, glicose, galactose, xilose e arabinose com proporção diferente e seus pesos moleculares médios foram de 1016,3, 878,7 e 901,6 KDa, respectivamente. Além disso, o conteúdo do zinco era muito maior do que outros elementos de traço nos três polissacarídeos, sugerindo que esses polissacarídeos provavelmente seriam complexos de zinco polissacarídeos. Além disso, o WBPPS-3 apresentou atividades mais fortes de captar 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfônico ácido) e 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl, que são radicais livres que WBPPS-1 e WBPPS-2. Da mesma forma, o WBPPS-3 apresentou um efeito superior na secreção de nitricóxido, fator de necrose tumoral- α , interleucina-1 β e interleucina-6 em células RAW264.7 do que os outros dois polissacarídeos. No geral, esses resultados sugerem que o WBPPS-3 tem potencial para ser desenvolvido como ingredientes antioxidantes e imunomodulatórios em alimentos funcionais, contudo mais estudos em animais ou estudos clínicos são necessários. (Zhou et al., 2020)

4.2 Atividade anti-inflamatória

O extrato hidroetanólico de pólen coletado por *Melipona fasciculata*, que foi alvo de um estudo recente no Brasil mostrou grande teor de polifenóis, flavonoides e atividade antioxidante. O extrato selecionado, também mostrou alta atividade inibitória da enzima COX-2, sendo esta

isoforma inibida 68% mais que COX-1. O extrato também mostrou atividade altamente anti-inflamatória e antinociceptiva a nível central e periférico, sugerindo que este extrato age na inibição da libertação da histamina e diminuição da síntese de prostaglandinas. O estudo *in-silico* sugeriu que polifenóis e ácidos gordos no extrato podem estar associados a essas atividades. Assim, foi demonstrado pela primeira vez essas atividades a partir do pólen coletado pela *M. fasciculata* com resultados maiores em comparação com produtos para outras abelhas, incluindo *Apis mellifera*, e isso evidencia o potencial uso de produtos apícolas a partir de abelhas sem ferrão no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. (Lopes et al., 2019)

4.3 Atividade antimicrobiana

Diferentes flavonoides do pólen apícola de *Eucaliptus globulus*, *Ranunculus sardous* e *Ulex europeans* foram alvo de pesquisa relativamente a atividade antimicrobiana e concluiu-se que os derivados de herbacetina de *R. sardous* e *U. europeans* tinham uma atividade antibiótica marcada contra *Pseudomonas aeruginosa*. Por outro lado, *E. globulus*, maioritariamente rico em derivados de quercetina, não mostrou qualquer atividade antibacteriana. (Campos et al., 2010)

Noutro estudo, verificou-se que os compostos hidrofóbicos de pólen apícola com natureza desconhecida tinham atividade antimicrobiana contra *Streptococcus*. A atividade antibacteriana do pólen apícola turco foi estudada contra 13 espécies bacterianas diferentes, que são patogénicas para plantas (*Agrobacterium tumefaciens*, *A. vitis*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata*, *P. savastanoi* pv. *savastanoi*, *P. syringae* pv. *phaseolicola*, *P. syringae* pv. *syringae*, *P. syringae* pv. *tomato*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e *X. axonopodis* p. *vesica*). Os resultados mostraram que o extrato tinha um efeito inibidor contra todos os agentes patogénicos. A conclusão do estudo indica que este extrato de pólen tinha o potencial de se tornar um protetor de sementes, uma vez que alguns dos agentes patogénicos bacterianos eram conhecidos por serem transmitidos através de sementes. Verificou-se também que o pólen apícola possui uma atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*. Num estudo recente realizado com extrato etanólico a 80% de pólen brasileiro foi exibida atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella* sp. (Bridi et al., 2019)

Estudo recente teve como objetivo caracterizar a origem botânica, a composição química e as atividades antioxidantes e antibacterianas do pólen apícola duma região do Chile. As espécies *Brassica rapa* e *Eschscholzia californica* eram predominantes no pólen apícola analisado. Os extratos mostraram propriedades antioxidantes e antibacterianas, especificamente contra microrganismos patogênicos *Streptococcus pyogenes*. Quercetina e miricetina foram encontradas em todas as amostras em grandes concentrações. A separação de cargas de pólen de uma amostra multifloral demonstrou que as cargas de pólen de *E. californica* são responsáveis pela atividade antibacteriana. Esta amostra também apresentou alta concentração de quercetina (304,8 mg/100 g de PA). Com base nos resultados atuais, o pólen do Chile tem sido procurado por apresentar atividades antioxidantes e antimicrobianas (Campos et al., 2010)

4.4 Anemia e o sistema hematopoiético

A anemia é caracterizada por um baixo número de glóbulos vermelhos. A investigação relacionada com esta doença foi realizada com pólen e outros produtos apícolas. Os efeitos de 10 g/kg/dia de pólen oral em animais com anemia hemolítica foram estudados no sistema hematopoiético de ratinhos. Os resultados mostraram que o pólen apícola antagonizou marcadamente a inibição do sistema hematopoiético e reduziu os glóbulos brancos nestes animais. A ingestão de pólen por ratos induziu um aumento significativo nos glóbulos vermelhos. Foram realizados estudos semelhantes em ratos saudáveis com anemia ferropénica nutricional, examinando o efeito da adição de 10 g/kg/dia de pólen apícola multifloral numa dieta padrão. O grupo de pólen apícola mostrou um melhor aumento de peso, um aumento dos níveis de hemoglobina e uma diminuição das plaquetas. A concentração de plaquetas constitui um parâmetro hematológico que reflete o estado do ferro dentro de um organismo. Foi deduzido que o pólen melhora a absorção digestiva do ferro. Num estudo clínico com 20 doentes que consumiam pão de abelha puro, a sua saúde foi melhorada mostrando um maior apetite e ganho de peso. Isto foi acompanhado pelo aumento da hemoglobina e dos glóbulos vermelhos. Quercetina e rutina, ambos flavonoides, encontrados no PA foram testados em glóbulos vermelhos falciformes *in vitro*. Os resultados mostraram uma melhor atividade da quercetina como antioxidante. O nível de oxi-hemoglobina aumentou enquanto os níveis/atividades da meta-hemoglobina, da peroxidação lipídica e da ligação da hemoglobina à membrana dos glóbulos vermelhos falciformes diminuíram. São necessários mais estudos clínicos com

humanos para confirmar os resultados promissores encontrados nos estudos com animais. (Jannesar et al., 2017)

4.5 Propriedades antialérgicas

O pólen apícola pode ser usado para curar a alergia, apesar de ser conhecido por causar reações alérgicas. Alguns estudos indicaram que a administração do pólen apícola antes da sensibilização do IgE inibiu a ativação de mastócitos mediada por IgE em ratinhos. Também o pólen apícola reduziu significativamente os níveis de IgE sérico em ratinhos imunizados por administração oral. Outro estudo indica que o extrato fenólico de pólen apícola poderia inibir a produção dos mediadores inflamatórios responsáveis pela formação do edema ou interferir na desgranulação dos mastócitos no modelo murínico com alergia induzida por ovalbumina (OVA). Os resultados também mostraram que o extrato inibiu tanto a produção específica da IgG1 quanto a da IgE ovalbumina (OVA) e, conseqüentemente, a inibição dos mastócitos. Por fim, concluíram que essas atividades do extrato estão correlacionadas com as propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias de miricetina. Níveis elevados de anticorpos IgE e IgG1 estão associados a alergias como asma. IgG1 e IgE ligam-se a FcεRIII e FcεRI, respectivamente, na superfície dos mastócitos e ativam-nas para libertar os mediadores inflamatórios, incluindo citocinas pró-inflamatórias. (Jannesar et al., 2017)

Por outro lado, a administração oral de luteolina, baicaleína e quercetina também tem um efeito inibidor semelhante na ativação dos mastócitos. Estes compostos também inibiram a liberação de histamina mediada por IgE e a produção de TNF- α e IL-6 a partir de mastócitos derivados da medula óssea (BMDCs) de ratos. Por conseguinte, estes estudos indicaram que tanto o pólen apícola como os compostos flavonoides podem inibir as reações alérgicas fulminantes inibindo a ativação dos mastócitos. Compostos flavonoides como a miricetina, o caempferol, a quercetina e a luteolina são capazes de inibir a desgranulação dos mastócitos e das alergias mediadas pelo IgE. Os flavonoides suprimem o cálcio intracelular e também inibem a fosforilação da enzima proteína quinase não sensível ao cálcio nos mastócitos humanos. Além disso, estes compostos inibem a AMP-cíclico-fosfodiesterase e ATP-ase dependentes do cálcio, que são responsáveis pela liberação de histamina a partir de mastócitos e basófilos. (Campos et al., 2010)

O pólen é um agente promissor para o tratamento de pessoas que sofrem da respectiva alergia bem como para tratamento após picadas de abelha. Num ensaio clínico com crianças alérgicas ao pólen, foram administrados extratos de pólen oral e subcutâneo, sendo este último o mais eficiente. Numa publicação recente, foi relatado um ensaio clínico bem sucedido usando a vacina à base do pólen *Gramineae* aplicada por via sublingual contra a febre dos fenos dos humanos. Foi também reportada uma terapia bem sucedida com uma vacina à base do pólen contra bétula administrada por via sublingual e subcutânea. Estes resultados são muito promissores devido ao aumento da incidência da febre dos fenos nos países desenvolvidos. (Märgäoan et al., 2019)

4.6 Atividade antineoplásica

4.6.1 Estudos *in vitro* do pólen apícola relacionados com compostos bioativos

O cancro é uma das principais causas de mortalidade a nível mundial e problema de saúde de grande importância. O progresso que se verifica no uso de medicamentos antineoplásicos está frequentemente associado a reações adversas. Algumas vezes, os indivíduos sujeitos a quimioterapia utilizam também "produtos naturais" sem conhecimento médico, com o objetivo, de acordo com os doentes, de minorar os efeitos adversos da quimioterapia. Assim, alguns objetivos terapêuticos podem ser explorados com extratos de pólen apícola, para ajudar a eliminar potenciais efeitos colaterais dos medicamentos convencionais. O grupo químico ao qual deve ser concedido um interesse especial são ácidos gordos insaturados (linoleico, linolénico e araquidónico), especialmente no ácido α -linolénico (65,7%) encontrado em maior quantidade no pólen apícola. O efeito terapêutico dos ácidos gordos polinsaturados na progressão das células cancerosas foi verificado através dos estudos *in vitro* e *in vivo*. Os AGPI têm um efeito significativo nas propriedades físicas e na estrutura dos constituintes membranares celulares. Foi relatado que alguns ésteres isolados de ácidos gordos têm atividade antitumoral contra o tumor ascítico de Ehrlich nos ratinhos. Além disso, estudos *in vivo* devem ser aprofundados para garantir a segurança de uma abordagem futura para esse tipo de tumor. (Märgäoan et al., 2019)

Os fitoesteróis, conhecidos como esteróis vegetais, demonstraram inibir os locais de absorção do colesterol no intestino humano em vários ensaios clínicos, contribuindo assim para os efeitos

anticancerígenos. Este facto aumentou o interesse dos investigadores no impacto que os fitoesteróis causam na saúde humana. A uma fração designada como FV-7 na fração hidrossolúvel do extrato de pólen Cernilton[®] (Cernitin SA, Lugano, Suíça), foi atribuída uma ação de inibição do crescimento de células de cancro da próstata em cultura. Cernilton[®] consiste principalmente nos extratos de pólen, L-glutamato e estigmasterol. (Mărgăoan et al., 2019)

Em 2016, foi demonstrado o efeito antiproliferativo de extratos metanólicos do pólen de *Filipendula ulmaria* (L.) em linhagens celulares do cancro colorretal de ratinhos C26. Os seus resultados mostraram que para os esquemas de tratamento de 6 e 12 horas, o índice apoptótico foi muito baixo (<10%). Após 24 e 48 h de tratamento, o índice aumentou ligeiramente (10-15%) para o extrato de pólen de 0,25 e 0,5 mg / mL. O maior índice apoptótico (30%) foi com extrato de 1 mg / mL em 24 e 48 h de tratamento. Além disso, o ensaio de apoptose mostrou modificações na forma celular na concentração mais elevada (1 mg / mL) com maior exposição celular ao extrato (24 e 48 h), o que levou à vacuolização e granulação intracitoplasmática. (Mărgăoan et al., 2019)

Foi investigada a influência dos extratos etanólicos de pólen apícola de *Salix* spp. (E-BP), com e sem temozolomida (TMZ) em linhas celulares de astrocitoma difuso (DASC), glioblastoma multiforme humano (U87MG) e astroglia humana normal (SVGp12). Os resultados mostraram que a amostra E-BP (50 mg / mL) tem atividade citotóxica mais forte em células U87MG após 72 h (26,5 de controle) do que TMZ sozinho (cerca de 6% de controle). Um maior efeito inibitório na síntese de DNA após 24 h foi encontrado para E-BP combinada com TMZ (56,4 ± 9,7%) do que para os extratos isoladamente. Um efeito inibitório foi observado nas células incubadas com E-BP (73,6 ± 6,3%) e E-BP com TMZ (67,3 ± 5,1%) após 48 h de exposição (Uçar et al., 2016)

Outro estudo mostrou que o pólen apícola mostra apoptose e afeta a atividade da caspase-3 em células HL-60. Entretanto, a identificação da origem floral é fundamental para um melhor entendimento dos compostos envolvidos na atividade; caso contrário, será impossível reproduzir o efeito anticancerígeno. De entre os compostos do pólen, os ácidos oleanólico e ursólico também são identificados em algumas espécies apresentando importantes bioatividades com potencial antineoplásico. (Izuta et al., 2009)

O objetivo de alguns estudos foi investigar a citotoxicidade do PA, incluindo outros produtos apícolas em células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) e no cancro. A fim de elucidar o mecanismo da angiogénese *in vitro*, a proliferação e migração de HUVEC induzidas

por VEGF foram examinadas com ou sem várias concentrações de PA. Entre os produtos apícolas usados, o PA mostrou efeitos limitados contra a angiogénese induzida por VEGF, enquanto o própolis vermelho chinês, a geleia real e o extrato de pólen de *Phoenix dactylifera* L. tiveram um efeito importante. (Mărgăoan et al., 2019)

4.6.2 Estudos *in vivo* em modelos animais

Efeitos hepatoprotetores

A cisplatina (CP) é um dos citotóxicos mais utilizados, com largo espectro anticancerígeno, como cancro do pulmão, próstata, testículo e ovário. Este citotóxico é usado como um adjuvante na radioterapia ou pós-cirurgia, embora possa induzir vários efeitos colaterais, como hepatotoxicidade, nefrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade, náuseas, vômitos e alopecia, entre outros. Os fatores mais importantes na insuficiência renal aguda induzida por CP são espécies reativas de oxigénio (ERO) e lesões oxidativas. Em vários estudos, a CP diminuiu a atividade antioxidante de enzimas, como a catalase (CAT), a glutathione peroxidase (GPX) e a superóxido dismutase (SOD). Uma diminuição dessas enzimas pode levar a um aumento dos peróxidos lipídicos, o que leva à formação de malondialdeído (MDA), uma diminuição do status antioxidante e um aumento na produção de radicais livres. Além disso, a CP pode ativar a proteína quinase ativada por mitogénio (MAPK) junto com o fator de transcrição nuclear kappa-B (NF-kB), que pode induzir inflamação, lesão de tecido e morte celular. (Mărgăoan et al., 2019)

A CP é metabolizada pelas enzimas do citocromo P450 (CYP450) (principalmente CYP2E1 e CYP4A11), que têm um papel importante na hepatotoxicidade e nefrotoxicidade induzidas pela medicação. No geral, foi sugerido que a interação da cisplatina e do CYP2E1 leva à geração de ERO e outros oxidantes, resultando em lesão renal; e que as ERO geradas tanto pelo uso de cisplatina quanto pelos metabolitos resultantes da ação de CYP2E1 aumentam o dano no tecido, induz apoptose e causa insuficiência hepática. (Mărgăoan et al., 2019)

A indução ou inibição de tais isoenzimas por biocompostos de pólen como flavonoides, entre outros, poderia alterar os resultados do tratamento em ambos os lados, melhorar o impacto dos efeitos colaterais e diminuir a eficácia do medicamento. É importante conhecer e fazer mais pesquisas sobre a eficácia, que provavelmente sofre alterações, e avaliar a quantidade do

medicamento disponível; a diminuição implica um menor impacto no fígado. Assim, esta afirmação deve ser atendida com cautela, pois se o paciente medicado toma um produto hepatoprotetor, às vezes o desfecho é imprevisível, podendo ocorrer um evento tóxico. (Em et al., 2009)

Em estudo realizado com ratinhos albinos machos (*Mus musculus* L.) tratados com extratos de pólen apícola e própolis por 14 dias, nas doses de 140 e 8,4 mg / kg pc / dia, associada à administração intraperitoneal de PA em dose de 2,8 mg / kg, mostrou uma atividade quimioprotetora significativa. (Mărgăoan et al., 2019)

Para determinar o efeito de pólen apícola como ingrediente aditivo na ração em ratinhos, Kaur et al. testou três grupos de ratinhos, grupo controle (C) e dois grupos experimentais (E1 e E2). Grupo C e grupo (E1) foram alimentados com 250 mg / kg de pólen apícola, enquanto o grupo E2 com 250 mg / kg de pão de abelha (produto derivado do pólen apícola) por 21 dias. A atividade antioxidante foi determinada, não mostrando efeitos adversos na peroxidação lipídica (LPO), glutathione (GSH), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR) nas doses testadas desses produtos na dieta dos ratinhos. Nos grupos administrados com pólen apícola, foi observada uma diminuição no nível de LPO em relação ao grupo controle. A atividade de GSH, SOD, CAT, GST, GR e GP no fígado aumentou em comparação ao controle nos grupos tratados com pólen apícola. (Kaur et al., 2014)

O CCl₄ é um agente hepatotóxico que promove a formação de radicais livres que causam LPO celular e danos a órgãos. Verificou-se que o pólen de *Castanea sativa* L. protege os hepatócitos do stress oxidativo e repara os danos no fígado causados pela toxicidade de CCl₄; pode ser incorporado com segurança na dieta diária humana e pode ajudar a reduzir o risco de doenças causadas pelo stress oxidativo. Também é afirmado que o PA de *C. sativa* L. pode ser usado como uma alternativa adequada à sílica no tratamento de patologias hepatocelulares (Yildiz et al., 2013)

4.6.3 Terapias complementares com aplicação de pólen apícola associadas a tratamentos antineoplásicos (atividades antinociceptivas e antiinflamatórias e ansiedade)

A ansiedade é uma doença mental humana comum. O tratamento médico desta doença está associado a muitos efeitos colaterais. Alguns desses medicamentos interferem com os antineoplásicos, causando interações medicamentosas que irão alterar o resultado esperado para os protocolos de quimioterapia. (Mărgăoan et al., 2019). Por isso, a busca por novos medicamentos com menos efeitos colaterais parece inevitável. Os potenciais efeitos ansiolíticos do extrato hidroalcoólico do pólen foram avaliados em ratos machos de 20 a 25 g em oito grupos de três animais, cada. Os animais foram injetados intraperitonealmente com soluções hidroalcoólicas de pólen apícola nas doses de 200, 400, 800 e 1600 mg / kg, diazepam na dose de 1 mg / kg e solução salina na dose de 10 mL / kg. Os ratos que receberam 800 e 1600 mg / kg de extratos hidroalcoólicos de pólen mostraram menor ansiedade em comparação com os animais que receberam diazepam. Como resultado, o extrato hidroalcoólico do pólen apícola mostrou um efeito ansiolítico em ratos. (Karampour et al., 2017) No entanto, a identificação da origem botânica dos produtos que fizeram parte do ensaio e dos compostos responsáveis pelos efeitos biológicos são absolutamente fundamentais para futuras investigações.

Os dados obtidos com flavonóides de plantas medicinais associados ao efeito ansiolítico explicam este efeito biológico. A principal atividade está frequentemente associada aos aminoácidos livres como o glutamato, mas também à ligação de certos flavonóides, como a luteolina e derivados ao receptor GABA_A - benzodiazepina. (Mărgăoan et al., 2019)

Foram investigados os efeitos terapêuticos do pólen apícola na excitotoxicidade do glutamato do cérebro glutamina-glutamato-ácido gama aminobutírico (GABA) induzido por ácido propiónico (PPA) nos filhotes de ratinhos. Os resultados mostraram que a excitotoxicidade medida pelo aumento da proporção de PPA, glutamato e glutamato / glutamina e pela redução da proporção de GABA, glutamina e GABA / glutamato leva a indicações da eficácia do pólen apícola na remoção dos efeitos neurotóxicos em alguma extensão. (El-Ansary et al., 2017)

O alívio da dor é uma parte importante dos tratamentos antineoplásicos. Hoje em dia, vários medicamentos podem ser administrados, mas a resistência na eficácia em alguns doentes leva à procura por novas abordagens. Pólen de pinheiro (*Pinus densiflora*) foi testado para a atividade antinociceptiva e antiinflamatória em ratinhos usando edema de pata induzido por carragenina e formalina e edema de orelha induzido por ácido araquidônico. O extrato etanólico

(100 e 200 mg / kg), *per os* inibiu ambas as fases testadas do teste de dor com formalina, reduzindo as contorções do ratinho induzidas por ácido acético e aumentando o limiar de dor no teste da placa quente. O extrato de pólen de *P. densiflora* também causou inibição significativa do edema de pata induzido por carragenina e formol, bem como edema de orelha induzido por ácido araquidônico, em comparação com o grupo controle. Os diferentes polifenóis encontrados no pólen de *Pinus densiflora* podem ser responsáveis pelas ações antinociceptiva e anti-inflamatória. Os resultados obtidos indicam que o extrato possui efeitos analgésicos e anti-inflamatórios. Mesmo sabendo que o pólen de *Pinus* não costuma fazer parte das fontes florais associadas ao pólen apícola, os dados investigados até agora fornecem informações importantes sobre a sua atividade anti-inflamatória e antioxidante e grande concentração de flavonoides. Uma vez que esses compostos existem em virtualmente todas as amostras estudadas até agora de pólen apícola deverão ser amplamente explorados no futuro. (Márgãoan et al., 2019)

GSH, glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione-S-transferase (GST) e SOD são antioxidantes endógenos bem conhecidos. Aumento da atividade e níveis desses fatores foram detectados no fígado, rim e testículos de ratos tratados com CP e pólen apícola em comparação com apenas aqueles tratados com CP. Esses estudos também mostraram que os níveis de malondialdeído (MDA), normalmente usado como um biomarcador de stress oxidativo, foram significativamente reduzidos nos rins, fígado, coração e tecidos cerebrais de ratos tratados com propoxur ou CP e pólen apícola, em comparação com aqueles em que só foi administrada CP. Em ratos tratados com pólen apícola, os níveis de MDA no fígado e rim foram significativamente reduzidos em comparação com os grupos tratados com CCl₄ ou CP sozinho. Conforme referido acima, a CP pode induzir hepatotoxicidade e nefro-toxicidade em pacientes submetidos a este tratamento. Huang et al. (2017) descobriram que os níveis de GSH no rim e no fígado de ratos tratados com pólen apícola e CP foram significativamente maiores em comparação com aqueles tratados apenas com CP. Resultados semelhantes foram relatados na próstata e testículos de ratos tratados com pólen apícola.

4.7 Atividade na prostatite crónica e cancro da próstata (*in vitro*)

Os investigadores de prostatite concordam que a insatisfação do paciente e do médico sobre a gestão desta doença é elevada. Por isso, os doentes procuram frequentemente formas alternativas de tratamento. A fitoterapia, o uso de produtos derivados de plantas, está a ganhar popularidade na América do Norte e já é o tratamento de escolha para muitas condições crónicas na Europa e na Ásia. As terapias alternativas à base de plantas são predominantes e populares na doença urológica em geral e em doenças prostáticas em particular. As terapias típicas à base de plantas recomendadas para a hipertrofia benigna da prostática (BPH) com alguma evidência clínica de eficácia incluem a *Serenoa repens*, a *Urtica dioica* e o *Pygeum africanum*. O extrato de pólen apícola (Cernilton) também foi utilizado com menos evidência de eficácia para o BPH. Dada a sobreposição de sintomas do trato urinário inferior entre BPH e prostatite crónica, estes agentes também foram recomendados para homens com prostatite. (Shoskes, 2002)

A categoria III [síndrome da dor pélvica crónica (CPPS)] é a síndrome da prostatite mais comum e enigmática. Na ausência de infeção, há evidências de um componente inflamatório ou autoimune para CPPS em alguns doentes. Mesmo na ausência de glóbulos brancos visíveis, as secreções prostáticas expressas e o sémen dos homens com CPPS têm níveis elevados de citocinas inflamatórias e stress oxidativo. A fitoterapia tem sido usada mais frequentemente nesta categoria de prostatite, e a evidência de eficácia é realmente mais convincente do que para outras terapias padrão. Cernilton, um extrato de pólen apícola, foi usado em condições prostáticas para os seus presumíveis efeitos anti-inflamatórios e antiandrogénicos. Num estudo recente, 90 pacientes receberam 1 comprimido de Cernilton N 3 vezes por dia, durante 6 meses. Os doentes com outros fatores associados (cálculo prostático, stent uretral, esclerose da bexiga) tiveram uma resposta mínima, com apenas 1 de 18 a apresentarem melhorias. Nos doentes com menos complicações, no entanto, 36% foram curados dos seus sintomas e 42% melhoraram. A melhoria sintomática foi tipicamente associada com parâmetros de fluxo urinário melhorados, inflamação reduzida, e uma diminuição do complemento C3/coeruloplasmina no ejaculado. Os efeitos colaterais nos estudos de Cernilton para BPH e prostatite têm sido insignificantes. Quercetina é um flavonoide polifenólico presente no pólen apícola e no vinho tinto, chá verde, e cebolas. Foram relatadas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias deste composto e inibição das citocinas inflamatórias implicadas na patogénese de CPPS, como interleucina-8. (Rugendorff et al, 1993).

Num pequeno estudo preliminar aberto, a quercetina a 500 mg, 2 vezes por dia, induziu uma melhoria sintomática significativa à maioria dos doentes testados, particularmente aqueles com culturas de secreções prostáticas negativas expressas. Seguiu-se um ensaio prospetivo, duplo-cego, controlado por placebo de quercetina 500 mg, 2 vezes por dia, durante 4 semanas, utilizando o Índice de Sintomas da Prostatite Crónica dos Institutos Nacionais de Saúde (NIH-CPSI) como o ponto final primário. Os doentes que tomaram placebo tiveram uma melhoria média no NIH-CPSI de 20,2 a 18,8, e os que tomam quercetina tiveram uma melhoria média de 21,0 para 13,1 (P 0.003). Ao todo, 20% dos pacientes que tomam placebo e 67% dos pacientes que tomam o flavonoide tiveram uma melhoria nos sintomas de 25%. Um terceiro grupo de doentes recebeu Prosta-Q (Farr Cabs, Santa Monica, CA), uma formulação comercial contendo quercetina com bromelaina e papaína, enzimas digestivas conhecidas por aumentar a absorção intestinal da quercetina. Neste grupo, 82% tiveram uma melhoria significativa nos sintomas. (Shoskes, 2002)

Em resumo, a fitoterapia, em particular o uso de pólen apícola mostra resultados promissores para os doentes com prostatite. Na categoria III, Cernilton e quercetina mostraram efeitos tanto na melhoria reportada pelo doente como na melhoria dos marcadores bioquímicos da inflamação. (Shoskes, 2002)

Um dos componentes responsáveis pela atividade nos distúrbios da próstata é a quercetina e este é também um dos principais flavonoides no pólen apícola. Este composto mostra *in vitro* uma inibição permanente das células cancerígenas independentes do andrógeno PC-3 a uma dose de 100 µM. Nas células cancerígenas da próstata, esta atividade deve-se à capacidade da quercetina de bloquear o ciclo celular em várias fases através de uma inibição da expressão de vários genes específicos. A quercetina também regula a expressão de vários genes supressores de tumores enquanto regula a expressão do oncogene. Caempferol, outro flavonoide de pólen apícola causou uma inibição reversível do crescimento das células cancerígenas PC-3. Sabe-se que outros flavonoides presentes no pólen (por exemplo, apigenina) são capazes de deprimir a ativação da quinase no cancro da próstata. Outra classe de substâncias que podem estar envolvidas na ação antiprostatite do PA são os fitoesteróis. Além do colesterol outros esteróis no pólen são fucosterol, β-sitosterol, estigmasterol e campesterol. À semelhança de outros componentes, as quantidades e os tipos de esteróis variam consoante as espécies vegetais. O β-sitosterol é conhecido por ser também uma substância ativa contra o BPH. (Campos et al., 2010)

4.8 Pólen apícola como estratégia terapêutica promissora de profilaxia contra o COVID-19 (SARS-CoV-2)

Muitos dos compostos presentes no pólen apícola, especialmente polifenóis, têm uma atividade promissora contra os CoVhs, tais como SARS-CoV e MERS. Os compostos fenólicos com maiores concentrações no pólen das abelhas são quercetina e campferol, bem como os seus derivados glicosídicos. Quercetina inibe a entrada de SARS-CoV em células Vero E6 *in vitro*. A concentração necessária para inibir 50% do SARS-CoV (EC_{50}) é de 83,4 μM , o que é um valor relativamente baixo tendo em conta a elevada concentração deste composto no pólen (60 $\mu\text{mol/g}$ de quercetina no pólen de *Apis mellifera* L.). Adicionalmente, quercetina-3 β -galactosido, um glicosídeo derivado da quercetina frequentemente encontrado no pólen apícola liga-se à SARS-CoV 3CLpro e inibe a sua atividade proteolítica com um IC_{50} de $42,79 \pm 4,95 \mu\text{M}$. Este efeito inibitório do SARS-CoV 3CLpro depende do grupo hidroxilo da quercetina, que forma uma ligação de hidrogénio com os resíduos gln189 presentes no local ativo de 3CLpro. (Lima et al., 2020)

Visto que o SARS-CoV-2 3CLpro mantém o mesmo resíduo Gln189 no seu centro ativo, sugere-se que a protease principal do novo coronavírus também seja sensível à ação inibitória da quercetina e seus derivados. Um estudo computacional recente revelou que se prevê que a quercetina forme uma ligação de hidrogénio com o Gln186 no local ativo da SARS-CoV-2 3CLpro, o que resulta em baixa energia de ligação, -7,5 kcal/mol) e consequentemente exhibe alta afinidade da ligação ($3,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$). (Rehman et al., 2020)

Campferol e seus analógicos glicosídicos inibem a proteína 3a do coronavírus. A proteína 3a forma um canal seletivo de catião que se expressa na célula infetada e está envolvido no mecanismo de libertação do vírus. As drogas que inibem o canal de iões podem, portanto, inibir a libertação, tornando-se uma fonte para o desenvolvimento de novos agentes antivirais contra SARS-CoV-2. (Lima et al., 2020)

A juglanina é o glicosídeo mais potente contra a proteína SARS-CoV 3a ($IC_{50} = 2,3 \mu\text{M}$), seguida de tilirosido, afzelina, e campferol-3-O- α -rhamnopyranosil (1-2)[α -rhamnopyranosyl(1-6)]- β -glucopiranosido. Além disso, um estudo de ligação molecular revelou que o kampferol também atua na SARS-CoV-2 3CLpro, mostrando energia de ligação e afinidade de -7,8 kcal/mol e $5,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$, respetivamente. Forma duas ligações de hidrogénio,

nas quais o resíduo gln189 descrito anteriormente é fundamental para a atividade catalítica de 3CLpro. (Rehman et al., 2020)

Sugere-se que também é possível encontrar complicações imunológicas associadas ao COVID-19, como a síndrome de ativação do macrófago (também conhecida como linfo-histocitose secundária), o que resulta numa "tempestade de citocinas" potencialmente fatal e na síndrome de aflição respiratória aguda. Assim, o efeito anti-inflamatório e antiviral do pólen é extremamente relevante, uma vez que quando ocorrem complicações imunológicas como a tempestade de citocinas, o tratamento antiviral por si só não é suficiente e deve ser combinado com tratamentos anti-inflamatórios adequados. Deste modo o pólen apícola, que é o produto apícola com elevadas quantidades de quercetina, campferol e seus derivados glicosídeos, pode ser uma alternativa promissora para lutar contra a COVID-19. (Lima et al., 2020)

5. EFEITOS SECUNDARIOS E CONTAMINANTES

Além de ser rico em nutrientes e compostos bioativos úteis, em alguns casos, o pólen pode ser contaminado com alguns compostos que agem como antinutrientes no corpo humano. Ao contrário dos nutrientes, a lista de antinutrientes no pólen é bastante curta e pode ser categorizada da seguinte forma: alergénios, alcaloides pirrolizidínicos, elementos tóxicos e potencialmente tóxicos, e micotoxinas. (Kostić et al., 2020)

5.1 O pólen como alergénico

Tem sido dada muita atenção recentemente ao estudo das reações alérgicas e à sua associação com alimentos como principais causadores destas reações. Para além das alergias alimentares clássicas que envolvem reações diretas aos alergénios alimentares (leite, soja, nozes e proteínas de cereais, albumina de ovos, etc.) e cuja sensibilização ocorre através do trato gastrointestinal, foi dada especial atenção aos alergénios alimentares relacionados com o pólen. Este tipo de alergias é desencadeado pelas reações cruzadas de estruturas moleculares de aeroalergénios (alergénios inalatórios) e alergénios derivados dos alimentos, enquanto a sensibilização primária ocorre por inalação. A maioria das alergias ao pólen, como a febre do feno (cerca de 10%-25% da população), estão relacionadas com a alergia desencadeada pelo pólen presente no ar, enquanto as alergias causadas pela ingestão do pólen são muito raras, à semelhança de

outros alimentos. Cerca de 90% dos indivíduos sensíveis ao pólen mostram reações alérgicas a alimentos que se cruzam com o pólen. (Kostić et al., 2020)

Os sintomas de reações alérgicas podem ocorrer em poucos minutos a duas horas após a ingestão de alimentos, e podem afetar vários sistemas de órgãos, incluindo a mucosa oral, trato respiratório, sistemas cardiovasculares e pele. Além disso, deve ser dada especial atenção às reações alérgicas mais frequentes e severas, as chamadas reações anafiláticas, que estão intimamente relacionadas com as alergias alimentares associadas ao pólen. No entanto, a síndrome do pólen dos alimentos é mais comumente manifestada através de sintomas alérgicos característicos de sensações de prurido ou de queimadura na pele, lábios, boca e garganta (urticária aguda ou por contacto dos tecidos da orofaringe), ao comer certos tipos de frutas e legumes crus. Os perfis de reações potencialmente alérgicas podem ser muito complexos e muito amplos, e pode ser difícil rastrear sensibilizações individuais com aeroalergenos específicos, mas o princípio destas reações cruzadas baseia-se na ligação dos anticorpos IgE a estruturas homólogas de alergénios (epítomos conformacionais). (Werfel et al., 2015)

Os alergénios de pólen mais comuns são proteínas hidrossolúveis ou glicoproteínas capazes de difundir facilmente e rapidamente após o contacto entre o grão de pólen e a mucosa. Adicionalmente, dependendo do valor do pH, do tempo e da temperatura, os grãos de pólen nas condições de humidade e hidratação elevadas podem libertar alergénios ou matrizes contendo alergénios que facilmente cheguem às vias respiratórias (por exemplo, substâncias semelhantes a eicosanóides que reagem com leucotrieno B4 e prostaglandina E2). Cerca de 10%-20% dos doentes com alergias ao pólen possuem forte reatividade cruzada com muitos tipos de vegetais; por exemplo, anticorpos IgE que são dirigidos contra os epítomos de hidratos de carbono de glicoproteínas vegetais. (Kostić et al., 2020)

Os alergénios inalatórios, como o pólen de árvore (por exemplo, pólen de bétula), foram reconhecidos pelas suas reações cruzadas comuns aos alimentos, enquanto as reações cruzadas aos alimentos da *Artemisia*, *Ambrosia* e pólen das plantas ainda não estão comprovadas ou as suas reações cruzadas com os alimentos são extremamente raras. (Werfel et al., 2015)

O alergénio do pólen de bétula principal é definido como Bet v 1 (reconhecido por mais de 95% dos pacientes alérgicos ao pólen de bétula), que pertence à família das proteínas PR-10 (família de proteínas relacionadas com a patogénese), cujos membros são alergénios dominantes para alergias alimentares associadas ao pólen, enquanto outros são alergénios menos conhecidos Bet

v 2, Bet v 6, Bet v 7, e Bet v 8 (reconhecido por 10%-32% dos pacientes alérgicos ao pólen de bétula). A alergia relacionada com a reação cruzada do pólen de azeitona com os alimentos provém de componentes homólogos conhecidos como profilina, nsLTP (proteína de transferência de lípidos não específicos; por exemplo, Ole e 7 alergénios associados a sintomas clínicos graves) e glucanase. Além disso, frutos como pêssegos, maçãs, peras, kiwis, melões e frutos secos são conhecidos por causar síndrome da alergia oral em doentes com alergia ao pólen de azeitona. No caso do pólen da *Artemisia vulgaris* (a glicoproteína art v 1 é reconhecida como o alergénio dominante), as reações cruzadas dos seus alergénios com alimentos são raras e insuficientemente confirmadas, mas são conhecidas por levar a reações anafiláticas mais severas. O pólen é um dos alergénios aéreos mais importantes e a sua sensibilização e reatividade cruzada podem ser atribuídas e relacionadas com anticorpos IgE específicos que respondem a hidratos de carbono (glicanos, especialmente de alimentos vegetais) ou a um grupo de proteínas conhecidas como profilinas. (Kostić et al., 2020)

As reações cruzadas de alergénios específicos com alimentos e a sua sensibilização ainda são mal compreendidas. As reações alérgicas cruzadas são frequentemente o resultado de sintomas alérgicos leves; no entanto, em caso de uma grande quantidade de proteína (alergénio) consumida, podem ocorrer reações sistemáticas graves. Por esta razão, são necessárias boas informações sobre os alergénios, a sua distribuição e presença, as suas características (estabilidade térmica e pH) e o seu perigo potencial. Os alergénios, ou as suas formas proteicas envolvidas na causa de reações alérgicas, estão frequentemente sujeitos a modificações durante o processamento de alimentos, tais como o desdobramento e agregação de proteínas, e estão presentes nas estruturas alimentares complexas (que podem afetar a cinética da libertação de alergénios). (Kostić et al., 2020)

5.2 Elementos tóxicos e potencialmente tóxicos

A composição mineral do pólen é influenciada pela sua origem botânica e geográfica. Na sua maioria, está fortemente relacionada com a composição do solo ou possível influência antropogénica. No caso de elementos tóxicos e potencialmente tóxicos, são frequentemente consequência de algumas contaminações de amostras de pólen. Entre os elementos tóxicos e potencialmente tóxicos mais representados no pólen encontram-se: chumbo, cádmio, alumínio, estrôncio, arsénio, mercúrio, níquel e crómio. Há vários artigos que tratam deste tema. Com

base na experiência e em vários estudos, são apresentadas sugestões para níveis admissíveis de contaminação em amostras de pólen para: chumbo (0,5 mg/kg), arsénio (0,5 mg/kg), cádmio (0,1 mg/kg) e mercúrio (0,03 mg/kg). Atualmente, não existe nenhuma recomendação para o alumínio, que é um dos elementos potencialmente tóxicos que podem estar presentes numa quantidade significativa (por vezes mais de 100 mg/kg) no pólen. Devido à potencial neurotoxicidade deste elemento pode ser necessário definir um nível máximo de tolerância para o alumínio no pólen, e um para cada outro elemento tóxico. (Kostić et al., 2020)

5.3 Alcaloides pirrolizidínicos

Existem vários relatos sobre a presença de diferentes alcaloides pirrolizidínicos (AP) no pólen. Como metabolitos secundários de plantas pertencentes a alguns géneros (*Crotolaria*) ou famílias (*Senecioneae*, *Eupatorieae* e *Boraginaceae*), estes compostos podem ser encontrados em vários tipos de pólen. A toxicidade dos AP para os seres humanos está relacionada com a hepatotoxicidade e com o possível desenvolvimento do cancro do pulmão. Estes compostos podem ser detetados nas amostras de pólen do Sul da Europa (especialmente devido à presença e utilização de pólen de plantas de *Echium* nos países mediterrânicos). Os resultados obtidos para o conteúdo de AP em amostras de pólen são extremamente diferentes, variando de 1,08 a 14.000 µg/g para as amostras provenientes da Alemanha. (Kostić et al., 2020)

5.4 Micotoxinas no pólen

As micotoxinas são metabolitos secundários de fungos diferentes dos seguintes géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. Ao longo das últimas décadas, a ocorrência mais frequente destes produtos fúngicos no pólen tem sido influenciada pelo aumento da temperatura e humidade do ar em todo o mundo causados por alterações climáticas, criando condições favoráveis ao desenvolvimento fúngico. Entre vários compostos diferentes que são definidos como micotoxinas, os mais perigosos para os seres humanos são as aflatoxinas (AF) e as ocratoxinas (OT), devido ao seu efeito carcinogénico comprovado. De acordo com todos os dados recolhidos, foram detetadas e reportadas 18 micotoxinas diferentes em amostras de pólen recolhidas em todo o mundo com grande prevalência de aflatoxina B1 (AFB1), ocratoxina A (OTA), zearalenona (ZEN) e desoxinivalenol (DON) e seus derivados e fumonisinas (FBs), de

acordo com um estudo efetuado por autores de vários países europeus (Eslováquia, Sérvia, Espanha, Portugal e Grécia), e do Brasil. Atualmente, apenas são sugeridos valores-limite para os AF totais (4,2 µg/kg) e AFB1 (2 µg/kg) no pólen. No futuro, devem ser estabelecidas sugestões sobre as concentrações máximas permitidas para as outras micotoxinas no pólen. (Kostić et al., 2020)

6. ESTRATÉGIAS TERAPÊUTICAS E PERSPETIVAS FUTURAS

Hoje em dia, a nutrição incluindo produtos apícolas juntamente com alimentos naturais e saudáveis está a ganhar importância pelo que uma investigação mais profunda e inovação são necessárias na produção, consumo e efeitos na saúde dos produtos apícolas. (Mărgăoan et al., 2019)

Comparados com outros produtos naturais, o pólen apícola tem a vantagem de trazer uma quantidade significativa de nutrientes que atendem às necessidades do corpo humano, o que é premissa para um ótimo funcionamento do sistema imunológico e resistência a doenças, além de auxiliar os processos de cura no corpo. Atualmente o pólen apícola entra na formulação de muitos alimentos funcionais e produtos alimentares. A adição de pólen a uma matriz alimentar geralmente melhora as propriedades nutricionais, funcionais e sensoriais dos produtos alimentares recentemente formulados. Estas melhorias dependem da concentração de pólen nos produtos finais. A origem botânica do pólen, a sua composição química, o teor em grandes compostos bioativos, tais como polifenóis e carotenoides e as suas propriedades antioxidantes, não são fornecidas na maioria dos estudos. Estes dados devem ser fornecidos para compreender melhor o impacto da adição de pólen apícola aos alimentos e para uniformizar os processos de produção. (Mărgăoan et al., 2019)

O pólen apícola foi estudado pelos seus agentes potenciais promissores na terapia antineoplásica. O seu efeito inibitório, como a prevenção do crescimento tumoral foi confirmado por estudos *in vitro* e *in vivo*, em experiências com animais e em certos tipos de cancro, como o cancro da próstata, mas com extratos padronizados. Com tudo isso, muitos clínicos e pesquisadores afirmam que os efeitos anticancerígenos exercidos pelo pólen apícola não são satisfatórios para a melhoria em termos de prognóstico e taxas de sobrevivência, principalmente no que diz respeito às poucas publicações a respeito desse produto. De facto,

um ensaio clínico controlado deve ser realizado a fim de garantir a eficácia *versus* segurança, em relação a outros extratos potenciais.(Mărgăoan et al., 2019)

Também numa perspectiva de investigações futuras, deve ser dada especial atenção à qualidade do pólen aplicado e aos contaminantes que possam prejudicar a saúde humana e animal. Os regulamentos em vigor devem ser alargados para abranger todos os compostos nocivos. Os produtos alimentares à base de pólen devem ser claramente rotulados para demonstrar a presença de alergénios de pólen, a fim de evitar reações alérgicas de pessoas sensíveis ao pólen. As novas tecnologias, como o micro- e o nano-encapsulamento, podem ser utilizadas para proteger compostos sensíveis de pólen durante o processamento, armazenamento e digestão de produtos alimentares à base de pólen apícola, permitindo a sua libertação direcionada e o máximo impacto na saúde humana/animal. Além disso, deve sublinhar-se que os efeitos benéficos da adição de pólen apícola às matrizes alimentares devem ser confirmados nos estudos *in vivo*. (Kostić et al., 2020)

7. CONCLUSÃO

Esta revisão mostra que o pólen apícola tem um potencial realista para ser usado na nutrição e no tratamento de várias patologias. As principais atividades biológicas para a prática médica nos países desenvolvidos parecem estar na diminuição dos sintomas da prostatite e na dessensibilização contra a febre do feno. A maioria dos outros efeitos terapêuticos publicados em revistas científicas foram obtidos através de extratos de pólen apícola e com preparações de pólen de plantas e há menos referências com pólen apícola inteiro, apesar de ser certamente mais amplamente utilizado também contra outras doenças nos países em desenvolvimento e na medicina tradicional. Mostra-se evidente que há um longo caminho a percorrer até que o pólen apícola seja aceite pela medicina moderna. A principal dificuldade para o uso do pólen nos tratamentos reside na grande variação da sua composição e, portanto, da sua atividade biológica, dependendo da sua origem botânica. A colheita de pólen monofloral é possível, mas por enquanto é uma especialidade relativamente rara. Existe uma possibilidade de ter um pólen mais padronizado, que passa por misturar diferentes tipos de pólen para obter uma composição e uma atividade biológica constantes. Para o efeito, as características principais devem ser incluídos num futuro padrão de pólen apícola. O pólen monofloral ou normalizado deve ser testado em futuros estudos biológicos e clínicos. As propriedades biológicas e farmacológicas

dos tipos de pólen monofloral devem ser determinadas e identificadas as substâncias biologicamente ativas. Num último passo, os tipos de pólen com propriedades farmacológicas ideais podem ser testados nas diversas terapias humanas.

8. BIBLIOGRAFIA

- Araújo, J. S., Chambó, E. D., Costa, M. A. P. de C., da Silva, S. M. P. C., de Carvalho, C. A. L., & Estevinho, L. M. (2017). Chemical composition and biological activities of mono- and heterofloral bee pollen of different geographical origins. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(5). <https://doi.org/10.3390/ijms18050921>
- Bridi, R., Atala, E., Pizarro, P. N., & Montenegro, G. (2019). Honeybee Pollen Load: Phenolic Composition and Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity. *Journal of Natural Products*, 82(3), 559–565. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00945>
- Campos, M. G. R., Frigerio, C., Lopes, J., & Bogdanov, S. (2010). What is the future of Bee-Pollen? *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(4), 131–144. <https://doi.org/10.3896/ibra.4.02.4.01>
- Donkersley, P., Rhodes, G., Pickup, R. W., Jones, K. C., Power, E. F., Wright, G. A., & Wilson, K. (2017). Nutritional composition of honey bee food stores vary with floral composition. *Oecologia*, 185(4), 749–761. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3968-3>
- El-Ansary, A., Al-Salem, H. S., Asma, A., & Al-Dbass, A. (2017). Glutamate excitotoxicity induced by orally administered propionic acid, a short chain fatty acid can be ameliorated by bee pollen. *Lipids in Health and Disease*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0485-7>
- Em, A., Tohamy A, & Rr, A. (2009). *Antimutagenic Activity of Egyptian Propolis and Bee Pollen Water Extracts Against Cisplatin-Induced Chromosomal Abnormalities in Bone Marrow Cells of Mice* (Vol. 2, Issue 4). www.SID.ir
- Eraslan, G., Kanbur, M., & Silici, S. (2009). Effect of carbaryl on some biochemical changes in rats: The ameliorative effect of bee pollen. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.10.013>
- Eraslan, G., Kanbur, M., Silici, S., Cem Liman, B., Altinordulu, Ş., & Soyer Sarica, Z. (2009). Evaluation of protective effect of bee pollen against propoxur toxicity in rat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), 931–937. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.06.008>
- Guine, R. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Potential Beneficial Effects on Health. *Current Nutrition & Food Science*, 11(4), 301–308. <https://doi.org/10.2174/1573401311666150630181615>
- Huang, H., Shen, Z., Geng, Q., Wu, Z., Shi, P., & Miao, X. (2017). Protective effect of Schisandra chinensis bee pollen extract on liver and kidney injury induced by cisplatin in rats.

Biomedicine and Pharmacotherapy, 95, 1765–1776.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.083>

- Izuta, H., Shimazawa, M., Tsuruma, K., Araki, Y., Mishima, S., & Hara, H. (2009). Bee products prevent VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-45>
- Jannesar, M., Shoushtari, M. S., Majd, A., & Pourpak, Z. (2017). Bee Pollen Flavonoids as a Therapeutic Agent in Allergic and Immunological Disorders. In *Iran J Allergy Asthma Immunol* (Vol. 16, Issue 3). <http://ijaai.tums.ac.ir>
- Karampour, N. S., Hemmati, A. A., & Malmir, A. (2017). The anxiolytic effect of bee pollen hydroalcoholic extract in mice. *National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology*, 7(3), 301–305. <https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.0617914112016>
- Kaur, R.; Kumar, N.R.; Harjai, K. Feeding Bee Pollen and Bee Bread to Mice: Effect and Antioxidant Status. *Int. J. Ther. Appl.* 2014, 18, 26–29.
- Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: Chemical composition and therapeutic application. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2015). Hindawi Publishing Corporation. <https://doi.org/10.1155/2015/297425>
- Kostić, A., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Shariati, M. A., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2020). The application of pollen as a functional food and feed ingredient—the present and perspectives. In *Biomolecules* (Vol. 10, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom10010084>
- Lien Ai Pham-Huy, Hua He, & Chuong Pham-Huy. (2008). IJBS-4-89. *Int J Biomed Sci.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614697/>
- Lima, W. G., Brito, J. C. M., & da Cruz Nizer, W. S. (2020). Bee products as a source of promising therapeutic and chemoprophylaxis strategies against COVID-19 (SARS-CoV-2). In *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.6872>
- Lopes, A. J. O., Vasconcelos, C. C., Pereira, F. A. N., Silva, R. H. M., Queiroz, P. F. D. S. Q., Fernandes, C. V., Garcia, J. B. S., Ramos, R. M., da Rocha, C. Q., Lima, S. T. D. J. R. M., Cartágenes, M. D. S. D. S., & de Sousa Ribeiro, M. N. (2019). Anti-Inflammatory and antinociceptive activity of pollen extract collected by stingless bee *Melipona fasciculata*. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184512>
- Mărgăoan, R., Stranț, M., Varadi, A., Topal, E., Yücel, B., Cornea-Cipcigan, M., Campos, M. G., & Vodnar, D. C. (2019). Bee collected pollen and bee bread: Bioactive constituents and health benefits. In *Antioxidants* (Vol. 8, Issue 12). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antiox8120568>
- Nogueira C, Iglesias A, Feás X, Estevinho LM. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. *Int J Mol Sci.* 2012;13(9):11173-87. doi: 10.3390/ijms130911173. Epub 2012 Sep 7. PMID: 23109845; PMCID: PMC3472737.
- Qian WL, Khan Z, Watson DG, Fearnley J. Analysis of sugars in bee pollen and propolis by ligand exchange chromatography in combination with pulsed amperometric detection and mass

spectrometry Journal of Food Composition and analysis.. 2008 Feb;21(1):78-83. DOI: 10.1016/j.jfca.2007.07.001.

- Rehman MT, AlAjmi MF, Hussain A. Natural Compounds as Inhibitors of SARS-CoV-2 Main Protease (3CLpro): A Molecular Docking and Simulation Approach to Combat COVID-19. doi:10.26434/chemrxiv.12362333.v2. PPR:PPR169871.
- Rugendorff, E.W., Weidner, W., ebeling, L. and BUCK, A.C. (1993), Results of Treatment with Pollen Extract (CerniltonR N) in Chronic Prostatitis and Prostatodynia. *British Journal of Urology*, 71: 433-438. doi:10.1111/j.1464-410X.1993.tb15988.x
- Rzepecka-Stojko, A., Stojko, J., Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Kabała-Dzik, A., Kubina, R., Moździerz, A., Buszman, E., & Iriti, M. (2015). Polyphenols from Bee Pollen: Structure, absorption, metabolism and biological activity. In *Molecules* (Vol. 20, Issue 12, pp. 21732–21749). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules201219800>
- Shen, S., Wang, J., Zhuo, Q., Chen, X., Liu, T., & Zhang, S. Q. (2018). Quantitative and discriminative evaluation of contents of phenolic and flavonoid and antioxidant competence for chinese honeys from different botanical origins. *Molecules*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/molecules23051110>
- Shoskes, D. A. (2002). *PHYTOTHERAPY IN CHRONIC PROSTATITIS*.
- Spulber, R., Doğaroğlu, M., Băbeanu, N., & Popa, O. (2017). Physicochemical characteristics of fresh bee pollen from different botanical origins. In *Romanian Biotechnological Letters: Vols. xx, No. x*.
- Uçar, M., Değer, O., Gerigelmez, A. Y., Cengiz, S., Barlak, Y., & Ovalı, E. (2016). Effect of Turkish pollen and propolis extracts on caspase-3 activity in myeloid cancer cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(11), 2445–2449. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v15i11.20>
- Werfel, T., Asero, R., Ballmer-Weber, B. K., Beyer, K., Enrique, E., Knulst, A. C., Mari, A., Muraro, A., Ollert, M., Poulsen, L. K., Vieths, S., Worm, M., & Hoffmann-Sommergruber, K. (2015). Position paper of the EAACI: Food allergy due to immunological cross-reactions with common inhalant allergens. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 70(9), 1079–1090. <https://doi.org/10.1111/all.12666>
- Yildiz, O., Can, Z., Saral, Ö., Yuluğ, E., Öztürk, F., Aliyazicioğlu, R., Canpolat, S., & Kolaylı, S. (2013). Hepatoprotective potential of chestnut bee pollen on carbon tetrachloride-induced hepatic damages in rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/461478>
- Zhou, W., Zhao, Y., Yan, Y., Mi, J., Lu, L., Luo, Q., Li, X., Zeng, X., & Cao, Y. (2020). Antioxidant and immunomodulatory activities in vitro of polysaccharides from bee collected pollen of Chinese wolfberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.244>