Marcelo Augusto Duarte Silveira

Efeitos da própolis verde brasileira sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica: um estudo clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Nefrologia

Orientadora: Profa. Dra Lúcia da Conceição Andrade

São Paulo
2019

Marcelo Augusto Duarte Silveira

Efeitos da própolis verde brasileira sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica: um estudo clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Programa de Nefrologia

Orientadora: Profa. Dra Lúcia da Conceição Andrade

São Paulo
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Silveira, Marcelo Augusto Duarte

Efeitos da própolis verde brasileira sobre a
proteínúria e função renal em pacientes com doença
renal crônica : um estudo clínico randomizado, duplo-
cego, placebo-controlado / Marcelo Augusto Duarte
Silveira. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Nefrologia.

Orientadora: Lúcia da Conceição Andrade.

Descritores: 1.Insuficiência renal crônica
2.Própolis 3.Proteínúria 4.Inflamação 5.Estresse
oxidativo

USP/FM/DBD-084/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

À minha mãe Sandra, pelo Amor, dedicação, companheirismo e por me mostrar desde sempre os princípios e valores do estudo, nunca me deixando esquecer o Amor de Deus em minha vida.

A meu pai Braz, pelo Amor, exemplo de serenidade, pela dedicação ao longo de toda minha vida.

Aos meus irmãos Maciel e Rafaella, amor e crescimento juntos em todas as fases.

À Renata, meu amor, pela paciência e companheirismo em cada momento, me entendendo e apoiando sempre. Aos seus Pais por me acolherem como um filho.

À minha orientadora Profa Dra Lúcia Andrade, pela confiança, amizade, companheirismo, exemplo e apoio incondicional, essenciais para a concretização de um sonho.

Aos mestres e amigos, pelas lições de vida.

AGRADECIMENTOS

Essa tese de doutorado é a realização de um sonho, resultado de dedicação e da contribuição de muitos esforços, pois nada seria possível se não fosse pela colaboração de grandes pessoas. Com muito entusiasmo e um coração cheio de gratidão e amor, agradeço:

À minha orientadora, **Profa Dra Lúcia da Conceição Andrade**, pelas inúmeras lições do dia a dia, ensinamentos que levarei para o resto da minha vida. És um exemplo de ética, dedicação e amor às artes da medicina e da pesquisa. Obrigado por confiar sempre na ciência e pela oportunidade para que os estudos sobre a própolis avançassem como um todo. Sob seu apoio e ensinamentos o ambulatório de tubulopatias se tornou uma grande lição para mim. Obrigado por ser mais que uma orientadora, mas uma amiga mãe, me acolhendo como um filho; sob seus ensinamentos cresci como pessoa, profissional e pude iniciar minha vida acadêmica.

Ao **Prof Antônio Carlos Seguro**, pela grande amizade, companheirismo, conselhos e exemplo de vida. Grande médico e pesquisador, uma pessoa de rara sabedoria, sempre disposto a ajudar. Seu entusiasmo com as pesquisas e a retidão ao tratar de vidas são espelhos para o meu crescimento profissional. Agradeço por cada lição. Obrigado por toda confiança.

À **Dra Camila Eleutério**, por todo apoio, confiança, pelos conselhos e amizade desde a época da residência. É um grande exemplo de dedicação em tudo que sempre se propõe a executar. Uma pessoa muito especial. Aprendo muito com você.

Ao **Dr José Manuel Condor Capcha**, o peruano mais internacional que conheço. Tornou-se um grande amigo que vou levar para o resto da vida. Grande pesquisador. Possui um coração imenso que contagia a todos. Obrigado pelo apoio incondicional nos momentos de dificuldade. Ensinou-me muito e foi essencial para meu crescimento. Obrigado, Mano.

Ao **Prof Dr André Falcão**, meu grande amigo e conselheiro para todos os momentos e situações. Os primeiros passos que dei na medicina foram sob seus ensinamentos. Foi meu primeiro orientador em pesquisa na graduação. O amor que tens à pesquisa me incentivou e foi um farol para minha escolha pela nefrologia.

Ao **Prof Dr Flávio Teles**, um querido amigo e grande exemplo profissional. Desde a época da faculdade foi um grande mestre e, junto com o Prof André Falcão, foram minhas inspirações para seguir na nefrologia. Não bastasse a Uncisal, Santa Marcelina e HCFMUSP, a própolis foi mais uma grande coincidência em nossas vidas. Obrigado pela parceria e confiança.

Aos **Dr Roberto Moreira Souza, Dr Pedro Gois, Dra Talita Sanches, Dra Maria Heloisa Shimizu, Ms Leticia Urbano, Ms Daniela Ferreira, Ms Fernanda Zambom**, pela amizade, pelo apoio, são exemplos de dedicação à pesquisa que levarei para sempre. Obrigado pela oportunidade de trabalharmos juntos.

Aos funcionários do LIM-12 **Nivaldo, Eloá, Mirela e Denise**, se tornaram amigos queridos, me apoiaram e acolheram desde o início como alguém da família. Foram essenciais em todo suporte administrativo e logístico. Obrigado por tudo, vivemos momentos muito especiais.

Às **Professoras Dra Samirah Abreu, Dra Irene Noronha, Dra Claudia Helou, Dra Vanda Jorgetti**, pela amizade, apoio e confiança. São exemplos de dedicação e força que levarei para sempre na minha vida. Grandes incentivadoras da ciência e pesquisa. Obrigado pela parceria e que ela se estenda para sempre.

À **Dra Andresa Berretta** e a todos que fazem parte da **Apis Flora**, num despretensioso telefonema à empresa conversei com uma pessoa especial que se tornou uma amiga e parceira nesse sonho; costumo dizer que nada com a própolis foi por acaso. Vocês deram o suporte essencial para que fosse possível desenhar esse estudo clínico. São essenciais para desenvolvimento de pesquisas com qualidade envolvendo a própolis. Sou muito grato. Que nossa parceria continue sempre.

Aos **Professores Dr Hugo Abensur, Dr Roberto Zatz, Dra Rosilene Elias, Dr Bruno Caldin, Dra Andrea Pio, Dr Benedito, Dr Giovanio, Dr Luciano Drager, Dr Flávio Jota**, pela amizade, confiança e apoio.

Aos **Amigos e Funcionários do HCFMUSP e da Nefrologia HCFMUSP**, vocês fazem parte de todo o processo de crescimento, foram essenciais em diversas etapas desta jornada.

Ao **Colégio Sacramentinas** em Senhor do Bonfim-BA, onde literalmente dei os primeiros passos na vida, lugar especial onde aprendi a enxergar o mundo, uma casa onde fiz grandes amigos que levo com muito carinho comigo. Estão sempre torcendo por mim.

Aos queridos amigos que a vida me ofereceu **Felipe Barufaldi, Afrânio Quirino, Arthur, Ivan, Túlio Brasileiro, Lucicleide, Igor Pacheco, Daniel Monte, Luiz Rafael, Allyson Araújo, Mércio Lopes, Eduardo Maiko, Ademar Júnior**, pela amizade, conversas, apoio e torcida em todos os momentos.

À **Uncisal (Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas)**, minha *alma mater*, onde pude aprender a arte da medicina, foram inúmeras lições. Período precioso em minha vida, fiz amigos especiais para quem também dedico esta vitória.

À **Universidade de São Paulo**, exemplo de excelência acadêmica no mundo. Sou muito grato e me sinto bastante orgulhoso de me formar como doutor e pertencer à sua comunidade.

E a todos aqueles que por ventura não foram mencionados aqui, mas que contribuíram para esta realização, muitíssimo obrigado.

EPIÍGRAFE

A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro.

Albert Einstein (1879-1955)

Sumário

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Doença Renal Crônica	16
1.2. Proteinúria e DRC	17
1.3. Própolis	18
1.4. DRC e Inflamação	19
1.5. DRC e Estresse Oxidativo	21
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivo geral	22
2.2. Desfecho Primário	22
2.3. Desfechos Secundários	23
3. MÉTODOS	23
3.1. Tipo de Estudo	23
3.2. Tempo de Acompanhamento	23
3.3. Desenho do Estudo	23
3.4. Visão Geral do Estudo	24
3.5. Critérios de Inclusão e Exclusão	25
3.5.1. Critérios de Inclusão	25
3.5.2. Critérios de Exclusão	26
3.6. Caracterização do Extrato de Própolis	28
3.7. Tratamento	29
3.8. Mensurações	29
3.9. Avaliações Laboratoriais	30
3.10. Cálculo do tamanho da amostra	30

3.11. Análise Estatística.....	30
4. RESULTADOS	31
4.1. População Estudada.....	31
4.2. Desfecho Primário	32
4.3. Desfechos Secundários	33
5. DISCUSSÃO.....	38
6. CONCLUSÕES.....	40
7. REFERÊNCIAS	41
8. ANEXOS.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
≤	Menor ou igual a
≥	Maior ou igual a
All	Angiotensina 2
BRA	Bloqueador do receptor de Angiotensina 2 do tipo 1
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DRC	Doença Renal Crônica
DRCEF	Doença Renal Crônica estágio final
EO	Estresse Oxidativo
EP	Extrato de Própolis
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
IECA	Inibidor da Enzima Conversora da Angiotensina
IC	Intervalo de Confiança
LC	Laboratório Central
MCP-1	do inglês, <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
RFG	Ritmo de Filtração Glomerular
SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UACR	do inglês, <i>urine albumin-to-creatinine ratio</i>
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processos de coleta de resina e formação da Própolis verde pelas abelhas...	19
Figura 2 – Papeis do Estresse Oxidativo e Inflamação na DRC.....	22
Figura 3 – Diagrama de Fluxo com visão geral do estudo.....	25
Figura 4 – Caracterização química por cromatografia líquida de alta performance (HPLC).....	28
Figura 5 – Mudanças na Proteinúria (mg/dia) durante o acompanhamento.....	32
Figura 6 – Mudanças no Ritmo de Filtração Glomerular estimada pela fórmula do MDRD (ml/min/1.73 m ²) durante o acompanhamento.....	33
Figura 7 – Mudanças no marcador <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i> urinário (MCP-1, pg/mg de creatinina urinária) durante o acompanhamento.....	34
Figura 8 – Mudança na taxa de albumina-creatinina urinária (UACR) basal e no mês12 no subgrupo de pacientes com Diabetes de ambos os grupos.....	35
Figura 9 – Mudanças nas Pressões Sistólicas e Diastólicas, em mmHg.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características basais dos pacientes.....	26
Tabela 2 – Dados Bioquímicos de Segurança.....	37

RESUMO

Duarte Silveira, MA. *Efeitos da própolis verde brasileira sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica: um estudo clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

A Doença Renal Crônica (DRC) é um importante problema de saúde pública ao redor do mundo e a proteinúria é um marcador de progressão da doença bem estabelecido. A própolis, uma resina natural produzida por abelhas a partir de resíduos e seivas de diferentes partes de plantas, possui propriedades anti-inflamatória, imunomoduladora, anti-câncer, anti-oxidante, bem como demonstrou ter efeito antiproteinúrico em modelo experimental de DRC. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato de Própolis verde brasileiro na proteinúria e ritmo de filtração glomerular estimada (RFG) em pacientes com DRC.

Este foi um estudo clínico, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo que reuniu pacientes com DRC de etiologias diabética e não-diabética, com idade entre 18 e 90 anos, com RFG estimado entre 25-70 ml/min/1.73 m² e proteinúria (excreção urinária de proteína > 300mg/dia) ou microalbuminúria ou macroalbuminúria (taxa urinária de albumina-creatinina > 30mg/g Cr ou > 300mg/g Cr, respectivamente). Nós pesquisamos 148 pacientes e selecionamos randomicamente 32 para receberem, por 12 meses, extrato de própolis verde brasileiro na dose de 500mg/dia (n=18) ou placebo (n=14).

No final do tratamento, a proteinúria foi significativamente menor no grupo Própolis do que no grupo Placebo—695 mg/24 h (IC de 95%, 483 a 999) x 1403 mg/24 h (IC de 95%, 1031 a 1909); P=0.004—independente de variações no RFG e pressão arterial, os quais não foram diferentes entre os grupos. O subgrupo de pacientes com DRC de etiologia diabética que recebeu Própolis apresentou redução significativa da albuminúria ao final do estudo (de 981 mg/g uCr [IC de 95%, 223 a 1739] para 476 mg/g uCr [IC de 95%, -282 a 1235]; p= 0,031), ao passo que o subgrupo de diabéticos que recebeu Placebo apresentou elevação da albuminúria (de 1261 mg/g uCr [IC de 95%, 569 a 1953] para 1451 mg/g uCr [IC de 95%, 758 a 2143]; p = 0,999). O *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) urinário também foi menor no grupo Própolis do que no grupo Placebo ao final

do tratamento — 58 pg/mg Cr [IC de 95%, 36 a 95] x 98 pg/mg Cr [IC de 95%, 62 a 155]; P=0.038.

O extrato de própolis verde brasileiro foi seguro e bem tolerado, bem como reduziu significativamente a proteinúria em pacientes com DRC de etiologia diabética e não-diabética.

Descritores: Insuficiência renal crônica; Própole; Proteinúria; Inflamação; Estresse oxidativo.

ABSTRACT

Duarte Silveira, MA. *Efeitos da própolis verde brasileira sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica: um estudo clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Chronic kidney disease (CKD) is a public health problem worldwide, and proteinuria is a well-established marker of disease progression. Propolis, a natural resin produced by bees from residues and sap of different parts of plants, has anti-inflammatory, immunomodulatory, anti-cancer, anti-oxidant properties, as well as having been shown to have an antiproteinuric effect in experimental CKD. The aim of this study was to evaluate the effect that Brazilian green propolis extract has on proteinuria and on the estimated glomerular filtration rate (eGFR).

This was a randomized, double-blind, placebo-controlled study including patients with CKD caused by diabetes or non-diabetic etiology, 18-90 years of age, with an eGFR of 25–70 ml/min per 1.73 m² and proteinuria (urinary protein excretion >300 mg/day) or micro- or macro-albuminuria (urinary albumin-to-creatinine ratio >30 mg/g or >300 mg/g, respectively). We screened 148 patients and selected 32, randomly assigning them to receive 12 months of Brazilian green propolis extract at a dose of 500 mg/day (n=18) or 12 months of a placebo (n=14).

At the end of treatment, proteinuria was significantly lower in the propolis group than in the placebo group—695 mg/24 h (95% CI, 483 to 999) vs. 1403 mg/24 h (95% CI, 1031 to 1909); P=0.004—independent of variations in eGFR and blood pressure, which did not differ between the groups during follow-up. The subgroup of patients with CKD of diabetic etiology who received Propolis presented a significant reduction of albuminuria at the end of the study (from 981 mg / g uCr [95% CI, 223 to 1739] to 476 mg / g uCr [95% CI, (P = 0.031), whereas the subgroup of diabetics receiving Placebo presented elevation of albuminuria (from 1261 mg / g uCr [95% CI, 569 to 1953] to 1451 mg / g uCr [CI 95%, 758 to 2143], p = 0.999). Urinary Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) was also significantly lower in the propolis group than in the placebo group — 58 pg/mg creatinine (95% CI, 36 to 95) vs. 98 pg/mg creatinine (95% CI, 62 to 155); P=0.038.

Brazilian green propolis extract was found to be safe and well tolerated, as well as to reduce proteinuria significantly in patients with diabetic and non-diabetic CKD.

Descriptors: Renal insufficiency, Chronic; Propolis; Proteinuria; Inflammation; Oxidative stress.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Doença Renal Crônica

A Doença Renal Crônica (DRC) é definida como uma anormalidade em estrutura ou função renal, presente por mais de 3 meses com implicações na saúde (1). O aumento da fibrose intersticial, vasculopatia, atrofia tubular, glomeruloesclerose e redução da capacidade de regeneração renal são características da DRC (2). A DRC configura um grave problema de saúde pública mundial, que cresce progressivamente e possui diversas etiologias (3-5). A incidência e prevalência são variáveis em cada País, mas estima-se que acometa de 10-16% da população mundial (3). A DRC vem aumentando o número de óbitos e, em 2016, foi responsável por 1,19 milhão de mortes ao redor do mundo sendo, desta forma, a 11^a causa de óbito no ano da avaliação (6).

A DRC não está apenas associada à mortalidade, mas também a aumento de morbidade e incapacidades ou limitações (7). A associação com outras doenças crônicas como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM) e doenças cardiovasculares (DCV) é frequente (7). Em um estudo observacional transversal nos Estados Unidos, a prevalência de dificuldade autorreferida em atividades da vida diária foi significativamente maior em pacientes com DRC em comparação com aqueles sem, após ajuste de idade e sexo (8).

A detecção de DRC e os fatores de risco para piores desfechos são essenciais para a implementação de tratamentos cada vez mais precoces (9). Nos últimos anos, alguns estudos clínicos têm sido conduzidos para testar o efeito de certas drogas na progressão da DRC (10-14). Desde a primeira demonstração do efeito antiproteinúrico de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) e de bloqueadores de receptores de angiotensina 2 (BRA), outros estudos testando novas medicações vêm buscando alternativas visando reduções de proteinúria e progressão da DRC (13-15).

A progressão para estágio final da DRC tem impacto significativo no aumento de custos para o Sistema de Saúde (3, 5). No Brasil, de acordo com último Censo Brasileiro de Diálise de 2017 da Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), mais de 120 mil pessoas

encontram-se em programas de terapia de substituição renal (TRS) e esses números são sabidamente maiores (16). Assim, a DRC é um problema de saúde pública com carga significativa sobre o sistema de saúde.

1.2. Proteinúria e DRC

A proteinúria é um preditor de evolução para doença renal crônica estágio final (DRCEF) (17). Uma coorte de cuidados de saúde de Estocolmo, Suécia, o “Stockholm CREATinine Measurements” (SCREAM) acompanhou 31.732 participantes por uma mediana de 3 anos e comparou mudanças nas taxas da relação albumina/creatinina urinária (UACR); comparado à UACR estável, um aumento de quatro vezes na UACR foi associado a 3,08 vezes maior e uma diminuição de quatro vezes na UACR foi associada com um risco de 0,34 vezes menor de DRCEF (18).

A DRC proteinúrica comparada com a não-proteinúria apresenta maiores taxas de declínio de RFG (17). Os mecanismos propostos para explicar a proteinúria mediando uma acelerada progressão da DRC são a toxicidade tubulointersticial e podocitária (19,20). Proteinúria induz apoptose em túbulo proximal, o que resulta em acúmulo de proteínas intracelulares (21, 22). Além disso, a nível de ducto coletor, já foi demonstrado que a albuminúria prejudica as junções celulares e induz resposta pró-inflamatória e pró-fibrótica (23, 24). Estudos sugerem ainda que o acúmulo excessivo de proteína em podócitos pode atuar como um dos fatores envolvidos na injúria glomerular progressiva, que permite a diferenciação miofibroblástica das células mesangiais (9). Alguns estudos clínicos em DRC já demonstraram que a redução de albuminúria está associada à redução do risco renal (25, 26).

A presença de proteinúria está relacionada à maior ocorrência de eventos CV fatais e não-fatais independente de função renal e outros fatores de risco (19, 27, 28). A presença de proteinúria e albuminúria são marcadores de doença vascular periférica e, portanto, de lesão endotelial, acelerando o processo aterotrombótico (19, 29, 30). Esse marcador deve ser, portanto, monitorizado e é alvo para o desenvolvimento de medicações que possam atuar de forma positiva na proteção renal e possivelmente cardiovascular.

1.3 Própolis

A própolis é uma substância resinosa derivada de resíduos de diferentes partes de plantas (flores, pólen, brotos, exsudatos de árvores) que são coletados por abelhas e modificada por estes animais dentro da colmeia, através da adição de secreções próprias (45). A composição química pode variar entre as regiões, sendo dependente do tipo de vegetação de que é extraída e da variedade da abelha rainha (46). No Brasil, devido à grande biodiversidade, treze tipos diferentes de Própolis já foram descritos de acordo com propriedades físico-químicas e relacionados à localização geográfica (46). Já foram descritas atividade antimicrobiana, antiinflamatória, antioxidante e anticarcinogênica do produto (47-50).

Nas civilizações antigas há relatos do uso de produtos apícolas (51). Antigos egípcios, gregos e romanos usavam própolis para tratar feridas, lesões cutâneas, úlceras e intervenções cirúrgicas (51). No antigo Egito, a própolis era utilizada como um dos principais ingredientes utilizados para embalsamar cadáveres, além disso, o historiador romano Plínio refere-se à própolis como um medicamento capaz de reduzir o inchaço e aliviar a dor (52). No século XVII, a própolis foi considerada como um medicamento oficial na farmacopeia de Londres (53).

A Própolis utilizada neste trabalho é a Verde: é um extrato que foi purificado e padronizado. A própolis verde é composta por grandes quantidades de compostos fenólicos, como artepilina C, baccharina, beturetol, kaempferide, isosakuranetin, dihidrokaempferide, drupanina, ácido p-cumárico, ácido cafeico, pinobanksin, quercetina, apigenina, pinocembrina, pinobanksin-3-acetato, crisina, galangina, tectocristina, aromadendrina e outros compostos. A principal fonte desses compostos é *Baccharis dracunculifolia*, mais conhecida como “alecrim-do-campo” ou “vassourinha (46,49,54). O processo de coleta da resina e formação da própolis verde é demonstrado na Figura 1.

A racionalidade do sistema de saúde pública, em termos de sustentabilidade e melhor acessibilidade, deve envolver uma contínua busca por melhor conhecimento e desenvolvimento de novas ferramentas que são eficientes e seguras, bem como com

custos reduzidos. Neste sentido, medicamentos naturais tem recentemente ganhado um importante papel no desenvolvimento e descoberta de novas drogas (55, 56).

Figura 1 - Processos de coleta de resina e formação da Própolis verde pelas abelhas. Pode ser observada a ponta do broto de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*) (a), principal fonte para a elaboração da própolis verde brasileira, de onde a abelha recolhe a resina encapsulada na celulose tenra do broto (b) e vai depositando e amassando nas frestas da colméia (c).

1.4 DRC e Inflamação

Não há dúvidas sobre o papel da inflamação como parte da progressão e desfechos relacionados à DRC (31). A ativação do processo inflamatório na DRC é vista como influência de fatores genéticos e epigenéticos, e muitas condições podem estar envolvidas como: estilo de vida, doenças crônicas associadas, drogas (31). O papel da inflamação na patogênese da DRC, bem como em desfechos desfavoráveis, foi reconhecido já em meados dos anos 1980 com a descrição da implicação da Interleucina 1 (IL-1) no aumento das taxas de progressão da DRC e da taxa de mortalidade em pacientes em TRS (32).

Os rins filtram diretamente cerca de 20% do débito cardíaco e está sujeito processos inflamatórios sistêmicos. Inflamação sistêmica contribui com a desregulação da resposta microvascular aos hormônios reguladores (prostaglandinas, endotelinas,

óxido nítrico e outras moléculas) (33). Isso gera maior sofrimento hipóxico, lesão endotelial, ativação do sistema de coagulação, levando a mais inflamação e estresse oxidativo, injúria tubular, perda de néfrons e progressão de doença (33).

Nos últimos anos o papel dos fenômenos inflamatórios vem sendo muito estudado em diversos modelos de DRC (34,35). Em alguns destes modelos já foi demonstrada a participação de células inflamatórias, como linfócitos e macrófagos; e o aumento da expressão renal de citocinas envolvidas no processo inflamatório, como moléculas derivadas da ciclooxigenase (34, 35). Gonçalves e colaboradores demonstraram que ratos submetidos à redução da massa renal de 5/6 (Nx5/6), um dos mais utilizados nos estudos experimentais de DRC, apresentavam uma intensa expressão da ciclooxigenase-2 (COX-2) no interstício, arteríolas e glomérulos, principalmente em áreas de esclerose e inflamação renal (34). Outros autores também observaram que o uso do Micofenolato Mofetil (MMF), um imunossupressor com atividade anti-linfocítica, reduziu a inflamação renal e a progressão da nefropatia, em diversos modelos de DRC (36,37).

Em um estudo recente, Nadkarni e colaboradores demonstraram uma correlação entre marcadores de inflamação, injúria e fibrose na progressão da DRC, testados previamente em outros estudos de doença renal de etiologia diabética e não diabética (9-13). As moléculas analisadas correspondem ao *Monocyte Chemotactic Protein-1* (MCP-1) Interleucina 18 (IL-18); *Kidney Injury Molecule-1* (KIM-1) e um marcador de reparação/fibrose denominado YKL-40 (9). Esse trabalho sugeriu o MCP-1 como um bom preditor de piores desfechos renais, se correlacionando com declínio de RFG (9). O MCP-1 promove o recrutamento de monócitos e sua transformação em macrófagos e eliminado através da urina sinaliza injúria inflamatória renal (9).

1.5 DRC e Estresse Oxidativo

O rim, através do metabolismo aeróbico e da fosforilação oxidativa, promove a produção de energia necessária para o seu bom funcionamento (38). Sob condições normais, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ativa muitas vias de sinalização benéficas, que ajudam a manter a homeostase, mas o excesso de produção é danoso (39). O estresse oxidativo, envolvendo várias ERO e nitrogênio, tem papel importante na fisiopatologia da DRC, como um progressivo dano mitocondrial com limitação da produção energética (38,39).

Distúrbio celular no sistema anti-oxidante acaba por contribuir para a senescência renal, apoptose celular, fibrose renal e redução da capacidade de regeneração de células renais (39). Diversos modelos experimentais de nefropatia demonstram o papel do EO na progressão da DRC. A interligação entre EO e inflamação é capaz de ativar as vias de sinalização intracelulares e os fatores de transcrição pró-inflamatórios que acabam por gerar estímulo para produção de fibrose (40). Na DRC, o EO é mais pronunciado devido ao aumento das ERO e depleção de fatores antioxidantes (41). Já foi demonstrado que ocorre um aumento significativo de NAD(P)H oxidase, a mais importante fonte de ERO, em ratos submetidos à ablação renal de 5/6 (41).

Recentemente foi demonstrado que o uso da Própolis vermelha em modelo agressivo de DRC e hipertensão (modelo de ablação 5/6) protege os rins (42). Este estudo demonstrou que a própolis foi capaz de reduzir a pressão arterial, proteinúria e glomeruloesclerose bem como a redução do EO e inflamação em tecido renal (42). A contribuição do estresse oxidativo e inflamação na fisiopatologia da DRC é demonstrada na Figura 2.

Figura 2 - Papéis do Estresse Oxidativo e Inflamação na DRC. Os mecanismos de inflamação e estresse oxidativo estão interligados e participam da progressão da DRC. Estes mecanismos estão associados à ativação do fator nuclear de transcrição, o NFκ-B, com produção local de citocinas, as quais estão envolvidas em diferentes mecanismos de lesão ao tecido renal. Moléculas como o MCP-1 urinário funcionam como sinalizadores deste processo. A ausência ou deficiência de modulação da inflamação, com perpetuação do processo, gera perda de nefrôn timer, ativação de citocinas como o TGF-β e fibrose renal. Adaptado de: Vianna HR, 2011 e Choi BH, 2014 (43,44).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o impacto do extrato de Própolis Verde na proteinúria e função renal em pacientes com DRC proteinúrica.

2.2 Desfecho Primário

Redução da Proteinúria.

2.3 Desfechos Secundários

Alterações no Ritmo de Filtração Glomerular;

Alterações em níveis de Pressão Sistólica e Diastólica;

Alterações em níveis de MCP-1 urinário;

Alteração nos níveis de albuminúria (relação urinária albumina/creatinina (UACR) em pacientes portadores de Doença Renal Diabética;

Mudanças nos níveis de hemoglobina glicada (HbA1c);

Segurança da droga: Marcadores de lesões hepática, pancreática e muscular, bem como sintomas/efeitos colaterais relacionados ao uso de Própolis ou Placebo.

3. MÉTODOS

3.1 Tipo de Estudo

Ensaio Clínico, Randomizado, Duplo-Cego, Placebo-Controlado.

3.2 Tempo de Acompanhamento

Os Pacientes fizeram uso de Própolis ou Placebo e foram acompanhados por um período de 12 meses.

3.3 Desenho do Estudo

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios da Declaração de Helsinki e foi inicialmente aprovado no Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo-SP (HCFMUSP) sob número de Registro 54326916.4.0000.0068. Este Estudo foi registrado

também no ClinicalTrials.gov (NCT02766036). Todos os participantes foram devidamente informados e tiveram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) assinado antes do início do estudo.

3.4 Visão Geral do Estudo

De 148 pacientes avaliados, 37 foram elegíveis para serem seguidos por 3 meses (fase *run-in*) para coleta de exames, avaliação de estabilidade de ritmo de filtração glomerular e de nível de proteinúria. O RFG foi determinado pela fórmula *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD) e foi expresso em mililitro por minuto por 1.73 m^2 . Dos 37 pacientes elegíveis, 34 foram randomizados e destes, 2 pacientes perderam acompanhamento, desta forma 32 pacientes receberam Extrato de Própolis (n=18) ou Placebo (n=14) por 12 meses (Figura 3). A randomização foi estratificada pelos fatores: idade, uso de IECA ou BRA, presença de diabetes tipo 2, nível de proteinúria e nível de RFG. O diagrama de fluxo do estudo está demonstrado na Figura 3. A randomização foi feita por médico pesquisador de fora não envolvido nos cuidados e acompanhamento dos pacientes. Os pacientes foram oriundos do Ambulatório de Nefrologia do HCFMUSP. Ao final de 12 meses os dados foram abertos e os pesquisadores tiveram conhecimento dos resultados.

Figura 3. Diagrama de Fluxo com visão geral do Estudo.

3.5 Critérios de Inclusão e Exclusão

3.5.1 Critérios de Inclusão

Foram incluídos: Idade entre 18 e 90 anos; Doença Renal Crônica Diabética ou não-Diabética com RFG entre 25-70 ml/min/1.73m²; Proteinúria de 24h > 300mg/dia ou Microalbuminúria (relação urinária albumina-creatinina entre 30-300mg/g uCr) ou Macroalbuminúria (relação urinária albumina-creatinina entre 30-300mg/g uCr).

3.5.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos: Gestantes; Transplantados renais; Portadores de Neoplasia; Glomerulopatia em uso de imunossupressão.

Tabela 1. Características basais dos pacientes.

Tabela 1. Características basais dos pacientes com doença renal crônica que receberam Própolis Verde brasileiro ou Placebo			
Característica	Placebo, <i>n</i> =14	Própolis, <i>n</i> =18	<i>P</i>
Idade (ano), média±DP	61.5±10.77	61.39±10.47	0.97
Homem, <i>n</i> (%)	7 (50.0)	11 (61.1)	0.72
Etnia, <i>n</i> (%)			0.84
Branco	6 (42.9)	6 (33.3)	
Negro	5 (35.7)	7 (38.9)	
Pardo	3 (21.4)	5 (27.8)	
Causa da DRC, <i>n</i> (%)			
Diabetes	5 (35.7)	6 (33.3)	0.99
Hipertensão	5 (35.7)	10 (66.6)	0.30
Glomerulopatia	2 (14.3)	0 (0)	0.18
Outras	2 (14.3)	2 (11.1)	0.99
IMC (kg/m²), média±DP	27.29±6.72	30.58±6.42	0.17
Pressão arterial (mmHg), média±DP			
Sistólica	138.4±18.11	142.2±25.42	0.61
Diastólica	80.29±10.5	85.33±17.49	0.32
Creatinina (mg/dl), média±DP	1.89±0.54	1.81±0.47	0.69
^a RFG_e (ml/min por 1.73m²), média±DP	34.93±14.88	36.89±11.5	0.68
Proteinúria (mg/dia), média (IC 95%)	1097 (806 to 1493)	960 (677 to 1361)	0.57

Continuação Tabela 1.

	Placebo, <i>n</i> =14	Própolis, <i>n</i> =18	<i>P</i>
UACR (mg/g uCr), média±DP			
Todos os pacientes	1016.0±740.6	870.3±1010	0.50
Pacientes com diabetes ^b	1261.0±1213.0	981.0±709.8	0.66
HbA1c (%), média±DP			
Todos os pacientes	6.57±1.72	6.24±1.21	0.54
Pacientes com diabetes ^b	8.14±0.89	7.36 ±1.31	0.27
25(OH)D (ng/ml), média±DP	26.29±6.81	30.3±10.82	0.20
Ácido Úrico sérico (mg/dl), média±DP	7.27±0.66	6.67±1.11	0.06
HDL (mg/dl), média±DP	51.79±13.97	51.17±12.84	0.89
MCP-1 urinário (pg/mg uCr), média±DP	78.47±89.99	94.84±79.01	0.62
Classe de Anti-Hipertensivo, <i>n</i> (%)			
IECA ou BRA	11 (78.6)	12 (66.7)	0.69
Beta Bloqueador	8 (57.1)	12 (66.7)	0.71
Bloqueador de Canal de Cálcio	6 (42.9)	9 (50.0)	0.73
Diurético	8 (57.1)	10 (55.6)	0.99
Outros	6 (42.9)	7 (38.9)	0.99
Estatina, <i>n</i> (%)	11 (78.6)	15 (83.3)	0.99
Alopurinol, <i>n</i> (%)	9 (64.3)	11 (61.1)	0.99

IMC, índice de massa corpórea; RFGe, ritmo de filtração glomerular estimada; uCr, creatinina urinária; UACR, taxa de albumina-creatinina urinários; DRC, Doença renal crônica; HbA1c, hemoglobina glicada; HDL, lipoproteína de alta densidade; 25(OH)D, 25-OH-Vitamina D; MCP-1, *Monocyte Chemoattractant Protein-1*; IECA, inibidor da enzima conversora de angiotensina; BRA, bloqueador do receptor de angiotensina 2.

^aEstimado de acordo com a fórmula de MDRD (Modification of Diet in Renal Disease).

^b*n*=6 no grupo Própolis e *n*=5 no grupo Placebo.

3.6 Caracterização do Extrato de Própolis

Embora não haja garantia de que os produtos naturais sejam idênticos de lote para lote, um extrato padronizado de própolis verde foi proposto e tem se mostrado reprodutível, com base em um conjunto de marcadores químicos e atividade antimicrobiana (57). Esse extrato (EPP-AF; Apis Flora Ind. Com. Ltda., Ribeirão Preto, Brasil), composto principalmente pela própolis verde encontrada no sudeste do Brasil, foi selecionado para uso no presente estudo.

Para caracterizar o extrato, utilizou-se cromatografia líquida de alta eficiência, com detector de arranjo de diodos, conforme descrito anteriormente por Berretta e colaboradores (57) e representado na Figura 4. Para garantir a uniformidade, todos os comprimidos de própolis administrados eram do mesmo lote (nº 190000116, produzido em dezembro de 2016). A dose diária de própolis forneceu 35,5 mg de flavonóides totais (expressos como equivalentes de quercetina) e 77,96 mg de compostos fenólicos totais (expressos em equivalente de ácido gálico).

Figura 4. Caracterização química por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O extrato de Própolis verde utilizado neste estudo é padronizado e registrado como EPP-AF.

3.7 Tratamento

Os pacientes do grupo Própolis receberam extrato de própolis EPP-AF na dose de 500 mg/dia (4 comprimidos de 125 mg cada, divididos em 2 doses diárias) durante 12 meses. A dose escolhida de Própolis foi baseada em estudos que utilizaram doses semelhantes sem observar efeitos adversos (58, 59). Os pacientes do grupo placebo receberam um número idêntico de comprimidos contendo 500 mg/dia de Placebo (4 comprimidos de 125 mg cada, divididos em 2 doses diárias) por igual período. A embalagem que abrigava os comprimidos era opaca e tinha um sistema de segurança para impedir a abertura indevida. Todos os comprimidos eram revestidos e tinham as mesmas características organolépticas, de modo que os pesquisadores envolvidos no cuidado dos pacientes não conseguiam distinguir entre a própolis e o placebo. Os pacientes receberam tratamento padrão para o controle de suas comorbidades. As dosagens iniciais dos IECA ou BRA foram mantidas durante todo o estudo. Para ajuste da pressão arterial outras classes de drogas anti-hipertensivas foram usadas.

3.8 Mensurações

Os pacientes foram avaliados a cada 2 meses nos primeiros 6 meses e a cada 3 meses nos 6 meses seguintes. A adesão medicamentosa foi avaliada indiretamente, através de entrevistas e diretamente através de contagens de comprimidos. Para os hipertensos, foi realizada a monitorização domiciliar da pressão arterial (MRPA). Em cada consulta médica os parâmetros antropométricos (peso, altura e circunferência abdominal) foram medidos. Antes de cada consulta obtivemos três medidas de pressão arterial com intervalo de dois minutos entre cada medida, utilizando esfigmomanômetro de mercúrio e manguito de tamanho adequado, em ambiente calmo e silencioso, sem o médico presente. A média das três medidas foi utilizada para análise.

3.9 Avaliações Laboratoriais

Todos os exames bioquímicos foram analisados no Laboratório Central do HCFMUSP, laboratório certificado que segue padrões internacionais. A concentração de albumina urinária foi determinada por imunoturbidimetria. As amostras de urina de 24 horas foram coletadas pelos pacientes, que foram instruídos no procedimento adequado pela equipe médica e laboratorial. Cada amostra foi recolhida numa garrafa padrão e apropriada, de material plástico, sem conservantes.

No início (*baseline*) e no mês 12, amostras simples de urina também foram coletadas para análise de MCP-1. Essas amostras foram imediatamente colocadas em gelo, centrifugadas a 0 ° C e armazenadas a - 80 ° C. O MCP-1 urinário foi dosado por ensaio imunoenzimático (Human CCL2 / MCP-1 Quantikine ELISA Kit; R & D Systems, Minneapolis, MN, EUA) e posteriormente normalizado pela creatinina urinária da respectiva amostra. Os resultados obtidos foram expressos em pg/mg de uCr. Os outros exames foram medidos com técnicas laboratoriais convencionais.

3.10 Cálculo do tamanho da amostra

Para calcular o tamanho da amostra consideramos um efeito para diferenças em relação a um nível médio de proteinúria de 12 meses de 500 mg/dia e assumimos um desvio padrão de aproximadamente 460 mg/dia (60). Assim, determinamos que uma amostra de 18 pacientes por grupo (N = 36), a um nível de significância de 5%, teria um poder de 90%.

3.11 Análise Estatística

As variáveis contínuas foram expressas como média e desvio padrão (DP) ou como média e intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Variáveis categóricas são expressas como frequências absolutas e relativas. Usamos análises de intenção de tratar (*intention to treat*) para os desfechos primários e secundários. Cada variável foi avaliada

por meio de modelos de regressão linear mista, considerando efeitos aleatórios de interceptação para o indivíduo e efeitos fixos de tempo, grupo e interação entre os dois.

Para as variáveis proteinúria, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, bilirrubina total, creatinofosfoquinase e MCP-1, a suposição de distribuição normal não foi satisfeita e, portanto, ajustadas em modelos lineares generalizados de efeito misto considerando a distribuição gama para o dependente variável. Nos subgrupos de pacientes diabéticos avaliamos a albuminúria com o teste dos postos sinalizados de Wilcoxon. As análises foram realizadas com o programa R, versão 3.4.1 (R Core Team, 2017). Para todos os testes, o nível de significância foi estabelecido em 5%.

4. RESULTADOS

4.1 População Estudada

As características basais demográficas, clínicas e bioquímicas foram semelhantes entre os grupos própolis e placebo (Tabela 1). Inicialmente, rastreamos 148 pacientes e identificamos 37 que eram elegíveis para participar da fase inicial de 3 meses (*fase pré-tratamento*), durante a qual três pacientes foram excluídos (um morreu de causas desconhecidas e dois se recusaram a participar). Aos 9 meses do período de estudo de um ano, um paciente do grupo placebo morreu de sepse abdominal. Os dados para esse paciente foram incluídos nas análises por intenção de tratar dos desfechos primário e secundário. Dois pacientes no grupo placebo foram perdidos do acompanhamento. O fluxograma é mostrado na Figura 4.

4.2 Desfecho Primário

Não havia diferença entre os dois grupos no início do estudo, grupo Própolis 960 mg/24 h (IC 95%, 677 a 1361) e grupo Placebo 1097 mg/24 h (IC 95%, 807 a 1493); $P = 0,57$. No final do estudo a proteinúria foi significativamente menor no Grupo Própolis do que no Grupo Placebo: 695 mg/24 h (IC 95%, 483 a 999) vs. 1403 mg/24 h (IC 95%, 1031 a 1909) respectivamente; $P = 0,004$; como pode ser visto na Figura 5.

A diferença entre os dois grupos, em termos do nível médio de proteinúria, ficou evidente no mês 2 e tornou-se significativa a partir do sexto mês.

Figura 5: Mudanças na Proteinúria (mg/dia) durante o acompanhamento. Os valores são apresentados como Média e Intervalo de Confiança (IC) de 95% em cada período de tempo de acordo com modelo de regressão linear de efeito misto.

* $P=0.023$ vs. Placebo; † $P=0.006$ vs. Placebo; ‡ $P=0.004$ vs. Placebo.

4.3 Desfechos Secundários

No final do seguimento (mês 12), não houve diferença estatística entre os Grupos Própolis e Placebo em termos de RFG - 37 ml/min por $1,73 \text{ m}^2$ (IC 95%, 30 a 44) vs. 33 ml/min por $1,73 \text{ m}^2$ (IC 95%, 27 a 39) respectivamente; $P = 0,40$; como mostrado na Figura 6.

Figura 6. Mudanças no Ritmo de Filtração Glomerular estimada pela fórmula do MDRD (ml/min/1.73 m^2) durante o acompanhamento. Os valores são apresentados em Média e IC de 95% em cada período. * $P=0.40$ x Placebo

Houve diferença nos níveis de MCP-1 urinário durante o acompanhamento. Inicialmente, o nível médio de MCP-1 urinário do grupo que recebeu Própolis foi de 81 pg/mg uCr (IC de 95%, 48 a 136) e reduziu para 58 pg/mg uCr (IC de 95%, 36 a 95) no mês 12. No grupo que recebeu o Placebo o MCP-1 urinário inicial era de 63 pg/mg uCr (IC de 95%, 41 a 96) e ascendeu para 98 pg/mg uCr (IC 95%, 62 a 155). Houve diferença significativa entre os grupos ao final do estudo ($p= 0,038$), como pode se observar na Figura 7.

Figura 7. Mudanças no marcador *Monocyte Chemoattractant Protein-1* urinário (MCP-1, pg/mg de creatinina urinária) durante o acompanhamento. Os valores são apresentados em Média e IC de 95% em cada período. * $P=0.038$ vs. Placebo.

Dentro do subgrupo de pacientes com DRC de etiologia diabética, aqueles que receberam Própolis mostraram uma redução significativa na média de UACR (Figura 8), de 981 mg/g uCr (95% CI, 223 para 1739) no início para 476 mg/g uCr (95% CI, -282 a 1235) no mês 12 ($P = 0.031$), enquanto a média da UACR aumentou entre aqueles que receberam o Placebo, de 1261 mg/g uCr (95% CI, 569 a 1953) no início do estudo para 1451 mg/g de uCr (95% CI, 758 a 2143) no mês 12 ($P = 0,999$). No entanto, no mês 12, a diferença entre aqueles que receberam Própolis e aqueles que receberam o Placebo não foi significativa ($P = 0,259$).

Figura 8. Mudança na taxa de albumina-creatinina urinária (UACR) basal e no mês 12 no subgrupo de pacientes com Diabetes de ambos os grupos. Própolis (n=6) e Placebo (n=5). Os valores são representados em média e IC de 95% em cada período. Grupo Placebo, $p=0,999$; Grupo Própolis, $p=0,031$.

As médias das pressões arteriais sistólica (PAS) e diastólica (PAD) mantiveram-se estáveis durante todo o período de acompanhamento, sem diferenças estatísticas entre os grupos (Figura 9). No mês 12, a média da PAS nos Grupos Própolis e Placebo foi de 135 mmHg (95% IC, 125 a 145) e 135 mmHg (95% CI, 126 a 144), respectivamente ($P=0,93$), comparado com 81 mmHg (95% CI, 74 a 89) e 73 mmHg (95% CI, 66 a 79), respectivamente, para a PAD média ($P=0,089$).

Figura 9. Mudanças nas Pressões Sistólicas e Diastólicas, em mmHg. Os valores são representados em média e IC de 95% em cada período.

* $P=0.93$ x Placebo; # $P= 0.089$ x Placebo.

A hemoglobina glicada (HbA1c) não diferiu entre os grupos durante o seguimento. Aos 12 meses, a média de HbA1c nos Grupos Própolis e Placebo foi de 6,35% (IC 95%, 5,59 a 7,12) e 7,32% (IC 95%, 5,80 a 8,87), respectivamente ($P = 0,20$). Entre os pacientes com diabetes tipo 2, ao final do estudo, as médias dos Grupos Própolis e Placebo apresentaram HbA1c média de 7,38% (IC95%, 5,50 a 9,25) e 8,13% (IC 95%, 6,87 a 9,25). 9,41), respectivamente ($P = 0,14$).

Os marcadores de dano hepático e muscular não se alteraram significativamente durante os 12 meses de tratamento (Tabela 2). A diferença entre o Grupo Própolis e o Grupo Placebo, em termos do nível médio de amilase, um marcador de lesão pancreática - 94,3 U / L (95% CI, -45,3 a 234,5) vs. 105,7 U / L (IC 95%), 100,5 a 110,8) - não foi significativa ($P = 0,76$). Dado o intervalo de referência para a amilase (28–100 U / L), esse

achado demonstra a segurança da própolis na dose administrada. Nenhum dos participantes relatou quaisquer efeitos adversos ou reações alérgicas durante o tratamento.

Tabela 2. Dados Bioquímicos de Segurança^a

Variável	Placebo, <i>n</i> =14			Própolis, <i>n</i> =18			p ^b
	Tempo			Tempo			
	Basal	6 meses	12 meses	Basal	6 meses	12 meses	
AST (U/L)^c	25.2±11.6	27±16.3	36±28	18.3±4.3	19.3±5.8	18.9±6.7	0.34
ALT (U/L)^d	25±9.2	25.2±14.7	41.4±28.3	17.3±6.2	16.4±5.3	17.5±7.3	0.02
BT (mg/dl)^e	0.7±0.4	0.7±0.4	0.6±0.3	0.5±0.3	0.4±0.2	0.4±0.2	0.62
CK (U/L)^f	126.8±64.1	124.2±64.3	108.1±54.6	145.2±83.5	140.9±95.5	145.5±100.9	0.16

AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; CK, (plasma) creatinofosfoquinase; BT, bilirrubina total.

^aDados expressos como Média±DP.

^bBasal x 12 meses.

^cValores de referência: ≤41 U/L para homens e ≤31 U/L para mulheres.

^dValores de referência: ≤64 U/L para homens e ≤23 U/L para mulheres.

^eValores de referência: 0.2–1.0 mg/dl.

^fValores de referência: ≤190 U/L para homens e ≤167 U/L para mulheres.

5. DISCUSSÃO

No presente estudo, selecionamos pacientes com DRC de diversas etiologias, a maioria com perda moderada da função renal. Observamos uma redução significativa ($\approx 30\%$) na proteinúria dos pacientes tratados durante 12 meses com própolis verde comparados àqueles que receberam placebo. Essa diferença tornou-se significativa a partir do mês 6 e persistiu até o final do tratamento, independentemente da etiologia da DRC.

Mecanismos relacionados ao possível efeito antiproteinúrico da própolis ainda não foram completamente elucidados. Em um estudo experimental envolvendo ratos Nx tratados com a própolis foi observada a melhora da hipertensão e redução da proteinúria, relacionada ao menor estresse oxidativo e infiltração renal de macrófagos reduzida (42). Recentemente foi demonstrado que a crisina, um dos flavonóides presentes na própolis, reduz a apoptose dos podócitos induzida pela exposição a altas concentrações de glicose, além de ter um efeito antiproteinúrico e na redução da lesão glomerular em ratos diabéticos (61). No presente estudo, não observamos diferenças significativas na pressão arterial ou eGFR entre os grupos própolis e placebo. Esses resultados sugerem que o efeito antiproteinúrico da própolis não foi devido a alterações nos parâmetros hemodinâmicos sistêmicos.

Estudos experimentais demonstraram que o uso da própolis pode reduzir a pressão arterial, cujos mecanismos de ação propostos incluem a via do óxido nítrico, a vasodilatação induzida pela acetilcolina e a atividade antioxidante da própria própolis (42, 62-64). Apesar dessas evidências experimentais, não observamos diferença na pressão arterial relacionada à própolis ao longo do estudo. Isso pode ser explicado pelo fato de que os pacientes hipertensos avaliados em nosso estudo estavam em tratamento com medicamentos hipotensores.

Observamos que dentro do subgrupo de pacientes com DRC causada por diabetes, aqueles que receberam própolis mostraram uma redução significativa na albuminúria (ou seja, a média de UACR) ao longo do estudo. Existem algumas evidências de que a própolis tem um efeito hipoglicêmico (61) e, portanto, é digno de nota que a redução aparentemente induzida pela própolis na proteinúria ocorreu independentemente de variações significativas no índice glicêmico durante o tratamento.

Não observamos diferença significativa na creatinina plasmática entre os dois grupos avaliados. No entanto, o período de observação de 12 meses pode ter sido muito curto para avaliar a progressão da DRC através da dosagem de creatinina, cujas limitações são bem conhecidas. No entanto, como os níveis de creatinina permaneceram estáveis durante o período de tratamento, durante os quais houve uma redução na proteinúria, podemos sugerir que o efeito antiproteinúrico da própolis é independente das variações na filtração glomerular. Além disso, como a proteinúria é um marcador reconhecido de lesão glomerular fortemente associada à progressão da doença renal e ao maior risco cardiovascular, sua redução é considerada um fator extremamente positivo na avaliação da eficácia de um medicamento potencialmente renoprotetor.

O MCP-1 promove o recrutamento de monócitos e sua transformação em macrófagos. Sua eliminação pela urina sinaliza agressão inflamatória no tecido renal, e um estudo recente mostrou que os níveis de MCP-1 se correlacionam positivamente com a progressão da DRC (9). Além disso, estudos experimentais mostraram que o uso de um bloqueador do receptor MCP-1 suprime a inflamação, reduz a glomeruloesclerose e o estímulo para a síntese nuclear da MCP-1 está possivelmente associado a vias de estresse oxidativo, o sistema NF- κ B e a proteína quinase C (9, 65-67). Poucos ensaios clínicos utilizaram a MCP-1 urinária na avaliação da proteinúria (68-70). Em nosso estudo, o grupo que recebeu própolis mostrou uma redução do MCP-1 ao final do estudo, o que poderia representar um dos mecanismos da própolis na redução da proteinúria.

Embora a própolis tenha sido usada na medicina popular há centenas de anos, houve relatos esporádicos de fenômenos alérgicos, incluindo uma condição semelhante à nefrite intersticial aguda (71). No presente estudo, não houve queixas de pacientes relacionadas ao uso de própolis, nem observamos anormalidades bioquímicas que indicassem toxicidade. Também deve-se ter em mente que os fenômenos alérgicos são observados mesmo com medicamentos tradicionalmente usados no tratamento de nefropatias, como os inibidores da ECA. A possibilidade de os componentes da própolis interagirem com as isoenzimas do citocromo P450 é considerada baixa (72). Dois pacientes em nosso grupo de própolis estavam usando o anticoagulante varfarina e não exigiram nenhum ajuste na dose ou mostraram mudanças significativas na razão normalizada internacional.

Nosso estudo tem algumas limitações; centro único, envolvendo um período de acompanhamento relativamente curto e uma amostra relativamente pequena. No entanto, essas limitações foram, pelo menos parcialmente, compensadas pelo desenho de estudo randomizado, duplo-cego, a inclusão de pacientes com DRC de diferentes etiologias, e a avaliação de outras variáveis relacionadas à progressão da DRC.

6. CONCLUSÕES

O tratamento com própolis verde brasileira parece ser capaz de reduzir significativamente a proteinúria em pacientes com DRC de etiologias diabética e não-diabética e com disfunção renal moderada.

O efeito antiproteinúrico da própolis parece ser independente das variações da pressão arterial e RFG.

Também observamos uma redução significativa na excreção urinária de MCP-1 após o tratamento com própolis. Esses dados indicam o potencial terapêutico da própolis verde brasileira, abrindo perspectivas para seu uso como coadjuvante natural no tratamento das formas proteinúricas da DRC.

7. REFERÊNCIAS

1. M. Ketteler, G. A. Block, P. Evenepoel et al., “Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what’s changed and why it matters,” *Kidney International*, vol. 92, no. 1, pp. 26–36, 2017.
2. Khwaja, A., El Kossi, M., Floege, J., and El Nahas, M. (2007). The management of CKD: a look into the future. *Kidney Int.* 72, 1316–1323. doi: 10.1038/sj.ki.5002489.
3. Angela C Webster, Evi V Nagler, Rachael L Morton, Philip Masson. Chronic Kidney Disease. *Lancet*. 2017 Mar 25;389(10075):1238-1252.
4. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2013;1-150.
5. Morton RL, Schlackow I, Mihaylova B, Staplin ND, Gray A, Cass A. The impact of social disadvantage in moderate-to-severe chronic kidney disease: an equity-focused systematic review. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 46–56.
6. GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet* 2017; 390: 1151–210.
7. Jack K-C NG, Philip K-T LI. Chronic kidney disease epidemic: How do we deal with it? *Nephrology* 23, Suppl. 4 (2018) 116–120.
8. Plantinga LC, Johansen K, Crews DC et al. Association of CKD with disability in the United States. *Am. J. Kidney Dis.* 2011; 57: 212–27.
9. Nadkarni GN, Rao V, Ismail-Beigi F, Fonseca VA, et.al. Association of urinary biomarkers of inflammation, injury, and fibrosis with renal function decline: The ACCORD trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 11: 1343–1352, 2016.
10. Antlanger M, Bernhofer S, Kovarik JJ, Kopecky C, Kaltenecker CC, Domenig O, Poglitsch M, Säemann MD: Effects of direct renin inhibition versus angiotensin II receptor blockade on angiotensin profiles in non-diabetic chronic kidney disease. *Ann. Med.* [Internet] 49: 525–533, 2017.
11. Uzu T, Araki S, Kashiwagi A, Haneda M, Koya D, Yokoyama H, Kida Y, Ikebuchi M, Nakamura T, Nishimura M, Takahara N, Obata T, Omichi N, Sakamoto K, Shingu R, Taki H, Nagai Y, Tokuda H, Kitada M, Misawa M, Nishiyama A, Kobori H, Maegawa H:

Comparative Effects of Direct Renin Inhibitor and Angiotensin Receptor Blocker on Albuminuria in Hypertensive Patients with Type 2 Diabetes. A Randomized Controlled Trial. PLoS One [Internet] 11: e0164936, 2016.

12. Bakris GL, Agarwal R, Chan JC, Cooper ME, Gansevoort RT, Haller H, Remuzzi G, Rossing P, Schmieder RE, Nowack C, Kolkhof P, Joseph A, Pieper A, Kimmeskamp-Kirschbaum N, Ruilope LM: Effect of finerenone on albuminuria in patients with diabetic nephropathy a randomized clinical trial. JAMA - J. Am. Med. Assoc. 314: 884–894, 2015.

13. Parving H-H, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Hollenberg NK: Aliskiren Combined with Losartan in Type 2 Diabetes and Nephropathy. N. Engl. J. Med. [Internet] 358: 2433–2446, 2008.

14. Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, Keane WF, Mitch WE, Parving H-H, Remuzzi G, Snapinn SM, Zhang Z, Shahinfar S: Effects of Losartan on Renal and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes and Nephropathy. N. Engl. J. Med. [Internet] 345: 861–869, 2001.

15. Kanno Y, Takenaka T, Nakamura T, Suzuki H: Add-on angiotensin receptor blocker in patients who have proteinuric chronic kidney diseases and are treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 1: 730–737, 2006.

16. SBN, SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Censo de Diálise 2017.

17. Usui T, Kanda E, Iseki C, Iseki K4, Kashihara N, Nangaku M. Observation period for changes in proteinuria and risk prediction of end-stage renal disease in general population. Nephrology 23 (2018) 821–829.

18. Carrero JJ, Grams ME, Sang Y et al. Albuminuria changes are associated with subsequent risk of end-stage renal disease and mortality. Kidney Int. 2017;91:244–251.

19. Limori S, Naito S, Noda Y, Sato H, Nomura N, Sohara E, Okado T, Sasaki S, Uchida S, Rai T: Prognosis of chronic kidney disease with normal-range proteinuria: The CKD-ROUTE study. PLoS One 13: 1–13, 2018.

20. Barnes JL, Gorin Y. Myofibroblast differentiation during fibrosis: role of NAD(P)H oxidases. Kidney Int. 2011; 79: 944–956.

21. Tejera N, Gómez-Garre D, Lázaro A et al. Persistent proteinuria up-regulates angiotensin II type 2 receptor and induces apoptosis in proximal tubular cells. Am. J. Pathol. 2004;164: 1817–1826.27.

22. Nolin AC, Mulhern RM, Panchenko MV et al. Proteinuria causes dysfunctional autophagy in the proximal tubule. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2016;311: F1271–F1279.28.

23. Zhuang Y, Hu C, Ding Get al. Albumin impairs renal tubular tight junctions via targeting the NLRP3 inflammasome. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2015;308:F1012–F1019.29.
24. Dizin E, Hasler U, Nlandu-Khodo Set al. Albuminuria induces a proinflammatory and profibrotic response in cortical collecting ducts via the 24p3 receptor. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2013;305:F1053–F106.
25. Atkins RC, Briganti EM, Lewis J Bet al. Proteinuria reduction and progression to renal failure in patients with type 2 diabetes mellitus and overt nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 2005;45:281–287.
26. Lea J, Greene T, Hebert Let al. The relationship between magnitude of proteinuria reduction and risk of end-stage renal disease: results of the African American study of kidney disease and hypertension. *Arch. Intern. Med.* 2005;165: 947–953.
27. Iseki K, Ikemiya Y, Iseki C, Takishita S: Proteinuria and the risk of developing end-stage renal disease. *Kidney Int.* 63: 1468–1474, 2003.
28. Culleton BF, Larson MG, Parfrey PS, Kannel WB, Levy D: Proteinuria as a risk factor for cardiovascular disease and mortality in older people: a prospective study. *Am. J. Med. [Internet]* 109: 1–8, 2000.
29. Stehouwer CD, Smulders YM. Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: Analysis of potential mechanisms. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 2106–2111.
30. Schmieder RE, Mann JF, Schumacher Het al., ONTARGET Investigators. Changes in albuminuria predict mortality and morbidity in patients with vascular disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2011;22:1353–1564.
31. Mihai S, Codrici E, Popescu ID, et. al. Inflammation-Related Mechanisms in Chronic Kidney Disease Prediction, Progression, and Outcome. *J Immunol Res.* 2018 Sep 6; 2018:2180373.
32. L. W. Henderson, K. M. Koch, C. A. Dinarello, and S. Shalton, Hemodialysis hypotension: the interleukin hypothesis, *Blood Purification*, vol. 1, no. 1, pp. 3–8, 1983.
33. Q. Qian. Inflammation: a key contributor to the genesis and progression of chronic kidney disease. *Contributions to Nephrology*, vol. 191, pp. 72–83, 2017.
34. Gonçalves AR, Fujihara CK, Mattar AL, Malheiros DM, Noronha I, De Nucci G, Zatz R. Renal expression of COX-2, ANG II, and AT1 receptor in remnant kidney: Strong

renoprotection by therapy with losartan and a nonsteroidal anti-inflammatory. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004;286:F945-54.

35. Fujihara CK, Antunes GR, Mattar AL, Andreoli N, Malheiros DM, Noronha IL, Zatz R. Cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibition limits abnormal COX-2 expression and progressive injury in remnant kidney. *Kidney Int* 64(6):2172-81, 2003.

36. Romero F, Iturbe BR, Parra G, González L, Acosta JH, Tapia E. Mycophenolate mofetil prevents the progressive renal failure induced by 5/6 renal ablation in rats: *Kidney Int* 55:945-955, 1999.

37. Fujihara CK, Malheiros DMAC, Noronha IL, De Nucci G, Zatz R. Mycophenolate mofetil reduces renal injury in the chronic nitric oxide synthase inhibition model. *Hypertension* 37:170-5, 2001.

38. Granata, S., Zaza, G., Simone, S., Villani, G., Latorre, D., Pontrelli, P., et al. (2009). Mitochondrial dysregulation and oxidative stress in patients with chronic kidney disease. *BMC Genomics* 10:388. doi: 10.1186/1471-2164-10-388.

39. Lv W, Booz GW, Fan F, Wang Y, Roman RJ. Oxidative Stress and Renal Fibrosis: Recent Insights for the Development of Novel Therapeutic Strategies. *Front Physiol.* 2018 Feb 16;9:105.

40. Vaziri ND, Dicus M, Ho N, Sindhu R. Oxidative stress and dysregulation of superoxide dismutase and NADPH in renal insufficiency. *Kidney Int.* 63:179-85, 2003.

41. Kim HJ, Rodríguez-Iturbe B, Vaziri ND. Niacin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and hypertension in rats with chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol.* In press, 2009.

42. Teles F, Da Silva TM, Da Cruz FP, Honorato VH, De Oliveira Costa H, Barbosa APF, De Oliveira SG, Porfírio Z, Libório AB, Borges RL, Fanelli C: Brazilian red propolis attenuates hypertension and renal damage in 5/6 renal ablation model. *PLoS One* 10: 1–15, 2015.

43. Choi BH, Kang KS, Kwak MK. Effect of Redox Modulating NRF2 Activators on Chronic Kidney Disease. *Molecules* 2014, 19(8), 12727-12759.

44. Vianna HR, Soares CM, Tavares MS, Teixeira MM, Silva AC. Inflammation in chronic kidney disease: the role of cytokines. *J Bras Nefrol* 2011;33(3):351-364

45. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84:329-39, 2004.

46. Alencar SM, Oldoni TLC, Castro ML, Cabral ISR, Costa-Neto CM, Cury JA, Rosalen PL, Ikegaki M. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Journal of Ethnopharmacology* 2007.
47. Nagai T, Inoue R, Inoue H, Suzuki N, 2003, Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Food Chemistry* 80:29-33, 2003.
48. Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Cury JA, Rosalen PL, Abreu JAS. Antimicrobial properties of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology* 36:24-28, 1998.
49. Park YK, Alencar SM, Aguiar CL. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:2502-2506, 2002.
50. Park YK, Ikegaki M, Alencar SM, Moura FF. Evaluation of Brazilian propolis by both physicochemical methods and biological activity. *Honeybe Science* 21:85-90, 2000.
51. Ghisalberti EL. Propolis: a review. *Bee World*. 1979;60:59-84.
52. Loirish N. As Abelhas: Farmacêuticas com Asas. Editora Mir:Moscov; 1982. 228p.
53. Bankova VS, Popov SS, Marekov NI. A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*. 1982;46:471-474.
54. Castro M L, Cury J A, Rosalen P L, Alencar S M, Ikegaki M, Duarte S, Koo H. Própolis do sudeste e nordeste do brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. *Química Nova*. 2007; 30:1512-1516.
55. Newman DJ, Cragg GM: Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.* 79: 629–661, 2016.
56. Zaccaria V, Curti V, Di Lorenzo A, Baldi A, Maccario C, Sommatitis S, Mocchi R, Daglia M: Effect of green and brown propolis extracts on the expression levels of microRNAs, mRNAs and proteins, related to oxidative stress and inflammation. *Nutrients* 9: 1–17, 2017.
57. Berretta AA, Nascimento AP, Bueno PCP, Leite Vaz MM de OL, Marchetti JM: Propolis standardized extract (EPP-AF ®), an innovative chemically and biologically reproducible pharmaceutical compound for treating wounds. *Int. J. Biol. Sci.* 8: 512–521, 2012.
58. Brätter C, Tregel M, Liebenthal C, Volk HD: [Prophylactic effectiveness of propolis for immunostimulation: a clinical pilot study]. *Forsch. Komplementarmed.* 6: 256–60, 1999.

59. Samet N, Laurent C, Susarla SM, Samet-Rubinstein N: The effect of bee propolis on recurrent aphthous stomatitis: A pilot study. *Clin. Oral Investig.* 11: 143–147, 2007.
60. Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, Kurt YG, Unal HU, Karaman M, Gok M, Cetinkaya H, Eyileten T, Oguz Y, Vural A, Mallamaci F, Zoccali C: Ramipril lowers plasma FGF-23 in patients with diabetic nephropathy. *Am. J. Nephrol.* 40: 208–214, 2014.
61. Kang M-K, Park S-H, Kim Y-H, Lee E-J, Antika LD, Kim DY, Choi Y-J, Kang Y-H: Chrysin ameliorates podocyte injury and slit diaphragm protein loss via inhibition of the PERK-eIF2 α -ATF-CHOP pathway in diabetic mice. *Acta Pharmacol. Sin.* 38: 1129–1140, 2017.
62. Kubota Y, Umegaki K, Kobayashi K, Tanaka N, Kagota S, Nakamura K, Kunitomo M, Shinozuka K: Anti-Hypertensive effects of Brazilian Propolis in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 31: S29–S30, 2004.
63. Mishima S, Yoshida C, Akino S, Sakamoto T: Antihypertensive effects of Brazilian propolis: identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. *Biol. Pharm. Bull.* 28: 1909–1914, 2005.
64. Maruyama H, Sumitou Y, Sakamoto T, Araki Y, Hara H: Antihypertensive effects of flavonoids isolated from brazilian green propolis in spontaneously hypertensive rats. *Biol. Pharm. Bull.* 32: 1244–1250, 2009.
65. Kanamori H, Matsubara T, Mima A, Sumi E, Nagai K, Takahashi T, Abe H, Iehara N, Fukatsu A, Okamoto H, Kita T, Doi T, Arai H: Inhibition of MCP-1/CCR2 pathway ameliorates the development of diabetic nephropathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 360: 772–777, 2007.
66. Banba N, Nakamura T, Matsumura M, Kuroda H, Hattori Y, Kasai K: Possible relationship of monocyte chemoattractant protein-1 with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 58: 684–690, 2000.
67. Matsui T, Yamagishi S, Ueda S, Nakamura K, Imaizumi T, Takeuchi M, Inoue H: Telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, inhibits advanced glycation end-product (AGE)-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in mesangial cells through downregulation of receptor for AGEs via peroxisome proliferator-activate. *J. Int. Med. Res.* 35: 482–489, 2007.
68. Tumlin JA, Galphin CM, Rovin BH: Advanced diabetic nephropathy with nephrotic range proteinuria: A pilot study of the long-term efficacy of subcutaneous ACTH gel on

proteinuria, progression of CKD, and urinary levels of VEGF and MCP-1. *J. Diabetes Res.* 2013: 2013.

69. Lin SL, Chen YM, Chiang WC, Wu KD, Tsai TJ: Effect of Pentoxifylline in Addition to Losartan on Proteinuria and GFR in CKD: A 12-Month Randomized Trial. *Am. J. Kidney Dis.* 52: 464–474, 2008.

70. Ble A, Mosca M, Di Loreto G, Guglielmotti A, Biondi G, Bombardieri S, Remuzzi G, Ruggenenti P: Antiproteinuric effect of chemokine C-C motif ligand 2 inhibition in subjects with acute proliferative lupus nephritis. *Am. J. Nephrol.* 34: 367–372, 2011.

71. Li YJ, Lin JL, Yang CW, Yu CC: Acute renal failure induced by a Brazilian variety of propolis. *Am. J. Kidney Dis.* 46: 125–129, 2005.

72. Naramoto K, Kato M, Ichihara K: Effects of an ethanol extract of brazilian green propolis on human cytochrome P450 enzyme activities in Vitro. *J. Agric. Food Chem.* 62: 11296–11302, 2014.

8. ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP. O PROTOCOLO FOI SUBMETIDO INICIALMENTE EM 18/03/2016, TENDO APROVAÇÃO FINAL EM 25/04/2016.

Informamos que o projeto Efeitos da própolis sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica, que tem como pesquisador responsável Marcelo Augusto Duarte Silveira, foi recebido para análise ética no CEP USP - Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - HCFMUSP em 18/03/2016 às 14:40.

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos da própolis sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica.

Pesquisador: Marcelo Augusto Duarte Silveira

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 54326916.4.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.511.863

Apresentação do Projeto:

Trata-se do segundo relato do projeto onde os pesquisadores vão avaliar os efeitos do própolis sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica. Os pesquisadores responderam os questionamentos esclarecendo que as amostras serão estocadas em Biorepositório da disciplina em que será desenvolvido o estudo.

Objetivo da Pesquisa:

O objetivo do protocolo está claro e é relevante na área médica.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Se o resultado for positivo, trará benefícios para os sujeitos da pesquisa.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pesquisadores responderam os questionamentos apresentados pela comissão.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os pesquisadores reformularam o TCLE e consideramos adequados ao sujeito da pesquisa

Recomendações:

Recomendamos sua aprovação

ANEXO 2 – PROJETO SUBMETIDO À PLATAFORMA CLINICALTRIALS.GOV EM 09/05/2016, COM NÚMERO DE REGISTRO NCT02766036.

ClinicalTrials.gov

Propolis Effects in Patients With Chronic Kidney Disease

The safety and scientific validity of this study is the responsibility of the study sponsor and investigators. Listing a study does not mean it has been evaluated by the U.S. Federal Government. Read our [disclaimer](#) for details.

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02766036

Recruitment Status ⓘ : Completed
First Posted ⓘ : May 9, 2016
Last Update Posted ⓘ : May 3, 2018

Sponsor:

University of Sao Paulo General Hospital

Information provided by (Responsible Party):

Marcelo Augusto Duarte Silveira, University of Sao Paulo General Hospital

**ANEXO 3 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
APROVADO PELO CEP HCFMUSP.**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

(Em 2 vias, firmado por cada participante voluntário(a) da pesquisa e pelo responsável)

“O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após o consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa”

DADOS DA PESQUISA

Título da pesquisa: Efeitos da própolis sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica.

Pesquisador principal: Marcelo Augusto Duarte Silveira

Departamento: Clínica Médica / Nefrologia

O Sr /Sra esta sendo convidado (a) a participar como voluntário (a) do estudo “Efeitos da própolis sobre a proteinúria e função renal em pacientes com doença renal crônica”, que será realizado no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP –HCFMUSP: Av. Dr Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – Cerqueira César; CEP: 05403-000. Recebi do Sr Marcelo Augusto Duarte Silveira, Médico Nefrologista pelo HCFMUSP - Disciplina de Nefrologia da FMUSP, responsável por sua execução, as seguintes informações que me fizeram entender sem dificuldades e sem dúvidas os seguintes aspectos:

- 1) Que o estudo se destina a avaliar o impacto do Extrato da Própolis (EP) sobre a perda de proteína na urina e na função renal;
- 2) Que a importância deste estudo é o tratamento em fases precoces da nefropatia, utilizando, entre outras medidas, aquelas que visem reduzir a perda de proteínas na urina e a piora de forma progressiva da função do rim. Se nossa hipótese se confirmar, a principal contribuição deste trabalho é a possibilidade de um novo tratamento para ajudar em casos de insuficiência renal crônica, reduzindo assim o número de pacientes que venham a necessitar de diálise e/ou transplante renal;
- 3) Que este estudo começará em Abril de 2016 e terminará em Julho de 2017; (a depender da aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa em conformidade com o cronograma de execução proposto pelo pesquisador principal);
- 4) Que eu participarei do estudo da seguinte maneira após tomar conhecimento dos prováveis efeitos benéficos do uso da Própolis: receberei dose oral de 500mg/dia do extrato da Própolis sob a forma de comprimido. Serei acompanhado ambulatorialmente durante 12 meses (e por período posterior de forma contínua, no ambulatório da

Nefrologia do HCFMUSP) e realizarei exames laboratoriais em caráter mensal ou bimensal (será dosado hemograma, glicemia, perfil lipídico, provas de lesão do fígado (TGO, TGP), creatinofosfoquinase, creatinina e proteína em urina de 24 horas). Também terei minha pressão arterial monitorizada mensalmente;

5) Que os possíveis riscos à minha saúde física e mental são decorrentes do constrangimento psicológico que possa surgir após eu ser indagado por algo que me remeta a lembranças negativas da evolução do curso da minha doença. Quanto ao risco físico está associado ao uso da medicação (Extrato de Própolis);

6) Que os pesquisadores adotarão as seguintes medidas para minimizar os riscos: darão aporte psicológico quando necessário e indicarão que o uso do EP seja suspenso;

7) Que eu poderei contar com a assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, sendo responsável por ela Dr Marcelo Augusto Duarte Silveira, Dr Antônio Carlos Seguro, Dra Camila Eleutério Rodrigues e Dra Lúcia da Conceição Andrade;

8) Que, sempre que eu desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo;

9) Que, a qualquer momento, eu poderei recusar a continuar participando do estudo e, também, que eu poderei retirar este meu consentimento, sem que isso me traga qualquer penalidade ou prejuízo;

10) Que as informações conseguidas através de minha participação não permitirão a identificação da minha pessoa, exceto aos responsáveis pelo estudo, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto;

11) Que eu deverei ser ressarcido por qualquer despesa que venha a ter com a minha participação nesse estudo e, também, indenizado por todos os danos que venha a sofrer pela mesma razão, sendo que, para estas despesas foi-me garantida a existência de recursos;

12) Que Material Biológico Humano (Espécimes, amostras e alíquotas de material original e seus componentes fracionados); colhidos a fim de estudo por essa pesquisa serão armazenados e preservados conforme resolução 441/2011, que garante a única e exclusiva finalidade para fins de pesquisa e, desta forma, sob nenhuma hipótese, para fins comerciais.

Tendo eu compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e, estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implica, concordo em dela participar e, para tanto eu:

DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO

Endereço do(a) participante voluntário(a):

Domicílio: (rua, conjunto)..... Bloco:

Nº:, complemento: Bairro:

Cidade: CEP: Telefone:

Ponto de referência:

Contato de urgência (participante): Sr(a):

Domicílio: (rua, conjunto)..... Bloco:

Nº:, complemento: Bairro:

Cidade: CEP: Telefone:

Ponto de referência:

Nome e Endereço do Pesquisador Responsável:

Marcelo Augusto Duarte Silveira

Endereço: Avenida Conselheiro Rodrigues Alves, 948. Bairro: Vila Mariana.

Cidade: São Paulo, SP, CEP: 04014-000. Telefone para contato: (11) 98775-6175

Instituição: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – HCFMUSP

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 - Cerqueira César, São Paulo - SP, 05403-000.

Telefone: (11) 2661-6000 / 2661-6254.

ATENÇÃO: Para informar ocorrências irregulares ou danosas, dirija-se ao Comitê de Ética em Pesquisa CEP, pertencente ao Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP – HCFMUSP. Rua Dr Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar – Cerqueira César – 05403-010 – São Paulo – SP – Brasil. Horário de Funcionamento: 2ª a 6ª de 08 às 16h. Tel. 2661-7585. E-mail:

cappesq.adm@hc.fm.usp.br

São Paulo, _____ de _____ de _____

ANEXO 4 – AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS LEVES **PROTOCOLO: PRÓPOLIS-DRC****AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS LEVES****1. IDENTIFICAÇÃO:**

Iniciais: _____ Num : _____

Sexo: _____ Idade: _____

QUESTIONÁRIO**1. SEGMENTO CEFÁLICO**

Dor de cabeça:	() S () N
Tonturas:	() S () N
Vertigens:	() S () N
Desmaios	() S () N
Alterações da visão (borramento, vermelhidão, alteração da acuidade)	() S () N
Alterações do olfato	() S () N
Alterações do paladar	() S () N
Alterações auditivas (surdez ou zumbidos)	() S () N

2. SISTEMA DIGESTÓRIO

Alteração do apetite	() S () N
Dificuldade para engolir	() S () N
Dor de estômago	() S () N
Queimação estômago	() S () N
Sensação de má digestão	() S () N
Náuseas	() S () N
Vômitos	() S () N
Diarréia	() S () N
Constipação intestinal	() S () N
Dor abdominal	() S () N

3. SISTEMA URINÁRIO

Aumento da diurese	() S () N
Alteração da cor da urina	() S () N
Alteração do odor da urina	() S () N

Ardor ou dor para urinar () S () N

4. SISTEMA CARDIOVASCULAR

Batedeiras ou sensação de batimentos anormais () S () N

Edema () S () N

Dor no peito aos esforços () S () N

5. SISTEMA RESPIRATÓRIO

Dor no peito () S () N

Tosse () S () N

Falta de ar () S () N

Chiado no peito () S () N

6. SISTEMA ARTICULAR

Inchaço nas articulações () S () N

Rigidez nas articulações () S () N

Vermelhidão ou dor nas articulações () S () N

7. SISTEMA LINFOHEMATOPOIÉTICO

Manchas rochas () S () N

Manchas vermelhas () S () N

Caroços pelo corpo () S () N

8. SISTEMA ENDÓCRINO

Sede intensa () S () N

Perda de peso () S () N

Irritação () S () N

Intolerância ao frio ou calor () S () N

Caimbras () S () N

9. SISTEMA NERVOSO

Alteração do sono () S () N

Alteração do humor () S () N

Formigamento ou alteração de sensibilidade () S () N

Perda de força muscular () S () N

10. OBSERVAÇÕES

Data da Coleta de Informação:

Responsável pela coleta: _____