



## Trabajo Original

### Composición corporal, metabolismo mineral y función endocrina del tejido adiposo: influencia de un suplemento nutricional de propóleo

*Body composition, mineral metabolism, and endocrine function of adipose tissue: influence of a nutritional supplement of propolis*

María Jesús Lisbona González<sup>1,2</sup>, Candela Reyes Botella<sup>1</sup>, Esther Muñoz Soto<sup>1</sup>, María Victoria Olmedo Gaya<sup>1</sup>, Jorge Moreno Fernández<sup>3,4</sup> y Javier Díaz Castro<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Estomatología. Facultad de Odontología. Universidad de Granada. Granada, Andalucía. <sup>2</sup>Programa de Doctorado Medicina Clínica y Salud Pública.

Universidad de Granada. Granada, Andalucía. <sup>3</sup>Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix". Universidad de Granada. Granada, Andalucía.

<sup>4</sup>Departamento de Fisiología. Universidad de Granada. Granada, Andalucía

### Resumen

**Introducción:** el propóleo y sus componentes influyen en el metabolismo lipídico; sin embargo, se desconoce su efecto sobre la composición corporal y el metabolismo mineral.

**Objetivos:** determinar el efecto de la suplementación de la dieta con propóleo natural sobre la composición corporal, el metabolismo basal y mineral, y la función endocrina del tejido adiposo.

**Material y métodos:** veinte ratas albinas Wistar macho (8 semanas) se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno. Las ratas fueron alimentadas con dos tipos diferentes de dietas durante 90 días: una dieta estándar para el grupo de control (grupo C) y la misma dieta estándar + un 2 % de propóleo (grupo P). Se determinaron las hormonas tiroideas, la grelina, la leptina, la adiponectina y la insulina, los ácidos grasos no esterificados (AGNE) en el plasma, la composición corporal (masa magra, masa grasa y agua corporal) y el depósito de minerales en órganos diana (bazo, cerebro, corazón, pulmones, testículos, riñones y fémur).

**Resultados:** los niveles plasmáticos de hormona estimulante del tiroides (TSH), triyodotironina ( $T_3$ ) y tiroxina ( $T_4$ ) no mostraron diferencias tras la ingesta del suplemento de propóleo, mientras que los de grelina y adiponectina disminuyeron ( $p < 0,01$  y  $p < 0,05$ , respectivamente) y los de insulina ( $p < 0,01$ ), leptina ( $p < 0,05$ ) y AGNE ( $p < 0,05$ ) aumentaron cuando la dieta se suplementó con propóleo al 2 %. Se redujeron el peso y la grasa corporal ( $p < 0,05$ ), incrementándose la masa magra. Por último, el suplemento de propóleo mejoró el depósito de calcio en el bazo, los pulmones, los testículos y el fémur ( $p < 0,05$ ).

**Conclusión:** el suplemento de propóleo al 2 % de la dieta produjo una disminución de la secreción de grelina y adiponectina, incrementando la concentración de AGNE y aumentando la tasa de secreción de insulina. Además, el suplemento de propóleo indujo una mejora del depósito de calcio en los órganos diana sin afectar al resto de minerales, lo que en conjunto mejora la composición corporal al inducir una reducción del peso y del tejido adiposo visceral, mejorando la masa magra.

#### Palabras clave:

Propóleo.  
Peso corporal.  
Composición corporal. Tejido adiposo. Masa magra. Metabolismo mineral.

Recibido: 11/11/2020 • Aceptado: 14/12/2020

*Agradecimientos:* María Jesús Lisbona González desea mostrar su agradecimiento al Programa de Doctorado Medicina Clínica y Salud Pública. Jorge Moreno Fernández desea mostrar su agradecimiento a la Universidad de Granada por el Contrato Punte.

*Conflicto de intereses:* los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Lisbona González MJ, Reyes Botella CR, Muñoz Soto E, Olmedo Gaya MV, Moreno Fernández J, Díaz Castro J. Composición corporal, metabolismo mineral y función endocrina del tejido adiposo: influencia de un suplemento nutricional de propóleo. *Nutr Hosp* 2021;38(3):585-591

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.03438>

#### Correspondencia:

Javier Díaz Castro. Departamento de Fisiología e Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos José Mataix. Centro de Investigación Biomédica. Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Avda. del Conocimiento, s/n. 18100 Armilla, Granada  
e-mail: javierdc@ugr.es

## Abstract

**Introduction:** propolis and its components influence lipid metabolism; however, its effect on body composition and mineral metabolism remains unknown.

**Objectives:** to determine the effect of natural propolis supplementation on body composition, mineral metabolism, and the endocrine function of adipose tissue.

**Material and methods:** twenty albino male Wistar rats (8 weeks old) were divided into two groups of 10 animals each. The rats were fed two different types of diet for 90 days: a standard diet for the control group (group C) and the same standard diet + 2 % propolis (group P). Thyroid hormones, ghrelin, leptin, adiponectin and insulin, non-esterified fatty acids (NEFA) in plasma, body composition (lean mass, fat mass and body water), and mineral deposition in target organs (spleen, brain, heart, lungs, testicles, kidneys and femur) were assessed.

**Results:** thyroid stimulating hormone (TSH), triiodothyronine ( $T_3$ ) and thyroxine ( $T_4$ ) did not show any differences after supplementation with propolis, while ghrelin and adiponectin decreased ( $p < 0.01$  and  $p < 0.05$ , respectively) and insulin ( $p < 0.01$ ), leptin ( $p < 0.05$ ) and NEFA ( $p < 0.05$ ) increased when 2 % propolis was supplied, while weight and body fat were reduced ( $p < 0.05$ ) and lean mass increased. Lastly, the propolis supplement improves calcium deposition in the spleen, lungs, testes, and femur ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** propolis supplementation of the diet (2 %) causes a decrease in the secretion of ghrelin and adiponectin, increasing the release of non-esterified fatty acids and the rate of insulin secretion. In addition, propolis supplementation induces an improvement in calcium deposition in target organs without affecting the rest of minerals, which improves body composition by inducing a reduction in weight and visceral adipose tissue, and improvement in lean mass.

### Keywords:

Propolis. Body weight.  
Body composition.  
Adipose tissue.  
Lean mass. Mineral  
metabolism.

## INTRODUCCIÓN

La obesidad es un problema global que ha aumentado en los últimos años en proporción dramática tanto en niños como en adultos. Está bien establecido en la comunidad científica que la obesidad está asociada a una serie de comorbilidades, y que el sobrepeso y la obesidad se han relacionado con un mayor riesgo de mortalidad. Las personas obesas son más susceptibles de sufrir infecciones y de desarrollar más complicaciones graves (1). La dieta juega un papel clave en la composición corporal pero todavía existe información limitada sobre la influencia de determinados alimentos en este sentido.

Durante muchas décadas, el tejido adiposo se consideró un órgano pasivo que participaba exclusivamente en el almacenamiento de lípidos en condiciones de ingesta de energía excesiva, y que proporcionaba sustratos ricos en energía cuando otros órganos la necesitaban. Actualmente existe una nueva visión fisiológica del tejido adiposo como órgano endocrino, gracias al descubrimiento de su papel central en la interacción con otros órganos o tejidos (2).

En los sujetos obesos se ha encontrado una alteración de la homeostasis mineral (que se relaciona con el índice de masa corporal y la distribución de grasa) que podría ser de importancia clínica, ya que se ha encontrado que la masa esquelética está alterada en los sujetos obesos, y los niveles bajos de calcio ionizado en plasma se han asociado con complicaciones vasculares en los sujetos hipertensos, en quienes la obesidad se encuentra con frecuencia (3).

El propóleo es un producto de apicultura, producido en las colmenas, que consiste en una mezcla de saliva de las abejas, extractos de semillas y hojas, y exudados de flora vegetal. Hasta ahora se han aislado más de 500 compuestos químicos presentes en el propóleo (4). Dado que los principales ingredientes del propóleo derivan de los vegetales, su composición química es dependiente de su origen geográfico.

El propóleo se ha utilizado en la medicina tradicional popular y en terapias complementarias para tratar una amplia variedad de

enfermedades. El propóleo y sus componentes químicos tienen efectos terapéuticos destacados sobre las enfermedades infecciosas, la inflamación y el cáncer (5). Además, el propóleo también tiene efectos beneficiosos sobre ciertos trastornos metabólicos (6). Concretamente, algunos polifenoles presentes en el propóleo, como la genisteína (isoflavona) y la naringenina (flavona), pueden inducir lipólisis en el tejido adiposo (7), y se ha demostrado que estos componentes derivados de las plantas disminuyen la acumulación de lípidos en los adipocitos (8).

Teniendo en cuenta todo lo descrito, el presente estudio se diseñó para evaluar el efecto de la suplementación oral con propóleo natural al 2 % sobre la función endocrina del tejido adiposo, la composición corporal y el depósito de minerales en órganos diana.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### ANIMALES, DISEÑO EXPERIMENTAL Y DIETAS

Para este estudio se utilizaron veinte ratas albinas Wistar macho (8 semanas) con un peso medio de  $215 \pm 10$  g, suministradas por el Servicio de Animales de Laboratorio de la Universidad de Granada. Los procedimientos de cuidado animal y los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética de la Universidad de Granada de acuerdo con las directrices de la Comunidad Europea. Se realizó un análisis de potencia para estimar el número de ratas necesarias para obtener un 80 % de potencia con un nivel de confianza del 95 %. Se requerirían ocho animales para obtener una diferencia del 8 % en los parámetros hematológicos entre ambas dietas. De forma similar, se requerirían 7 animales por grupo para obtener una diferencia del 10 % en los parámetros bioquímicos entre las dos dietas. Para garantizar el cálculo de la potencia se usaron 10 ratas por grupo.

Las ratas se dividieron en dos grupos de 10 animales cada uno y fueron alimentadas durante 90 días con dos tipos diferentes de dietas: una dieta estándar AIN-93M (9) para el grupo de control (grupo C) y la dieta AIN-93M + 2 % de propóleo (que contiene

**Tabla I. Dietas ensayadas**

Componente	Cantidad (g/kg)
<b>Dieta C y Pa</b>	
Proteína (caseína)	140
Grasa (aceite de oliva virgen)	40
Fibra (celulosa micronizada)	50
Suplemento mineral <sup>b</sup>	35
Suplemento vitamínico <sup>c</sup>	10
Cloruro de colina	2,5
Almidón de maíz	621
Sacarosa	100
L-Cistina	1,8

<sup>a</sup>A la dieta del grupo P se le agregó un 2 % de propóleo (que contenía  $168,7 \pm 3,9$  mg de equivalentes de ácido gálico/100 g como compuestos fenólicos totales, y  $31,7 \pm 1,1$  mg de equivalentes de catequina/100 g como flavonoides totales). <sup>b</sup>El suplemento mineral se preparó de acuerdo con las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (9). <sup>c</sup>El suplemento vitamínico se preparó según las recomendaciones del Instituto Americano de Nutrición (9).

aproximadamente un 50 % de resina y bálsamo vegetal, un 30 % de cera, un 10 % de aceites esenciales y aromáticos, un 5 % de polen y un 5 % de otros compuestos) (4) para el grupo del propóleo (grupo P). La tabla I muestra la composición de las dos dietas experimentales. Los animales se colocaron en jaulas metabólicas individuales en una habitación ambientalmente controlada con una temperatura constante de  $22 \pm 1$  °C, un ciclo de luz-oscuridad de 12 h y un  $55 \pm 10$  % de humedad. Se controló la ingesta de la dieta (*pair feed*) y los animales ingirieron agua bidestilada *ad libitum*. En el día 90, todos los animales fueron sometidos a un periodo de ayuno durante la noche y se determinó la composición corporal mediante resonancia magnética. Posteriormente, las ratas fueron anestesiadas mediante inyección intraperitoneal de 5 mg de pentobarbital sódico/100 g de peso corporal (St Louis, MO, EUA). Se extrajo completamente la sangre mediante canulación de la aorta y se centrifugó con EDTA como anticoagulante (1500 x g, 4 °C, 15 min) para la obtención de plasma y el posterior análisis de hormonas tiroideas, grelina, leptina, adiponectina, insulina y ácidos grasos no esterificados (AGNE). Después se procedió a la extracción y congelación de los distintos órganos objeto del estudio: bazo, cerebro, corazón, pulmones, testículos, riñones y fémur, en los que se determinó el contenido de Ca, P, Mg, Cu y Zn tras el adecuado procesamiento de la muestra.

## EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL

La composición corporal de los animales se determinó usando un sistema de resonancia magnética cuantitativa Echo MRI Analyzer de Echo Medical Systems (Houston, Texas, EE. UU.).

Todas las mediciones de composición corporal se realizaron durante la misma franja horaria (08:00 a.m. a 03:00 p.m.). Los animales se colocaron en un cilindro de plástico durante un breve periodo de tiempo para limitar sus movimientos y se sometieron a un campo electromagnético de baja intensidad para medir la grasa, la masa magra, el agua libre y el agua corporal total.

## HORMONAS TIROIDEAS, GRELINA, LEPTINA, ADIPONECTINA E INSULINA

Las hormonas tiroideas, la grelina, la leptina, la adiponectina y la insulina se determinaron mediante Luminex utilizando la tecnología X-Map. Para la determinación de la hormona estimulante del tiroide (TSH), la triyodotironina ( $T_3$ ) y la tiroxina ( $T_4$ ) se utilizó el panel RYYMAG-30K Milliplex MAP Rat. La forma activa de la grelina, la leptina y la insulina se determinaron usando el Panel Milliplex MAP de RMHMAG-84K. Los niveles de adiponectina se midieron usando el panel Milliplex MAP RADPCMAG-82K (Millipore Corporation, Missouri, EE. UU.). La tecnología X-Map se basa en inmunoensayos en la superficie de microesferas magnéticas fluorescentes, siguiendo las especificaciones del fabricante (50 eventos por medida, 50  $\mu$ L de muestra, configuración de ensayo: 8000-15000, 60 segundos). La placa se leyó en el analizador LABScan 100 (Luminex Corporation, Texas, EE. UU.), utilizando el software xPONENT para adquisición de datos. Los valores promedio de cada conjunto de muestras o estándares duplicados se encontraban dentro del 10 % de la media. Las concentraciones de hormona tiroidea, grelina, leptina, adiponectina e insulina en las muestras de plasma se determinaron comparando la media de las muestras duplicadas con la curva estándar para cada ensayo.

## ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS (AGNE)

Los AGNE son liberados por los triglicéridos gracias a la acción de la lipasa, proporcionando una gran parte de la energía metabólica. Los AGNE se midieron usando un kit comercial (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, Reino Unido). Para ello se emplearon 50  $\mu$ l de solución estándar o muestras de plasma. A continuación se añadió 1 ml de la solución R1 a todos los tubos. Las mezclas se sometieron a agitación durante 5-10 segundos y se incubaron a 37 °C durante 10 minutos. Inmediatamente después se añadieron 2 ml de solución R2 y el tubo se mezcló y se incubó a 37 °C. Tras 10 minutos de incubación se determinó la absorbancia de la mezcla a 550 nm en un espectrofotómetro (Bio-tek, Vermont, EE. UU.). Además, todos los estándares, muestras de plasma y controles se analizaron por duplicado. El cálculo de la concentración de AGNE se ajustó usando la siguiente ecuación:  $AGNE \text{ mmol/L} = (\text{Absorbancia de la muestra} / \text{Absorbancia del estándar}) \times \text{concentración del estándar}$ .

## MINERALES TOTALES

Los minerales totales se determinaron por mineralización total de la muestra por vía húmeda de los órganos. La muestra se

coloca en un vaso de precipitado, se añaden 10-12 mL de ácido nítrico concentrado (riqueza del 69 %) y se tapa el vaso con un vidrio de reloj. Se coloca en un baño de arena SELECTA (Selecta, Barcelona, España) a una temperatura de 70-80 °C y se espera la aparición de vapores rojizos/anaranjados de óxido nítrico. Se añaden 2 mL de nítrico a la muestra, tantas veces como se necesario hasta la aparición de vapores blanquecinos. En ese momento se comienza a añadir 10 mL de mezcla nítrico/perclórico (4:1, v/v) en alícuotas de 2 mL cada vez hasta completar la mineralización. Una vez finalizada la mineralización, se deja enfriar, se filtra en papel Whatman del nº 41 (libre de cenizas) y se enrasa hasta un volumen final de 25 mL en un matraz aforado. Como resultado final obtenemos una solución transparente que emplearemos en la posterior determinación de minerales. Las concentraciones de Ca, Mg, Cu y Zn en los órganos se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer 1100B, Norwalk, EUA) a partir de una muestra adecuada, previamente mineralizada por vía húmeda y diluida convenientemente, comparándose frente a una serie de patrones de concentración conocida. En la espectroscopía atómica se consigue que los átomos individuales de una especie interactúen con la radiación electromagnética. La concentración de P se analizó por espectrofotometría visible mediante un kit comercial (Spinreact, Barcelona, España).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se muestran como medias  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa informático SPSS (versión 25.0, 2013, SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA). Las diferencias entre los grupos alimentados con dietas de control (C) o suplementadas con propóleo (P) se evaluaron con la prueba de la t de Student. Se estableció el nivel de significación con el valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Los reguladores endocrinos del metabolismo basal después de la ingesta de la dieta C o P se muestran en la tabla II. La hormona estimulante del tiroides (TSH), la triyodotironina ( $T_3$ ) y la tiroxina ( $T_4$ ) no fueron diferentes tras la ingesta de las dos dietas, mientras que la grelina y la adiponectina disminuyeron ( $p < 0,01$  y  $p < 0,05$ , respectivamente) y la insulina ( $p < 0,01$ ), la leptina ( $p < 0,05$ ) y los AGNE ( $p < 0,05$ ) aumentaron cuando se suministró propóleo al 2 % en la dieta.

Al finalizar el tratamiento con la dieta P, el peso y la grasa corporal fueron menores ( $p < 0,05$ ), mientras que la masa magra se incrementó ( $p < 0,05$ ) (Tabla III).

La ingesta de la dieta suplementada con propóleo incrementó el depósito de calcio en bazo, pulmones, testículos y fémur ( $p < 0,05$ ), mientras que no modificó el resto de los minerales determinados en ninguno de los órganos analizados (Tabla IV).

**Tabla II. Concentración plasmática de las hormonas que influyen en el metabolismo basal y los AGNE en las ratas alimentadas con la dieta de control o con la suplementada con propóleo**

	Grupo C (n = 10)	Grupo P (n = 10)
TSH (pg/mL)	32,25 $\pm$ 2,27	32,05 $\pm$ 2,11
$T_3$ (pg/mL)	13312 $\pm$ 395,47	13798 $\pm$ 311,15
$T_4$ (pg/mL)	1335 $\pm$ 77,44	1336 $\pm$ 91,22
Grelina (pg/mL)	21,49 $\pm$ 1,43	16,63 $\pm$ 0,97 <sup>†</sup>
Insulina (pg/mL)	645,14 $\pm$ 33,87	739,12 $\pm$ 37,01 <sup>†</sup>
Adiponectina (ng/mL)	1335 $\pm$ 121,25	1114 $\pm$ 110,67*
Leptina (pg/mL)	1603 $\pm$ 101,12	1975 $\pm$ 112,94*
AGNE (mmol/L)	0,51 $\pm$ 0,08	0,64 $\pm$ 0,09*

TSH: hormona estimulante del tiroides;  $T_3$ : triyodotironina;  $T_4$ : tiroxina; AGNE: ácidos grasos no esterificados; \*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de control ( $p < 0,05$ , test de la t de Student);

<sup>†</sup>Diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de control ( $p < 0,01$ , test de la t de Student).

**Tabla III. Composición corporal de las ratas alimentadas con la dieta de control o con la suplementada con propóleo**

	Grupo C (n = 10)	Grupo P (n = 10)
Peso corporal (g)	373,22 $\pm$ 8,85	308,24 $\pm$ 7,31*
Grasa (%)	8,15 $\pm$ 0,70	7,51 $\pm$ 0,82*
Masa magra (%)	87,11 $\pm$ 1,72	91,52 $\pm$ 1,80*
Agua libre (%)	0,35 $\pm$ 0,03	0,41 $\pm$ 0,07
Agua total (%)	74,57 $\pm$ 0,51	75,32 $\pm$ 0,79

\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de control ( $p < 0,05$ , test de la t de Student).

## DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos encontrado que el suplemento de propóleo al 2 % aumentó la capacidad lipolítica del tejido adiposo y disminuyó la síntesis de lípidos, reduciendo la adiponectina y la grelina secretadas, hecho que puede explicar la mejora de la composición corporal, la disminución de la adiposidad y el aumento de la tasa de secreción de insulina, ya que esta hormona actúa sobre el sistema melanocortinérgico hipotalámico. La grelina actúa sobre la pituitaria anterior, los islotes pancreáticos, la glándula tiroides, el corazón y varias regiones del cerebro. Estimula el apetito, posiblemente a través de la activación de circuitos nerviosos orexigénicos, de forma coherente con los

**Tabla IV. Concentración de minerales en los órganos de las ratas alimentadas con la dieta de control o con la suplementada con propóleo**

	<b>Grupo C (n = 10)</b>	<b>Grupo P (n = 10)</b>
<i>Bazo</i>		
Ca (µg/g)	208,15 ± 10,35	252,51 ± 26,09*
P (mg/g)	12,82 ± 0,61	12,91 ± 0,64
Mg (mg/g)	1,51 ± 0,11	1,62 ± 0,12
Cu (µg/g)	16,21 ± 0,57	16,35 ± 0,92
Zn (µg/g)	87,41 ± 3,33	85,16 ± 3,61
<i>Cerebro</i>		
Ca (µg/g)	592,95 ± 38,30	639,24 ± 48,36
P (mg/g)	10,24 ± 0,10	10,27 ± 0,70
Mg (mg/g)	1,29 ± 0,02	1,28 ± 0,04
Cu (µg/g)	15,56 ± 0,22	16,11 ± 0,78
Zn (µg/g)	48,65 ± 0,36	48,84 ± 0,51
<i>Corazón</i>		
Ca (µg/g)	388,35 ± 21,50	398,52 ± 21,37
P (mg/g)	5,50 ± 0,22	5,89 ± 0,19
Mg (mg/g)	1,94 ± 0,02	2,00 ± 0,09
Cu (µg/g)	19,13 ± 0,47	18,68 ± 0,62
Zn (µg/g)	60,22 ± 1,10	61,36 ± 1,50
<i>Pulmones</i>		
Ca (µg/g)	0,41 ± 0,05	0,55 ± 0,03*
P (mg/g)	6,03 ± 0,72	6,14 ± 0,28
Mg (mg/g)	1,32 ± 0,06	1,21 ± 0,06
Cu (µg/g)	10,42 ± 0,91	11,12 ± 0,84
Zn (µg/g)	61,42 ± 2,80	62,49 ± 2,59
<i>Testículos</i>		
Ca (µg/g)	259,60 ± 5,24	293,33 ± 5,10*
P (mg/g)	7,64 ± 0,29	7,70 ± 0,23
Mg (mg/g)	1,01 ± 0,10	1,07 ± 0,08
Cu (µg/g)	17,68 ± 0,80	17,70 ± 0,96
Zn (µg/g)	145,69 ± 2,17	143,18 ± 2,30
<i>Riñones</i>		
Ca (µg/g)	0,65 ± 0,13	0,67 ± 0,08
P (mg/g)	5,91 ± 0,08	6,10 ± 0,10
Mg (mg/g)	1,66 ± 0,04	1,55 ± 0,03
Cu (µg/g)	25,32 ± 1,58	25,22 ± 2,17
Zn (µg/g)	88,97 ± 1,95	86,21 ± 1,98
<i>Fémur</i>		
Ca (µg/g)	168,4 ± 3,23	182,8 ± 3,11*
P (mg/g)	122,7 ± 2,51	125,1 ± 2,91
Mg (mg/g)	4,32 ± 0,21	4,12 ± 0,14
Cu (µg/g)	81,12 ± 2,01	85,31 ± 2,66
Zn (µg/g)	227,37 ± 2,61	228,45 ± 2,82

\*Diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de control (p < 0,05, test de la t de Student).

efectos observados en los niveles plasmáticos de grelina y otros péptidos neuroactivos, y estimula la lipólisis con independencia de la ingesta de alimentos, ya que se controló esta ingesta mediante *pair feed*, lo que, en conjunto, conduce a un aumento del peso corporal y la adiposidad. Más allá de la regulación del apetito y la secreción de hormona del crecimiento (GH), los efectos de la grelina incluyen la regulación de la motilidad intestinal, el ritmo del ciclo sueño-vigilia, la sensación del sabor, el comportamiento de búsqueda de recompensas y la regulación del metabolismo de la glucosa, mejorando la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus de tipo II (10). El suplemento de propóleo en la dieta también produjo una disminución de la adiponectina, una adipocina que desempeña un papel importante en la homeostasis energética y la sensibilidad a la insulina, y que se correlaciona inversamente con el grado de adiposidad (11), explicando la reducción de la masa grasa encontrada, ya que la adiponectina es producida por el tejido adiposo y su producción es proporcional a la cantidad del mismo. La disminución de los niveles de grelina y adiponectina es opuesta al aumento de las concentraciones plasmáticas de leptina tras la suplementación con propóleo; por lo tanto, induciría una disminución del apetito. Además, en concordancia con otros estudios (2), existe una asociación inversa entre la adiponectina circulante y las concentraciones de AGNE en el plasma, indicando un incremento de la capacidad lipolítica inducido por el suplemento de propóleo en los depósitos adiposos, lo cual influye en la composición corporal, disminuyendo la masa grasa y, por lo tanto, la secreción de adiponectina y grelina (12).

La grelina provoca una inhibición de la secreción de insulina (13,14), mejorando así la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos (15). Las ratas que portan una mutación de pérdida de función en el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina p27 presentan un número elevado de células ε productoras de grelina, que coincide con una mayor ingesta de alimentos, una mayor masa grasa y una menor estimulación de la secreción de insulina por la glucosa (16). Más allá de su papel como regulador negativo de la secreción de insulina, la grelina también parece tener efectos protectores sobre las células β en presencia de la diabetes de tipo I (17).

El propóleo también aumentó la tasa de secreción de insulina por otros mecanismos independientes de la grelina. Varios estudios han evaluado los efectos del propóleo sobre el nivel sérico de insulina en modelos animales de diabetes inducida por estreptozocina. Dado que la estreptozocina destruye las células β pancreáticas, los niveles de insulina en sangre disminuyen notablemente. En este sentido, extractos etanólicos de propóleo (300 mg/kg/día) protegieron parcialmente la deficiencia de insulina inducida por estreptozocina, mejorando la sensibilidad a la insulina y la función de las células β pancreáticas (18). El propóleo es capaz de prevenir la destrucción de las células β pancreáticas por varios mecanismos. Los flavonoides son capaces de neutralizar y eliminar las especies reactivas del oxígeno (ERO), y la quercetina protege las células β del daño oxidativo (19). De hecho, se ha descrito que la quercetina (15 mg/kg/día durante 4 semanas) recuperó parcialmente la deficiencia de insulina inducida por estreptozocina en ratas (20).

Junto con la eliminación de las ERO en el páncreas, el propóleo tiene un efecto directo sobre el mecanismo de secreción de la insulina. Las células  $\beta$  pancreáticas promueven la secreción de insulina en respuesta a la arginina. La arginina interactúa con su complejo diana para estimular la secreción de insulina en el retículo endoplásmico de las células  $\beta$ . El propóleo fue capaz de mimetizar los efectos de la arginina en líneas celulares  $\beta$  pancreáticas NIT-1. El propóleo (0,01 %) mostró un efecto más prominente que el de la arginina sobre la secreción de insulina, lo que sugiere que ejerce otros efectos estimulantes adicionales, que no han sido descritos, sobre la secreción de insulina (21). Los mismos autores también demostraron que la administración de propóleo produjo un aumento de la concentración de insulina circulante en ratones no diabéticos, junto con una disminución de la glucosa en sangre (21). Varios compuestos químicos presentes en el propóleo mejoran de forma independiente la tasa de secreción de insulina. El ácido cafeico (15-30 mg/kg durante 5 semanas) mejoró significativamente el nivel de insulina en ayunas y la tolerancia a la glucosa en ratones tratados con estreptozocina (22). La crisina (100 mg/kg/día durante 30 días) también mejoró la señalización de la insulina (23). Además, otros compuestos, como la galangina (10-80 M) y la pinocembrina (1-4 M), mejoraron la resistencia a la insulina y potenciaron la acumulación de glucógeno inducida por insulina en células HepG2 resistentes a la insulina (24).

El suplemento de propóleo en la dieta causó una reducción del peso y del tejido adiposo visceral, mejorando la masa magra. Se sabe que el incremento de los lípidos plasmáticos causa obesidad y resistencia a la insulina, y que el perfil lipídico se ve afectado por la dieta y los órganos reguladores, como el hígado, el tejido adiposo y el músculo. Estudios previos (25) han informado de que el propóleo reduce significativamente la actividad de la enzima ácido graso-sintasa en los grupos tratados con extracto de propóleo, sugiriendo que uno de los mecanismos responsables del efecto inhibitorio sobre la acumulación de tejido adiposo visceral es la disminución de la síntesis de ácidos grasos. Diversos estudios han demostrado un papel crucial de las células inmunes del tejido adiposo en la inflamación crónica y en el desarrollo del síndrome metabólico. Se ha demostrado que las células inmunes T CD4+, las células T CD8+, las células T reguladoras y los eosinófilos contribuyen a la diferenciación de los macrófagos inflamatorios y, en este sentido, Kitamura y cols. (26) propusieron que el propóleo mejoraría los niveles de glucosa en sangre y el colesterol plasmático a través de su efecto sobre las células inmunes del tejido adiposo. Sakai y cols. (27) mostraron que la reducción de la infiltración de las células inmunes en el tejido adiposo provoca una reducción de la acumulación de grasa y/o una atenuación de la ganancia de peso corporal durante el tratamiento con propóleo en ratones. En este estudio, el peso y el contenido de grasa de las heces de los ratones tratados con propóleo se incrementó con respecto a los valores hallados en las heces de los ratones que no recibían este compuesto. El propóleo contiene una variedad de compuestos químicos que pueden explicar la disminución de la adiposidad encontrada. Se ha demostrado que el ácido ferúlico promueve la pérdida de peso en las ratas y mejora la glucemia en

los ratones alimentados con una dieta alta en grasas (28,29). El kaempferol mejora la hiperglucemia, la hiperinsulinemia y el perfil lipídico (30). Además el ácido p-cumárico incrementa la expresión de carnitina, mejorando el metabolismo lipídico hepático (31).

A pesar de que el propóleo tiene un alto contenido de resinas (4) y estos compuestos poseen la capacidad de inhibir la absorción de minerales de la dieta por su efecto quelante, no se han observado efectos adversos sobre los niveles plasmáticos o el metabolismo de los minerales estudiados. De hecho, en el presente estudio se ha encontrado una mejora del depósito de calcio en los órganos diana. El aumento del depósito de calcio en bazo, pulmones, testículos y fémur puede deberse a la mayor digestibilidad del calcio en los animales alimentados con el suplemento de propóleo, que, como se ha publicado previamente (32), contiene aminoácidos libres, como la lisina, el aspartato, el glutamato y la ornitina, que favorecen la absorción del calcio. Otro mecanismo que explica el mejor depósito de calcio en los órganos diana es su contenido en ácido 4-hidroxibenzoico, que favorece la solubilidad del calcio de la dieta, aumentando así la absorción de este mineral (33).

Por último, la mejora de la composición corporal también puede atribuirse a la mejora de la homeostasis del calcio que se ha encontrado con el propóleo. Se ha demostrado que en los sujetos obesos existe un aumento de la unión del calcio a las proteínas plasmáticas, en lugar de a las proteínas transportadoras de calcio. El calcio intracelular ionizado desempeña un papel clave en la regulación del metabolismo de los adipocitos al modular las reservas de triglicéridos. Debido a que las hormonas calciotrópicas regulan el calcio intracelular, la supresión de estas hormonas cuando aumenta la biodisponibilidad del calcio redirige la energía de la dieta desde el tejido adiposo hacia la masa magra corporal y la termogénesis (34,35); también el calcio de la dieta en el tracto gastrointestinal conduce a la precipitación de jabones insolubles de ácidos grasos que hacen que la grasa esté menos disponible para su absorción (35). Además, varios estudios (36-38) han demostrado que la suplementación de calcio en la dieta produce efectos beneficiosos sobre la reducción del peso, la grasa corporal y la homeostasis de la glucosa en ratones y seres humanos.

## CONCLUSIÓN

En el presente estudio hemos encontrado que el suplemento de propóleo al 2 % de la dieta produjo una disminución de la secreción de grelina y adiponectina, incrementando la concentración de AGNE y la tasa de secreción de insulina. Además, el suplemento de propóleo indujo una mejora del depósito de calcio en los órganos diana sin afectar al resto de los minerales, lo que en conjunto mejoró la composición corporal al inducir una reducción del peso y del tejido adiposo visceral, mejorando la masa magra.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Spelta F, Fratta Pasini AM, Cazzoletti L, Ferrari M. Body weight and mortality in COPD: focus on the obesity paradox. *Eat Weight Disord* 2018;23:15-22. DOI: 10.1007/s40519-017-0456-z

2. Lavoie F, Frisch F, Brassard P, Normand-Lauzière F, Cyr D, Gagnon R, et al. Relationship between total and high molecular weight adiponectin levels and plasma nonesterified fatty acid tolerance during enhanced intravascular triacylglycerol lipolysis in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:998-1004. DOI: 10.1210/jc.2008-1021
3. Lind L, Lithell H, Hvarfner A, Pollare T, Ljunghall S. On the relationships between mineral metabolism, obesity and fat distribution. *Eur J Clin Invest* 1993;23:307-10. DOI: 10.1111/j.1365-2362.1993.tb00779.x
4. Huang S, Zhang CP, Wang K, Li GQ, Hu FL. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* 2014;19:19610-32. DOI: 10.3390/molecules191219610
5. Zabaoui N, Fouache A, Trousson A, Baron S, Zelligui A, Lahouel M, et al. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chem Phys Lipids* 2017;207:214-22. DOI: 10.1016/j.chemphyslip.2017.04.005
6. Kitamura H. Effects of Propolis Extract and Propolis-Derived Compounds on Obesity and Diabetes: Knowledge from Cellular and Animal Models. *Molecules* 2019;24:E4394. DOI: 10.3390/molecules24234394
7. Naaz A, Yellayi S, Zakroczymski MA, Bunick D, Doerge DR, Lubahn DB, et al. The soy isoflavone genistein decreases adipose deposition in mice. *Endocrinology* 2003;144:3315-20. DOI: 10.1210/en.2003-0076
8. Takahashi Y, Ide T. Effects of soy protein and isoflavone on hepatic fatty acid synthesis and oxidation and mRNA expression of uncoupling proteins and peroxisome proliferator-activated receptor gamma in adipose tissues of rats. *J Nutr Biochem* 2008;19:682-9. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2007.09.003
9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition and Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939-51. DOI: 10.1093/jn/123.11.1939
10. Poher AL, Tschöp MH, Müller TD. Ghrelin regulation of glucose metabolism. *Peptides* 2018;100:236-42. DOI: 10.1016/j.peptides.2017.12.015
11. Raff H, Bruder ED, Jankowski BM, Colman RJ. Effect of neonatal hypoxia on leptin, insulin, growth hormone and body composition in the rat. *Horm Metab Res* 2001;33:151-5. DOI: 10.1055/s-2001-14929
12. Salmerón C, Johansson M, Asaad M, Angotzi AR, Rønnestad I, Stefansson SO, et al. Roles of leptin and ghrelin in adipogenesis and lipid metabolism of rainbow trout adipocytes in vitro. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2015;188:40-8. DOI: 10.1016/j.cbpa.2015.06.017
13. Reimer MK, Pacini G, Ahren B. Dose-dependent inhibition by ghrelin of insulin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2003;144:916-21. DOI: 10.1210/en.2002-220819
14. Tong J, Prigeon RL, Davis HW, Bidlingmaier M, Kahn SE, Cummings DE. Ghrelin suppresses glucose-stimulated insulin secretion and deteriorates glucose tolerance in healthy humans. *Diabetes* 2010;59:2145-51. DOI: 10.2337/db10-0504
15. Sun Y, Asnicar M, Saha PK, Chan L, Smith RG. Ablation of ghrelin improves the diabetic but not obese phenotype of ob/ob mice. *Cell Metab* 2006;3:379-86. DOI: 10.1016/j.cmet.2006.04.004
16. Wiedemann T, Bielohuby M, Muller TD, Bidlingmaier M, Pellegata NS. Obesity in MENX rats is accompanied by high circulating levels of ghrelin and improved insulin sensitivity. *Diabetes* 2016;65:406-20. DOI: 10.2337/db15-0374
17. Irako T, Akamizu T, Hosoda H, Iwakura H, Ariyasu H, Tojo K. Ghrelin prevents development of diabetes at adult age in streptozotocin-treated newborn rats. *Diabetologia* 2006;49:1264-73. DOI: 10.1007/s00125-006-0226-3
18. Nna VU, Abu Bakar AB, Md Lazin MRML, Mohamed M. Antioxidant, anti-inflammatory and synergistic anti-hyperglycemic effects of Malaysian propolis and metformin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2018;120:305-20. DOI: 10.1016/j.fct.2018.07.028
19. El Rabey HA, Al-Seeni MN, Bakhashwain AS. The antidiabetic activity of *Nigella sativa* and propolis on streptozotocin-induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. *Evid. Based Complement. Alternat Med* 2017;2017:5439645.
20. Coskun O, Anter M, Korkmaz, A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005;51:117-23. DOI: 10.1016/j.phrs.2004.06.002
21. Umeda M, Hiramoto M, Watanabe A, Tsunoda N, Imai T. Arginine-induced insulin secretion in endoplasmic reticulum. *Biochem Biophys Res Commun* 2015;466:717-22. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.09.006
22. Nie J, Chang Y, Li Y, Zhou Y, Qin J, Sun Z, et al. Caffeic acid phenethyl ester (propolis extract) ameliorates insulin resistance by inhibiting JNK and NF- $\kappa$ B inflammatory pathways in diabetic mice and HepG2 cell models. *J Agric Food Chem* 2017;65:9041-53. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b02880
23. Satyanarayana K, Sravanthi K, Shaker IA, Ponnulakshmi R, Selvaraj J. Role of chrysin on expression of insulin signaling molecules. *J Ayurveda Integr Med* 2015;6:248-58. DOI: 10.4103/0975-9476.157951
24. Liu Y, Liang X, Zhang G, Kong L, Peng W, Zhang H. Galangin and pinocembrin from propolis ameliorate insulin resistance in HepG2 cells via regulating Akt/mTOR signaling. *Evid Based Complement Alternat Med* 2018;2018:7971842. DOI: 10.1155/2018/7971842
25. Koya-Miyata S, Arai N, Mizote A, Taniguchi Y, Ushio S, Iwaki K, et al. Propolis prevents diet-induced hyperlipidemia and mitigates weight gain in diet-induced obesity in mice. *Biol Pharm Bull* 2009;32:2022-8. DOI: 10.1248/bpb.32.2022
26. Kitamura H, Naoe Y, Kimura S, Miyamoto T, Okamoto S, Toda C, et al. Beneficial effects of Brazilian propolis on type 2 diabetes in ob/ob mice: Possible involvement of immune cells in mesenteric adipose tissue. *Adipocyte* 2013;2:227-36. DOI: 10.4161/adip.25608
27. Sakai T, Ohhata M, Fujii M, Oda S, Kusaka Y, Matsumoto M, et al. Brazilian Green Propolis Promotes Weight Loss and Reduces Fat Accumulation in C57BL/6 Mice Fed A High-Fat Diet. *Biol Pharm Bull* 2017;40:391-5. DOI: 10.1248/bpb.b16-00577
28. Son MJ, Rico CW, Nam SH, Kang MY. Effect of oryzanol and ferulic acid on the glucose metabolism of mice fed with a high-fat diet. *J Food Sci* 2011;76:H7-10. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2010.01907.x
29. Totani N, Tateishi S, Takimoto T, Shinohara R, Sasaki H. Ferulic acid esters and weight-loss promoting effects in rats. *J Oleo Sci* 2012;61:331-6. DOI: 10.5650/jos.61.331
30. Luo C, Yang H, Tang C, Yao G, Kong L, He H, et al. Kaempferol alleviates insulin resistance via hepatic IKK/NF- $\kappa$ B signal I type 2 diabetic rats. *Int Immunopharmacol* 2015;28:744-50. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.07.018
31. Xie W, Zhang S, Lei F, Quyang X, Du L. Ananas comosus L. leaf phenols and p-coumaric acid regulate liver fat metabolism by upregulation CPT-1 expression. *Evid based Compl Alt Med* 2015;2015:903258.
32. Haro A, López-Aliaga I, Lisbona F, Barrionuevo M, Alférez MJ, Campos MS. Beneficial effect of pollen and/or propolis on the metabolism of iron, calcium, phosphorus, and magnesium in rats with nutritional ferropenic anemia. *J Agric Food Chem* 2000;48:5715-22. DOI: 10.1021/jf000635h
33. Claycombe KJ, Wang Y, Jones BH, Kim S, Wilkison WO, Zemel MB, et al. Transcriptional regulation of the adipocyte fatty acid synthase gene by the agouti gene product: interaction with insulin. *Physiol Genomics* 2000;3:157-62. DOI: 10.1152/physiolgenomics.2000.3.3.157
34. Xue B, Greenberg A, Kraemer F, Zemel M. Mechanism of intracellular calcium inhibition of lipolysis in human adipocytes. *FASEB J* 2001;15:2527-9. DOI: 10.1096/fj.01-0278fje
35. Papakonstantinou E, Flatt W, Huth P, Harris R. High dietary calcium reduces body fat content, digestibility of fat and serum vitamin D in rats. *Obes Res* 2003;11:387-94. DOI: 10.1038/oby.2003.52
36. Gomes J M, Costa JA, Alfenas RC. Could the beneficial effects of dietary calcium on obesity and diabetes control be mediated by changes in intestinal microbiota and integrity? *Br J Nutr* 2015;114:1756-65. DOI: 10.1017/S0007114515003608
37. Gomes JMG, Costa JDA, Alfenas RDC. Dietary calcium from dairy, body composition and glycaemic control in patients with type 2 diabetes pursuing an energy restricted diet: A parallel group randomised clinical trial. *Int Dairy J* 2017;73:50-6. DOI: 10.1016/j.idairyj.2017.05.001
38. Zhang F, Ye J, Meng Y, Ai W, Su H, Zheng J, et al. Calcium Supplementation Enhanced Adipogenesis and Improved Glucose Homeostasis Through Activation of Camkii and PI3K/Akt Signaling Pathway in Porcine Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells(pBMSCs) and Mice Fed High Fat Diet (HFD). *Cell Physiol Biochem* 2018;51:154-72. DOI: 10.1159/000495171