



UNIVERSIDADE REGIONAL DE
BLUMENAU- FURB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeitos metabólicos da própolis de *Melipona quadrifasciata* no perfil glicêmico e lipídico, resistência à insulina e marcadores do estresse oxidativo

Pesquisador: Caio Mauricio Mendes de Cordova

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 31683820.4.0000.5370

Instituição Proponente: Universidade Regional de Blumenau- FURB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.196.105

Apresentação do Projeto:

O estudo será realizado com 90 participantes entre 18-80 anos com ou sem diagnóstico de doença metabólica prévia. A duração do estudo será de 90 dias. Os participantes serão recrutados e divididos aleatoriamente em grupo placebo (n=60) e grupo própolis de abelhas nativas sem ferrão que receberão 1000 mg/dia do extrato seco (n=30). Amostras de sangue dos participantes serão obtidas e submetidas à análise bioquímica, além da coleta de dados através de um questionário no início da pesquisa e após os 90 dias com uma nova coleta de sangue para os exames bioquímicos. Será analisado o perfil glicêmico (glicose em jejum; hemoglobina glicada; insulina em jejum; cálculo do índice HOMA-IR), e perfil lipídico (colesterol total e frações, triglicerídeos, LDL-oxidado e subpopulações de LDL). Além disso, também serão observados marcadores do estresse oxidativo (antioxidantes totais, óxido nítrico, produtos de oxidação como TBARS e peróxidos de lipídeos) e cortisol (matutino). Assim que concluído o período de 90 dias e a coleta dos exames bioquímicos, será executada a correlação dos resultados do início e final do estudo. Estes resultados serão submetidos à análise estatística univariada (ANOVA) e comparados para observar se houve alteração no perfil glicêmico, perfil lipídico e de LDL- oxidado, resistência à insulina (insulina de jejum e índice de HOMA-IR), além dos marcadores do estresse oxidativo e cortisol entre os grupos de participantes.

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



Continuação do Parecer: 4.196.105

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primario:

Avaliar os efeitos metabolicos da Propolis de Melipona quadrifasciata no perfil glicemico e lipidico, resistencia a insulina e marcadores do estresse oxidativo num ensaio clinico randomizado e duplo-cego

Objetivo Secundario:

Determinar a caracteristica quimica, em termos qualitativos e quantitativos, da propolis regional que possa ter efeitos beneficos sobre o metabolismo glicemico, lipidico e no estresse oxidativo, de forma a permitir a padronizacao de seu eventual uso com este fim.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

O extrato de propolis e um produto natural considerado seguro na dose utilizada (Hochheim et al., 2019). A puncao venosa para coleta de sangue periferico eventualmente pode ocasionar pequenos hematomas temporarios, em caso de pessoas com veias de dificil puncao ou com disturbios da coagulacao, mas que sao facilmente contornaveis por um profissional legalmente habilitado para a flebotomia.

Benefícios:

No curto prazo, os participantes terao como beneficio a determinacao de varios parametros bioquimicos e metabolicos, seguidos de orientacao nutricional quando couber. Assim, sera possivel evidenciar a eventual necessidade de mudancas de estilo de vida, naqueles sujeitos que apresentarem parametros em niveis nao desejaveis, ou o reforco dos habitos atuais, naqueles sujeitos com os parametros dentro dos niveis desejaveis. No longo prazo, os sujeitos estarao contribuindo para a definicao dos efeitos da suplementacao com propolis sobre o metabolismo e o risco cardiovascular, e possibilitando a determinacao da composicao quimica da propolis com os efeitos eventualmente comprovados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Introducao:

A propolis e uma substancia resinosa natural produzida pelas abelhas a partir de material extraido

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



de plantas, flores e cera da própria abelha, com a função de proteção das colmeias (SAMADI et al. 2017). É relatado que a propolis contém 50% de resina, 30% cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de outras substâncias orgânicas. Além disso, já foram identificados na propolis mais de 300 componentes químicos, e sua composição varia muito dependendo da espécie de abelha que a produz, e da flora do entorno (NNA et al. 2019). No Brasil, encontram-se 13 tipos diferentes de propolis, sendo que sua diferença está na sua origem botânica, por exemplo *Baccharis dracunculifolia* produz a propolis verde, *Dalbergia ecastaphyllum* a propolis vermelha e *Hyptis divaricata* a propolis marrom (KOCOT et al. 2018). Numerosos estudos revelaram diversas atividades biológicas da propolis, entre elas antibacteriana, antifúngica, antiviral, citotóxica, antioxidante, anti-inflamatória, imunomoduladora, entre outras (BANKOVA et al. 2014a). Estudo brasileiro com a propolis de abelha *Melipona quadrifasciata* demonstrou sua atividade antioxidante e através de análises cromatográficas e espectrométricas de massa, a presença de catequina, epicatequina, aromadendrina, naringenina, pinocembrina e ácido p-cumárico. Observou-se que o extrato metanólico, a fração de acetato de etila e a fração insolúvel possuem maior teor de fenólicos e flavonoides, dessa forma, melhores atividades antioxidantes (HOCHHEIM et al. 2019). Considera-se que os principais efeitos terapêuticos da propolis sejam atribuíveis a flavonoides e fenóis naturais, cujos compostos apresentam pouca probabilidade de efeitos colaterais e toxicidade baixa (KITAMURA, 2019). Segundo Kocot et al. (2018), em relação aos produtos apícolas, a propolis parece ser o antioxidante mais poderoso entre todos os produtos apícolas analisados (pólen de abelha e geleia real). Além disso, devido sua ação antioxidante e caracterizada por ter ações neuroprotetoras e cardioprotetoras e, portanto, é sugerida como um agente protetor contra as doenças neurodegenerativas, bem como a aterosclerose. Muitas propriedades biológicas já foram descritas para diversos tipos de propolis, e seus efeitos terapêuticos têm sido amplamente utilizados nas indústrias de alimentos e farmacêuticas. Estudos recentes com pacientes portadores de Diabetes mellitus demonstraram como a propolis pode agir no metabolismo humano de diversas formas, atuando no controle glicêmico, na diminuição da resistência à insulina, diminuição de alguns lipídios séricos e melhora nos marcadores de antioxidantes (SAMADI et al. 2017; AFSHARPOUR et al. 2019). Estudo realizado por Zakerkish et al. (2019) com pacientes diabéticos também obteve resultados positivos com a suplementação da propolis iraniana. Dentre os resultados houve melhora da glicose pós-prandial dos participantes, diminuição da resistência à insulina, aumento do HDL- colesterol, e também pode haver diminuição dos níveis de citocinas pró-inflamatórias devido suas fortes propriedades anti-inflamatórias. A obesidade pode ser um fator determinante para várias doenças crônicas

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



incluindo o Diabetes mellitus tipo 2. Pesquisas com modelos animais e celulares mostraram que a propolis também pode evitar o desenvolvimento e progressão de complicações diabéticas, através da modulação do estresse oxidativo, diminuição do acúmulo de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e inflamação do tecido adiposo, os quais contribuem para a resistência à insulina ou secreção insuficiente de insulina (KITAMURA, 2019). Nos últimos anos os mecanismos de ação da propolis tem sido amplamente investigados, pois este composto possui muitas propriedades biológicas e farmacológicas, que estão sendo estudados em diferentes modelos experimentais in vivo e in vitro (SFORCIN; BANKOVA, 2011). Entretanto, não há estudos nessa linha sobre a propolis da abelha nativa sem ferrão *Melipona quadrifasciata* produzida na região de Blumenau/SC (Brasil). Além disso, o número de formulações contendo propolis aumentou, porém nem sempre é mencionado a composição química da propolis em questão, sua fonte vegetal e os métodos de extração, sendo utilizados deliberadamente com recomendações diferentes, não havendo então garantias sobre seus efeitos. Sendo assim, o objetivo desta pesquisa é realizar a caracterização química do extrato bruto hidroalcoólico da propolis de *M. quadrifasciata* da nossa região e investigar em humanos, através de uma dosagem pre-definida, seu efeito antioxidante e sobre a concentração sérica de radicais livres, sobre o perfil glicêmico e lipídico, e assim sua eventual propriedade de redução do risco cardiovascular, que possam oferecer um valor terapêutico promissor a este composto, uma vez quimicamente bem definido.

Hipótese:

A propolis de *M. quadrifasciata* de nossa região tem efeito antioxidante e de eliminação de radicais livres, melhora no perfil glicêmico e de resistência à insulina, bem como propriedades de redução do risco cardiovascular significativas, que possam oferecer um valor terapêutico promissor a este composto.

Metodologia Proposta:

Sujeitos: serão recrutados voluntários maiores de 18 anos dispostos a ingerir diariamente 1 g de extrato de propolis ou placebo, responder a um questionário de anamnese sobre aspectos nutricionais e hábitos de vida e medidas antropométricas, e fornecer uma amostra de sangue para exames bioquímicos no início e no final do estudo. Ao final será feita a devolutiva dos resultados laboratoriais aos sujeitos da pesquisa, seguido de orientação, se for o caso, pela nutricionista da equipe de pesquisa. **Desenho do estudo:** serão inicialmente recrutados 100 voluntários considerando uma perda de 10% pelos critérios de exclusão. Para aumentar o poder estatístico do

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



estudo teremos uma proporção de 3 controles ingerindo placebo para 1 sujeito ingerindo extrato de propolis. Dos sujeitos ingerindo propolis, metade irá ingerir extrato de propolis da abelha nativa *M. quadrifasciata*, e metade irá ingerir extrato de propolis verde comercial de *Apis mellifera*, para fins de comparação de efeitos. Após noventa dias de ingestão de placebo ou extrato de propolis, os parâmetros bioquímicos serão reavaliados, em formato randomizado e duplo-cego. Os sujeitos serão orientados a manter seus hábitos e nutrição durante o andamento do estudo. Obtenção do extrato de propolis: as amostras de propolis de *M. quadrifasciata* obtidas em nossa região serão incubadas em etanol a 70% ao abrigo da luz por sete dias, com agitação uma vez por dia. O extrato será filtrado para a remoção dos sólidos remanescentes, evaporado em rota-evaporador até peso constante (Hochheim et al, 2019), e liofilizado. O pó resultante será acondicionado em cápsulas gelatinosas na ordem de 500 mg por cápsula, mantidas em frascos com bolsas de sílica gel como dessecante. Caracterização do extrato de propolis: tanto o extrato da propolis de *M. quadrifasciata* quanto a propolis comercial serão avaliadas quimicamente quanto a sua composição de fenólicos totais, flavonoides e terpenos, e terão seus compostos identificáveis detectados e quantificados por HPLC-MS/MS, de acordo com a metodologia estabelecida por Hochheim et al, 2019. Amostras biológicas: amostras de sangue total coletadas em tubos com EDTA e sangue coletada em tubo sem anticoagulante com gel separador serão obtidas e processadas de acordo com as normas em vigor (CLSI, GP41-Ed7 Document, 2017), e em seguida enviadas aos laboratórios para análise. Após o término do estudo, as amostras serão descartadas de acordo com as normas de biosegurança vigentes (RESOLUÇÃO ANVISA RDC No. 222, DE 28 DE MARÇO DE 2018). Exames bioquímicos: as dosagens de glicemia em jejum, hemoglobina glicada, cortisol, insulina em jejum e cálculo do índice HOMA-IR, colesterol total e frações, e triglicerídeos serão realizados em laboratório clínico de rotina parceiro do projeto pelos métodos automatizados padronizados e com controle de qualidade interno e externo. Para fins de avaliação de eventual toxicidade dos extratos de propolis, serão ainda feitas dosagens séricas de creatinina, ácido úrico, albumina, bilirrubinas, colinesterase, atividade de gama-GT, ALT, AST, LDH, amilase e fosfatase alcalina, no mesmo laboratório. As determinações de LDL-peroxidada e subpopulações de LDL serão realizadas em laboratório de pesquisa parceiro do projeto. As determinações dos marcadores do estresse oxidativo (antioxidantes totais, óxido nítrico, produtos de oxidação como TBARS - substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, e peróxidos de lipídeos) serão realizados em nosso laboratório de pesquisa.

Critério de Inclusão:

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



Continuação do Parecer: 4.196.105

Serão incluídos no estudo os sujeitos com mais de 18 anos que aceitarem participar mediante assinatura do TCLE, responderem as perguntas do questionário de anamnese e dados antropométricos, fizerem a ingestão diária de 1 g de extrato de propolis ou placebo durante o estudo, e fornecerem uma amostra de sangue para as dosagens bioquímicas no início e no final do estudo.

Critério de Exclusão:

Serão excluídos do estudo os participantes que:- não fizerem a ingestão diária de 1 g de extrato de propolis ou placebo durante o estudo- não for possível obter uma amostra de sangue para as dosagens bioquímicas no início e no final do estudo- se apresentarem como mulher gestante ou amamentando- apresentar histórico de má-absorção ou cirurgia gastrointestinal- apresentarem problemas cognitivos que impeçam de compreender as instruções de participação no estudo- estiverem participando de outro estudo clínico ao mesmo tempo.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados:

PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1533231.pdf 08/06/2020 15:58:02

QFA.pdf 08/06/2020 15:57:40

TCLEv2.pdf 08/06/2020 15:57:18

ProjetoV1.docx 06/05/2020 15:53:01

Folha_de_rosto_assinada.pdf 06/05/2020 15:51:09

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendências anteriores:

a) Nas informações básicas do projeto, no item Metodologia, informa que haverá um questionário. Porém, não foi apresentado o referido questionário para análise ética. Deve-se apresentar o questionário.

ITEM ATENDIDO

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br



Continuação do Parecer: 4.196.105

b) No TCLE item 5 corrigir a frase "A minha participação neste projeto tem como objetivo/contribuir...".

ITEM ATENDIDO

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1533231.pdf	08/06/2020 15:58:02		Aceito
Outros	QFA.pdf	08/06/2020 15:57:40	Caio Mauricio Mendes de Cordova	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEv2.pdf	08/06/2020 15:57:18	Caio Mauricio Mendes de Cordova	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto1.docx	06/05/2020 15:53:01	Caio Mauricio Mendes de Cordova	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rostoassinada.pdf	06/05/2020 15:51:09	Caio Mauricio Mendes de Cordova	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BLUMENAU, 06 de Agosto de 2020

Assinado por:
Mercedes Gabriela Ratto Reiter
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Antônio da Veiga, 140

Bairro: Bairro Victor Konder

CEP: 89.012-900

UF: SC

Município: BLUMENAU

Telefone: (47)3321-0122

Fax: (47)3322-8818

E-mail: comitesdeetica@furb.br