

**Avaliação da eficácia da própolis verde no controle e/ou melhora dos
sintomas da polineuropatia dolorosa em pessoas vivendo com
Diabetes mellitus tipo 2.**

IDENTIFICAÇÃO DO COORDENADOR DA PESQUISA:

Nome Completo: Rachel Basques Caligiorne

Currículo Lattes (link): <http://lattes.cnpq.br/4315276120224887>

Formação e titulação: Doutora em Ciências pela UFMG.

Pós doutora pelo Museu de História Natural de Paris, França.

Cargo/Função: Professora Titular do programa de pós-graduação *Stricto sensu* da Faculdade Santa Casa BH.

Telefone para contato: (31) 992051496

E-mail: rachelbc@faculdadesantacasabh.edu.br

Equipe:

- Ms. Aline da Silva Miranda de Menezes e Souza - Faculdade Santa Casa BH – Estudante de Doutorado que irá executar todo o estudo.

- Dra. Sônia Maria de Figueiredo - Universidade Federal de Ouro Preto – Coorientadora.

- Dra. Caroline Maria de Oliveira Volpe - Faculdade Santa Casa BH – Colaboradora.

- Dra. Aleida Nazareth Soares - Faculdade Santa Casa BH – Colaboradora.

- Dra. Thais Almeida Marques da Silva - Faculdade Santa Casa BH – Colaboradora.

- Dra. Maria Regina Calsolari Pereira de Souza – Hospital Santa Casa BH – Colaboradora.

- Dr. Pedro Wesley - Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte – Colaborador.

- Ms. Luciana Araújo Marques - Faculdade Santa Casa BH – Estudante.

- Amanda Medeiros Frota Cruz - Faculdade Santa Casa BH – Estudante.

- Isabela Mariano - Faculdade Santa Casa BH – Estudante – Estudante.

IDENTIFICAÇÃO DAS INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES:

Executora/sede: Faculdade Santa Casa de Belo Horizonte

<http://di.cnpq.br/di/cadi/infoInstituicao.do?acao=buscaDadosInst&nroIdInst=775898>

<https://faculdadesantacasabh.org.br/>

<https://faculdadesantacasabh.org.br/cursos/pos-graduacao/>

Perspectivas de colaborações ou parcerias para o projeto:

Ambulatório de *Diabetes mellitus* – Hospital Santa Casa BH

Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto

Empresa Apis Brasil (fornecedora da própolis)

Introdução

Segundo dados de 2021 da Federação Internacional de Diabetes (IDF), estima-se que existam, pelo menos, 540 milhões de pessoas vivendo com diabetes em todo o mundo e que, até 2030, o número de adultos com a doença atinja a marca de 643 milhões em todo o planeta (ATLAS IDF, 2021). O diabetes é uma síndrome causada por distúrbios metabólicos decorrentes de problemas na ação ou secreção de insulina caracterizada por hiperglicemia crônica. A hiperglicemia crônica ou intermitente tem sido identificada na patogênese da lesão endotelial mesmo quando a normoglicemia é alcançada, sendo que o estresse oxidativo tem papel central na patogênese das complicações do diabetes (FELDMAN *et al.*, 2019). Estudos clínicos relatam a existência de forte correlação entre hiperglicemia e complicações micro e macrovasculares também associadas ao estresse oxidativo. Este que, por sua vez, se refere a um estado de desequilíbrio entre ROS (espécies reativas de oxigênio) e a capacidade antioxidante endógena (representada principalmente pela glutatona) levando à injúria celular (BAYNES, 1991; WAJCHENBERG, 2002). Visto isso, uma das principais complicações crônicas do diabetes é a neuropatia diabética (ND), que afeta até 50% dos indivíduos com diabetes tipo 1 ou tipo 2 com longa duração da doença (POP-BUSUI *et al.*, 2017; YANG *et al.*, 2022). A ND se manifesta em várias síndromes distintas sendo a polineuropatia simétrica distal a mais comum e conhecida como neuropatia diabética periférica (TESFAYE, 2009).

As neuropatias periféricas representam um grupo heterogêneo de distúrbios neurológicos que afetam os nervos periféricos, causando sintomas ou sinais sensoriais, motores ou autonômicos ou, mais frequentemente, uma combinação destes (CALLAGHAN *et al.*, 2014; AFKHAMIZADEH *et al.*, 2018).

As causas mais comuns de neuropatia periférica são diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e pré-diabetes. A neuropatia ocorre em aproximadamente metade de todos os pacientes com diabetes, dos quais 30-40% desenvolvem dor neuropática, de modo que aproximadamente um em cada cinco pacientes diabéticos desenvolve neuropatia dolorosa (BERRETTA, 2020). A neuropatia diabética dolorosa é comum e acontece em, aproximadamente, 25% de todas as pessoas com diabetes (TESFAYE, 2009).

Vale salientar que a hiperglicemia é o gatilho de alterações bioquímicas e imunológicas constituindo a base da patogenia das complicações aumentando o estresse oxidativo através do aumento de ROS, além do acúmulo de produtos finais da glicação avançada (AGES) e da

ativação da via dos polióis nos neurônios. Essas modificações acarretam complicações micro e macrovasculares. (BROWNLEE, 2001; SCHMIDT, 1998). O aumento dos níveis de glicose nos neurônios e células endoteliais determina alterações nos níveis de lípidos, polióis, glicação não enzimática proteica além de disfunção em fatores de crescimento (FELDMAN *et al.*, 2019). O aumento de AGES em nervos periféricos de portadores de diabetes e em modelos animais pioram a neuropatia diabética, visto que isso reduz a velocidade de condução nervosa e o fluxo sanguíneo para os nervos periféricos (CHEN *et al.*, 2004).

No que tange as neuropatias diabéticas, é fato que estas alterações não podem ser diagnosticadas com base em apenas um sintoma, sinal ou teste único. Um mínimo de duas anormalidades, entre sintomas, sinais, anormalidades de condução nervosa, testes quantitativos de sensibilidade ou testes autonômicos quantitativos, são necessárias (ADA, AAN AND SAN ANTONIO CONFERENCE, 1988 e 1992). A American Diabetes Association (ADA) sugere uma definição simples de ND para a prática clínica que é “a presença de sintomas e/ou sinais de disfunção de nervos periféricos em pessoas com diabetes após exclusão de outras causas”, tais como HIV, etilismo, deficiências vitamínicas (B6-B12), hipotireoidismo, hanseníase, neoplasias – tratamento quimioterápico, doenças genéticas (Amiloidose familiar), porfiria entre outras (POP-BUSUI *et al.*, 2017).

Várias classificações são propostas na literatura. Uma das mais utilizadas é a de Thomas (2003), adaptada por Boulton *et al.* (2004) e apresentada na Tabela 1 (SCHMID *et al.*, 1999; NEUMANN E SCHMID, 1995). Esta classificação tem finalidade predominantemente didática, lembrando que as diferentes formas de ND podem ocorrer simultaneamente, ou não, em um mesmo paciente.

A neuropatia hiperglicêmica rapidamente reversível ocorre em pacientes com diabetes recentemente diagnosticado ou transitoriamente muito descompensado. Caracteriza-se por anormalidades da condução nervosa, as quais podem estar associadas a sintomas sensitivos distais que provocam muito desconforto ao paciente. As manifestações parecem estar ligadas apenas a distúrbios funcionais, havendo remissão após restabelecimento da normoglicemia (BOULTON *et al.*, 2004).

Tabela 1. Classificação das neuropatias diabéticas de acordo com Thomas

Neuropatias rapidamente reversíveis	Neuropatia hiperglicêmica
Polineuropatias simétricas generalizadas	Autônômica
	Sensitiva aguda
	Sensitiva motora (crônica)
Neuropatias focais e multifocais	Cranial
	Radiculoneuropatia toracolombar
	Focal de um membro
	Motora proximal (amiotrofia)
Neuropatia inflamatória crônica	
desmielinizante superposta	

Fonte: SCHMID *et al.*, 1999; NEUMANN E SCHMID, 1995.

A polineuropatia generalizada simétrica é a forma mais comum de ND. Tem início insidioso relacionado à descompensação metabólica do diabetes, podendo estar presente na época do diagnóstico do DM2 em mais de 10% dos pacientes, como decorrência tanto do fato de frequentemente o paciente com diabetes permanecer assintomático por longos períodos, como da ocorrência de neuropatia em pacientes com intolerância à glicose ainda sem critérios laboratoriais para diagnóstico de DM2 (BOULTON *et al.*, 2004).

A maioria dos pacientes com neuropatia sensitivo-motora crônica apresenta-se assintomática, mas cerca de 10% podem apresentar sintomas sensitivos incapacitantes, requerendo tratamento específico. Este tipo de neuropatia é quase invariavelmente acompanhado de disfunção autonômica e de sequelas tardias como úlceras podais, neuroartropatia de Charcot e, em muitos casos, de amputações (BOULTON *et al.*, 2004).

A neuropatia sensitiva aguda é uma polineuropatia com início agudo caracterizada por muitos sintomas sensitivos e poucos achados clínicos, estando relacionada à descompensação do diabetes (BOULTON *et al.*, 2004).

A neuropatia autonômica do diabetes (NAD) é também muito comum. Compromete tanto o sistema simpático como o parassimpático. Os sinais e sintomas da doença autonômica estão relacionados aos sistemas cardiovascular, gastrointestinal, geniturinário, sudomotor, metabólico e oftalmológico. Estes sistemas podem mostrar evidências de comprometimento isolado ou em conjunto (VINIK *et al.*, 2003).

Para fins de pesquisa, é importante obter outras informações quantitativas sobre lesão nervosa e confirmar o diagnóstico de ND nos participantes do estudo, valendo ressaltar o exímio trabalho desenvolvido pela Dra. Maria Regina Calsolari, no ambulatório de Endocrinologia do Centro de Especialidade Médicas - CEM da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, não só no acompanhamento e orientação de pessoas vivendo com diabetes como também na detecção precoce de alterações nervosas, o que vem culminando com uma prevalência quase nula de amputações entre os pacientes atendidos. Além disso, se faz relevante a inclusão de testes adicionais com produtos naturais, como a própolis, que há centenas de anos vem sendo usada com fins terapêuticos. Os efeitos imunomoduladores de substâncias naturais têm sido considerados terapias adjuvantes alternativas no tratamento de diversas doenças (ORSOLIC E BASIC, 2003). No caso da própolis, esse efeito tem sido associado a uma combinação de diferentes constituintes (FISCHER *et al.*, 2008).

A própolis é uma substância resinosa derivada de diferentes partes de plantas, que são coletadas por abelhas e modificadas dentro da colmeia, através da adição de secreções próprias das abelhas (TELES *et al.*, 2015; KUMAZAWA *et al.*, 2004). Contudo, sua composição química pode variar entre as regiões, sendo dependente do tipo de vegetação de que é extraída e da variedade da abelha rainha (ALENCAR *et al.*, 2007). No Brasil, treze tipos diferentes já foram descritos (KHAYYAL *et al.*, 1993). Em um de seus estudos, Machado *et al.* (2012) utilizaram amostras liofilizadas de extratos aquosos de própolis (EGrprop) cuja produção seguiu processo patenteado e padronizado (PI 0405483-0), publicado na Revista de Propriedade no. 1.778, de 01.12.2005 (BERRETA, 2005).

A própolis verde é bem conhecida pela cor (MARCUCCI *et al.*, 1998; PARK *et al.*, 2004) e é produzida pelas abelhas *Apis mellifera* que utilizam *Baccharis dracunculifolia* DC, Asteraceae (espécie comum encontrada no cerrado brasileiro) como principal fonte vegetal (DE BARROS *et al.*, 2007).

As atividades biológicas da própolis são devidas aos seus altos níveis de ácidos fenólicos (BANKOVA *et al.*, 2000), enquanto os flavonoides são considerados responsáveis pelas atividades dos extratos de própolis europeus (HEGAZI *et al.*, 2000). Os constituintes típicos da própolis verde brasileira são o ácido cafeoilquínico e derivados prenilados do ácido cinâmico, como artepillina C e bacarina (SHIMAZAWA *et al.*, 2005; BANSKOTA *et al.*, 2001).

Vários estudos relataram que a própolis verde tem propriedades antiviral, antibacteriana, anti-inflamatória, imunomoduladora, antioxidante e inibidora da expressão de citocinas pro-inflamatórias como TNF- α e IL-6 (NAGAI *et al.*, 2003; NEIVA *et al.*, 2014; PARK *et al.*, 1998; PARK *et al.*, 2002; FIGUEIREDO, 2014). Estas descobertas são apoiadas por estudos de outros contextos como os trabalhos desenvolvidos por El-Makaky e Shalaby (2020), Afkhamizadeh *et al.* (2018), Afsharpour *et al.* (2019), El-Sharkawy *et al.* (2016), Samadi *et al.* (2017), Fukuda *et al.* (2015), Zhao *et al.* (2016) e Gao *et al.* (2018) que comprovaram o efeito da própolis (de origens variadas) na redução dos níveis de glicemia, hemoglobina glicada, marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes com diabetes.

Outros trabalhos corroboram com estes resultados, como o de Silveira *et al.* (2021) que realizaram estudo em humanos com EGrprop* (375 mg/dia), sem evento adverso observado. Neste trabalho, a interação medicamentosa foi realizada através de uso de “cocktail” e os resultados mostraram segurança e ausência de risco de interação para análise das principais enzimas metabolizadas no fígado (CYPs) e para enzima de transporte (BERRETA *et al.*, 2020). Os critérios estabelecidos foram da Organização Mundial da Saúde - OMS (CUSINATO *et al.*, 2019, DINIZ *et al.*, 2020, BERRETA *et al.*, 2020). Silveira *et al.* (2019) também realizaram ensaio clínico randomizado, duplo cego, placebo controlado, com 32 pacientes portadores de Doença Renal Crônica (DRC), que demonstrou segurança com 500mg/dia de própolis e uma redução significativa da proteinúria e MCP1 urinário no grupo própolis comparado com o grupo placebo.

*EGrprop: extrato padronizado de própolis verde obtido por Berretta *et al.* (2012), padronizado quanto aos compostos fenólicos e flavonoides totais, patenteado e padronizado (PI 0405483-0), publicado na Revista de Propriedade Industrial, n. 1.778, de 01/12/2005.

Justificativa

De acordo com Jensen *et al.* (2021) o controle glicêmico continua sendo a única intervenção para melhorar a ND. Portanto, para avançar no estado atual do campo, são necessários grandes estudos de coorte prospectivos que aprofundem análises dos fatores com ação hipoglicemiante no organismo. Neste sentido, pode-se pensar em produtos naturais como a própolis que pode ajudar a reduzir sintomas de ND ou mesmo controlar a hiperglicemia. Estudos de intervenção num ambiente de investigação podem, ainda, facilitar a descoberta de novas terapias para aplicação clínica contra o surgimento e/ou evolução da ND.

Dada a elevada prevalência e morbimortalidade associada à ND e ao conhecimento prévio do possível efeito da própolis verde no controle da glicemia, esta pesquisa pode ter um grande impacto na saúde de muitas pessoas que vivem com DM2 em todo o mundo.

OBJETIVO

Avaliar se o extrato de própolis verde brasileira pode controlar e/ou melhorar os sintomas da PND (que atinge fibras finas) a partir dos seus efeitos anti-inflamatório, hipoglicemiante e antioxidante em pessoas que vivem com DM2, portadoras de PND, atendidas pelo SUS.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Monitorar as alterações nos níveis de glicemia de jejum e hemoglobina glicada em pessoas que vivem com DM2, portadoras de PND que recebem suplementação com própolis verde, comparando com o grupo controle, sem o uso da suplementação com própolis verde, somente com o tratamento convencional, que é a vitamina B12.

2. Monitorar as alterações nos marcadores inflamatórios (IL-6, IL-1B e IL-10) e marcadores de estresse oxidativo (SOD - Superoxidodismutase e MDA - Malondialdeído) em pessoas que vivem com DM2, portadoras de PND que recebem suplementação com própolis verde, comparando com o grupo controle, sem o uso da suplementação com própolis verde, somente com o tratamento convencional, que é a vitamina B12.

3. Avaliar a intensidade da dor em pacientes com PND, que recebem suplementação com própolis verde, através da aplicação (pelo médico endocrinologista) de testes específicos como Escore Sintomático (ES), Escala Visual Analógica (EVA), Escore de Disfunção Neuropática (vibração, temperatura, dor e reflexos), exame para risco de úlcera (monofilamentar), comparando com o grupo controle, sem o uso da suplementação com própolis verde, somente com o tratamento convencional, que é a vitamina B12.

4. Avaliar a evolução dos índices supracitados em pessoas que vivem com DM2, portadoras de PND que recebem suplementação com própolis verde, durante 6 meses, comparando com o grupo controle, sem o uso da suplementação com própolis verde, somente com o tratamento convencional, que é a vitamina B12.

5. Correlacionar os resultados bioquímicos de controle glicêmico, de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo com a intensidade/escala de dor dos pacientes ao longo do estudo, comparando com o grupo controle, sem o uso da suplementação com própolis verde, somente com o tratamento convencional, que é a vitamina B12.

MATERIAIS E MÉTODOS

Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo longitudinal, prospectivo, intervencionista, utilizando extrato de própolis verde brasileira em pessoas vivendo com DM2 portadoras de PND, do Ambulatório de Endocrinologia do Centro de Especialidade Médicas (CEM) da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte.

Tamanho da Amostra

Serão selecionados 100 indivíduos com diagnóstico de DM2 portadores de PND, sendo 50 indivíduos que receberão o tratamento convencional para PND, que é a vitamina B12 e 50 indivíduos que receberá o suplemento da própolis verde além do tratamento convencional.

OBS: O cálculo amostral foi realizado pelo software GPower versão 9.1.4 sendo considerados um nível de significância de 5%, poder de 80%, tamanho do efeito médio ($d=0,5$) para avaliação do grupo do estudo.

Administração da Própolis

Os 50 pacientes receberão, gratuitamente, a própolis em cápsula (além do tratamento convencional) e serão acompanhados durante 6 meses, desde que aceitem participar do estudo com consultas ambulatoriais mensais, sempre após a avaliação inicial pela médica endocrinologista, Dra. Maria Regina Calsolari. Cada paciente será orientado a tomar, diariamente, 2 cápsulas de 500mg de própolis, manipuladas e doadas pela Empresa Apis Brasil, durante os 6 meses de duração da pesquisa.

Métodos de Coleta de Dados

Durante o estudo serão utilizados os seguintes métodos de coleta de dados: 1) ferramentas não invasivas para quantificação de dor (escalas de dor); 2) coleta de sangue para avaliação de parâmetros bioquímicos; e 3) questionário socioeconômico para identificação de potenciais fatores de risco.

No início (D1), no meio (D180) e ao término do estudo (D360) serão utilizadas ferramentas não invasivas para abordagem prática da dor, como as “escalas de dor”. Estas escalas permitem a quantificação e o seguimento da dor, como por exemplo a Escala Visual Analógica (EVA), com três escores de dor (leve, moderada e intensa) e a Escala Faces de Dor (EFD). Outro teste não invasivo a ser aplicado nos 3 momentos (D1, D180 e D360) do estudo é um exame musculoesquelético conhecido como “sinal de prece” - incapacidade de opor uma mão espalmada à outra com os punhos em dorsiflexão - que avalia a integridade de fibras finas e funciona, também, como indicativo da presença de ND no pé.

Todos os participantes do estudo (de ambos os grupos) serão submetidos a 3 momentos de coleta de sangue (D1, D180 e D360) para avaliação bioquímica dos parâmetros de interesse da pesquisa, sendo eles: hemograma completo, lipidograma completo, ureia, creatinina, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, marcadores inflamatórios (IL-6, IL-1B e IL-10) e marcadores de estresse oxidativo (SOD - Superoxidodismutase e MDA - Malondialdeído). Através de PCR, Teste Elisa e ensaio de luminescência dependente de luminol, estes valores serão comparados intragrupo, nos três momentos supracitados da pesquisa.

Será aplicado questionário socioeconômico no início do estudo para a identificação de possíveis fatores de risco para o DM e a PND bem como de variáveis que possam interferir no acesso a cuidados de saúde, gerando assim, informações que colaborem para a realização de intervenções de saúde direcionadas e apropriadas às características do grupo em questão.

Critérios de elegibilidade

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Nº	DESCRIÇÃO DO CRITÉRIO DE INCLUSÃO	DESCRIÇÃO DO MÉTODO/INSTRUMENTO E DO PROTOCOLO DE AFERIÇÃO DO CRITÉRIO DE INCLUSÃO
1	Indivíduos com DM2	Prontuário médico.
2	Idade entre 40 e 75 anos	Ficha cadastral e documento de identidade.
	Sintomáticos leve a moderado	Avaliação clínica da médica endocrinologista.
3	Paciente compensado ou descompensado.	De acordo com alterações sanguíneas (simultâneas ou não) em relação às taxas de triglicérides (> 150 mg/dL), hemoglobina glicada média (HbA1c) $> 6,7\%$ e glicemia (> 100 mg/dL).
4	Obeso ou não	Avaliação antropométrica (peso, altura, IMC)
5	Portador de neuropatia dolorosa (ND)	Teste físico com palito japonês e monofilamento de Nylon

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Serão excluídos indivíduos com DM2 sem ND, pessoas com distúrbios que possam interferir na avaliação neurológica, incluindo neuropatias de qualquer causa que não seja diabetes (por exemplo, deficiência de vitamina B12, neuropatia periférica induzida por quimioterapia, amiloidose ou polineuropatia alcoólica).

Número estimado de pessoas que serão convidadas a participar do estudo para alcançar o número efetivo de 100 participantes no estudo

120 pessoas

Métodos estatísticos

Inicialmente será realizada uma análise descritiva e exploratória dos dados. Para variáveis quantitativas serão obtidas as medidas de tendência central (média e mediana) e dispersão (desvio padrão). Para variáveis categóricas serão calculadas a frequência e percentual referente a cada categoria.

Para a comparação dos dados do grupo ao longo do tempo serão utilizados testes pareados e as comparações múltiplas também pareadas a depender da distribuição dos dados para escolha do teste adequado.

Variáveis com distribuição Normal serão comparadas pelos testes T ou Anova e aquelas com distribuição Não Normal serão comparadas pelos testes de Wilcoxon ou Kruskal Wallis, à depender do número de indivíduos analisados. Para variáveis categóricas, nas quais serão avaliadas as diferenças entre proporções, será utilizado o teste do qui-quadrado ou Monte Carlo, cada um seguindo os pressupostos necessários à sua utilização.

Serão consideradas associações estatisticamente significativas aquelas, cujo valor p for inferior ou igual a 0,05. As análises estatísticas serão realizadas utilizando o programa Stata® (version 14.0, Stata Corporation, College Station, TX, USA).

Coleta e monitoramento dos dados

O monitoramento das atividades será realizado por meio de imagens, relatórios, registros, prontuários de atendimentos, participação dos usuários em pesquisas e oficinas de intervenção.

Ao longo do estudo serão realizadas, pela nutricionista (estudante de doutorado), oficinas, palestras, dinâmicas em grupo e outras técnicas de educação alimentar visando o aconselhamento nutricional para todos os 50 pacientes que aceitaram participar do projeto. No início (D1) e ao término do estudo (D180) também serão utilizadas ferramentas não invasivas para abordagem prática da dor, como as “escalas de dor”. Estas escalas permitem a quantificação e o seguimento da dor, como por exemplo a Escala Visual Analógica (EVA) (**Figura 1**), com três escores de dor (leve, moderada e intensa); a Escala Faces de Dor (EFD) (**Figura 2**) e a Escala visual/verbal numérica, que vai de 0 (zero - nenhuma dor) a 10 (dez - pior dor possível) (**Figura 3**). Em um estudo transversal, que estimou a prevalência e gravidade da neuropatia periférica dolorosa crônica (NPPC) em pessoas com diabetes, Daousi *et al.*

(2004) compararam as pontuações na E.V.A. de pessoas com e sem diabetes em uma comunidade. Os resultados mostraram que os indivíduos diabéticos com NPPC apresentaram pontuações significativamente mais altas na EVA para dor. Outro teste não invasivo a ser aplicado no início (D1) e término (D180) do estudo é um exame musculoesquelético conhecido como “sinal de prece” - incapacidade de opor uma mão espalmada à outra com os punhos em dorsiflexão (**Figura 4**) - que avalia a integridade de fibras finas e funciona, também, como indicativo da presença de ND no pé.

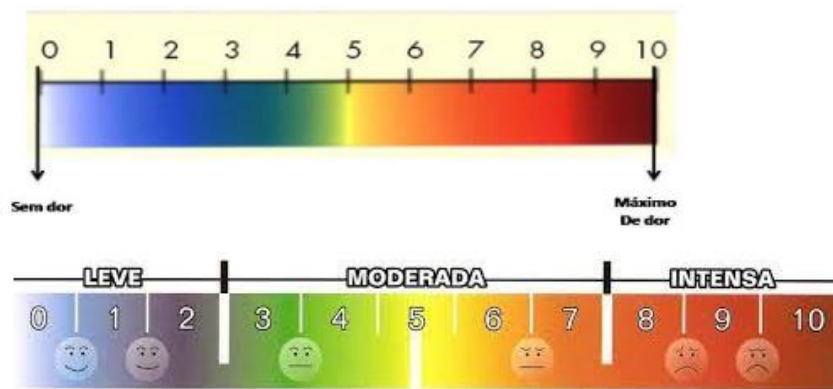


Figura 1. Escala Visual Analógica (EVA).

Fonte: FORTUNATO, *et al.*, 2013.

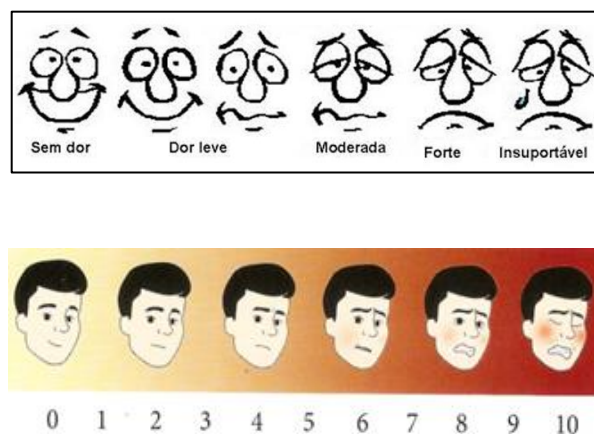


Figura 2. Escala Faces de Dor (EFD).

Fonte: Adaptado de FORTUNATO, *et al.*, 2013.

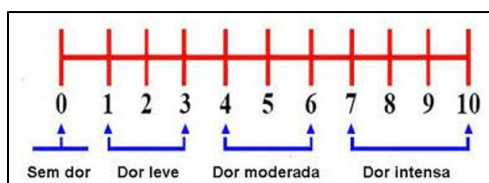


Figura 3. Escala visual/verbal numérica.

Fonte: FORTUNATO, et al., 2013.



Figura 4. Sinal de Prece.

Fonte: SILVA E SKARE, 2012.

Todos os participantes do estudo serão submetidos a 3 momentos de coleta de sangue (D1, D90 e D180) para avaliação bioquímica dos parâmetros de interesse da pesquisa, sendo eles: Hemograma completo, lipidograma completo, ureia, creatinina, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, marcadores celulares (citocinas) IL 1 Beta, IL-6, TNF alfa, IL-10, ROS, Radicais Livres, NADPH oxidase, monoaminoxidase e expressão gênica. Através de PCR, Teste Elisa e com o uso de um luminômetro, estes valores serão comparados intra e intergrupos, comparados no início, meio e fim da pesquisa.

O estudo será realizado de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque. O consentimento informado será obtido de todos os pacientes elegíveis, os procedimentos envolvidos serão totalmente explicados.

Este estudo prospectivo, permitirá avaliar se o extrato de própolis verde brasileira pode controlar ou melhorar a ND e, possivelmente, prevenir a disfunção neuropática, haja vista o efeito hipogliceminate esperado no Grupo Intervenção. Já foi comprovado que a redução da hiperglicemia em pessoas vivendo com DM2 ou a quase normoglicemia de longo prazo

mantida desde o diagnóstico de diabetes previne a disfunção neuropática. No presente trabalho, a normoglicemia mantida ao longo dos 6 meses de intervenção será associada a uma prevenção do declínio da função nervosa periférica e autonômica relacionada à hiperglicemia e ao desenvolvimento de polineuropatia clínica confirmada. O grupo que não receberá as cápsulas de própolis (Grupo Controle) servirá de base comparativa nas análises estatística de eficácia do suplemento.

Os resultados deste estudo podem fornecer uma base para o desenho de futuros ensaios clínicos de longo prazo destinados à prevenção da neuropatia diabética.

Critério de eleição

Para ambos os grupos, serão elegíveis indivíduos com DM2, com idade entre 40 e 75 anos, sintomáticos leve a moderado, obesos ou não, portadores ou não de ND, ditos “descompensados” de acordo com alterações sanguíneas (simultâneas ou não) em relação às taxas de triglicérides (> 150 mg/dL), hemoglobina glicada média (HbA1c) $> 6,7\%$ e glicemia (> 100 mg/dL). Serão excluídas pessoas com distúrbios que possam interferir na avaliação neurológica, incluindo neuropatias de qualquer causa que não seja diabetes (por exemplo, deficiência de vitamina B₁₂, neuropatia periférica induzida por quimioterapia ou polineuropatia alcoólica).

Os pacientes serão recrutados e encaminhados pela Endocrinologista responsável pelo Ambulatório de ND do Centro de Especialidade Médicas - CEM da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte, Dra. Maria Regina Calsolari. A alocação de pacientes em dois grupos que diferem acentuadamente no que diz respeito ao grau de controle glicêmico só poderá ser feita ao longo da alocação do estudo.

Ética e divulgação

O ensaio será submetido ao Comitê de Ética - CEP da Santa Casa de Misericórdia de Belo Horizonte e os resultados dos testes serão publicados em periódicos, resumos de conferências e na mídia impressa e on-line.

Referências Bibliográficas

AFKHAMIZADEH, M.; ABOUTORABI, R.; RAVARI, H. *et al.* Topical propolis improves wound healing in patients with diabetic foot ulcer: a randomized controlled trial. **Nat Prod Res.**; 32:2096-2099, 2018.

AFSHARPOUR, F.; JAVADI, M.; HASHEMIPOUR, S.; KOUSHAN, Y.; HAGHIGHIAN, H. K. Propolis supplementation improves glycemic and antioxidant status in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Complement Ther Med.**; 43:283-288, 2019.

ALENCAR, S. M.; OLDONI, T. L. C.; CASTRO, M. L.; CABRAL, I. S. R.; COSTA, NETO, C. M.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L.; IKEGAKI, M. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. **Journal of Ethnopharmacology**; 2007.

American Diabetes Association, American Academy of Neurology Report and recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy Consensus Statement. **Diabetes Care**; 11:592-7, 1988.

American Diabetes Association and American Academy of Neurology. Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy. **Diabetes Care**; 15:1080-1107, 1992.

BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; MARCUCCI, M. C. Própolis: avanços recentes na química e na origem vegetal. **Apidologie**; 31(1):3-15, 2000.

BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S. Avanços recentes na pesquisa farmacológica da própolis. **Pesquisa fitoterápica**; 15(7):561-571, 2001.

BAYNES, J.W. Papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de complicações no diabetes. **Diabetes**; 40(4): 405-412, 1991.

BERRETA, A. A. Processo de obtenção do extrato padronizado de própolis, extrato assim obtido, suas formulações, produtos e usos. **Revista de Propriedade Industrial**; 1778:0405483-0, 2005.

BERRETTA, A. A.; DO NASCIMENTO, F. R. Brazilian green propolis: anti-inflammatory property by an immunomodulatory activity. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012:157652, 2012.

BERRETTA, A. A.; SILVEIRA, M. A. D.; CAPCHA, J. M. C.; DE JONG, D. Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease: Running title: Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19. **BIOMED Pharmacother**; 131:110622, 2020.

BOULTON, A.J.; MALIK, R. A.; AREZZO, J. C.; SOSENKO, J. M. Diabetic somatic neuropathies. **Diabetes Care**; 27:1458-1486, 2004.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**; 414:813-20, 2001.

CALLAGHAN, B. C.; KERBER, K. A.; LISABETH, L. L. *et al.* Role of neurologists and diagnostic tests on the management of distal symmetric polyneuropathy. **JAMA Neurol.**;71(9):1143-1149, 2014.

CHEN, A. S.; TAGUCHI, T.; SUGIURA, M.; WAKASUGI, Y.; KAMEI, A.; Wang, M. W. *et al.* Pyridoxal- aminoguanidine adduct is more effective than aminoguanidine in preventing neuropathy and cataract in diabetic rats. **Horm. Met. Res.**; 36(3):183-187, 2004.

CUSINATO, D. A. C; MARTINEZ, E. Z, CINTRA, M. T. C.; FIGUEIRA, G. C. O.; BERRETTA, A. A.; LACHOTE, V. L.; COELHO, E. B. Evaluation of potential herbal-drug interactions of a standardized propolis extract (EPP-AF®) using an *in vivo* cocktail approach. **Journal of Ethnopharmacology**; 245:112174, 2019

DAOUSI, C.; MACFARLANE, I. A.; WOODWARD, A.; NURMIKKO, T. J.; BUNDRED, P. E.; BENBOW, S. J. Chronic painful peripheral neuropathy in an urban community: a controlled comparison of people with and without diabetes. **Diabet Med.**; 21(9):976-82, 2004.

DE BARROS, M. P.; SOUSA, J. P. B.; BASTOS, J. K.; DE ANDRADE, S. F. Efeito da própolis verde brasileira em úlceras gástricas experimentais em ratos. *Journal of Ethnopharmacology*; 110(3):567–571, 2007.

DINIZ, D. P.; LORENCINI, D. A.; BERRETTA, A. A.; CINTRA, M. A. C. T.; LIA, E. N.; JORDÃO, A.A. JR; COELHO, E. B. Antioxidant Effect of Standardized Extract of Propolis (EPP-AF®) in Healthy Volunteers: A "Before and After" Clinical Study. **Evid Based Complement Alternat Med**; 16:7538232, 2020.

EL-MAKAKY, Y.; SHALABY, H. K. The effects of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in diabetic patients: a randomized controlled trial. **Oral Dis.**; 26:822–839, 2020.

EL-SHARKAWY, H. M.; ANEES, M. M.; VAN DYKE, T. E. Propolis improves periodontal status and glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis: a randomized clinical trial. **J Periodontol**; 87:1418–1426, 2016.

FELDMAN, E.L.; CALLAGHAN, B. C.; POP-BUSUI, R.; ZOCHODNE, D.W.; WRIGHT, D. E.; BENNETT, D. L. *et al.* Diabetic neuropathy. **Nat Rev Dis Primers**; 5(1):1-18, 2019.

FELDMAN, E. L.; NAVE, K. A.; JENSEN, T. S.; BENNETT, D. L. H. New horizons in diabetic neuropathy: Mechanisms, bioenergetics, and pain. **Neuron.**; 93(6):1296–1313, 2017.

FIGUEIREDO, S. M. *et al.* Immunomodulatory Properties of Green Propolis. **Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.**; 8(2):1-10, 2014.

FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T. Imunomodulação pela própolis. **Arquivos do Instituto Biológico**; 75(2), 247-253, 2008.

FORTUNATO, J. G. S.; FURTADO, M. S.; HIRABAE, L. F. A. *et al.* Escalas de dor no paciente critico: uma revisão integrativa. Rio de Janeiro. **Ver. HUPE**; 12(3):110-117, 2013.

FUKUDA, T.; FUKUI, M.; TANAKA, M.; SENMARU, T.; IWASE, H.; YAMAZAKI, M.; AOI, W.; INUI, T.; NAKAMURA, N.; MARUNAKA, Y. Effect of Brazilian green propolis in

patients with type 2 diabetes: A double-blind randomized placebo-controlled study. **Biomed Rep.**; 3(3):355-360, 2015.

GAO, W.; PU, L.; WEI, J.; YAO, Z.; WANG, Y.; SHI, T.; ZHAO, L.; JIAO, C.; GUO, C. Serum Antioxidant Parameters are Significantly Increased in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus after Consumption of Chinese Propolis: A Randomized Controlled Trial Based on Fasting Serum Glucose Level. **Diabetes Ther.**; 9(1):101-111, 2018.

HEGAZI, A. G.; HADY, F.; ALLAH, F. Composição química e atividade antimicrobiana da própolis europeia. **Zeitschrift für Naturforschung**; 55:70-75, 2000.

International Diabetes Federation (IDF). Atlas de Diabetes – 10ª Edição. 2021. <<https://idf.org/about-diabetes/what-is-diabetes/>> Acesso em 28 de Abril de 2023.

JENSEN, T. S.; KARLSSON, P.; GYLFAÐOTTIR, S. S.; ANDERSEN, S. T.; BENNETT, D. L.; TANKISI, H.; FINNERUP, N. B.; TERKELSEN, A. J.; KHAN, K.; THEMISTOCLEOUS, A. C.; KRISTENSEN, A. G.; ITANI, M.; SINDRUP, S. H.; ANDERSEN, H.; CHARLES, M.; FELDMAN, E. L.; CALLAGHAN, B. C. Painful and non-painful diabetic neuropathy, diagnostic challenges and implications for future management. **Brain**; 144:1632-1645, 2021.

KHAYYAL, M. T.; ELGHAZALY, M. A.; ELKHATIB, A. S. Mechanisms involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. **Drugs Under Experimental and Clinical Research**; 19:197-203, 1993.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**; 84:329-39, 2004.

MACHADO, J. L.; ASSUNÇÃO, A. K.; DA SILVA, M. C.; DOS REIS, A. S.; COSTA, G. C.; ARRUDA, D. D. E. S.; ROCHA, B. A.; VAZ, M. M.; PAES, A. M.; GUERRA, R. N.;

MARCUCCI, M. C.; RODRIGUEZ, J.; FERRERES, F.; BANKOVA, V.; GROTO, R.; POPOV, S. Chemical composition of Brazilian propolis from São Paulo state. **Zeitschrift für Naturforschung**; 53c(1): 117-119, 1998.

NAGAI, T. *et al.* Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. **Food Chemistry**; 80:29-33, 2003.

NEIVA, K. G. *et al.* Propolis decreases lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in pulp cells and osteoclasts. **Dental Traumatology: Official Publication of International Association for Dental Traumatology**; 30(5):362–367, 2014.

NEUMANN, C.; SCHMID, H. Relationship between the degree of cardiovascular autonomic dysfunction and symptoms of neuropathy and other complications of diabetes mellitus. **Braz J Med Biol Res.**; 28:751-7, 1995.

ORSOLIC, N.; BASIC, I. Imunomodulação por derivado hidrossolúvel da própolis: fator de reatividade antitumoral. **Jornal de Etnofarmacologia**; 84(2-3):265-273, 2003.

PARK, Y. K. *et al.* Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. **Current Microbiology**; 36(1):24-28, 1998.

PARK, Y. K.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**; 50(9):2502-2506, 2002.

PARK, Y. K.; PAREDES-GUZMAN, J. F., AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; FUJIWARA, F. Y. Constituintes químicos da *Baccharis dracunculifolia* como principal origem botânica da própolis do sudeste brasileiro. **Jornal de química agrícola e alimentar**; 52(5): 1100-1103, 2004.

POP-BUSUI, R.; BOULTON, A. J. M.; FELDMAN, E. L. *et al.* Diabetic neuropathy: a position statement by the American diabetes association. **Diabetes Care**; 40(1):136-154, 2017.

SAMADI, N.; MOZAFFARI-KHOSRAVI, H.; RAHMANIAN, M.; ASKARISHAHI, M. Effects of bee propolis supplementation on glycemic control, lipid profile and insulin resistance indices in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind clinical trial. **Journal of Integrative Medicine**; 15(2):124-134, 2017.

SCHMIDT, R. E.; DORSEY, D. A.; BEAUDET, L. N.; PLURAD, S. B.; WILLIAMSON, J. R.; IDO, Y. Effect of sorbitol dehydrogenase inhibition on experimental diabetic autonomic neuropathy. **J Neuropathol Exp Neurol**; 57(12):1175-89, 1998.

SCHMID, H.; FORMAN, L.; SHERMAN, P.; STEVENS, M. Heterogeneous cardiac sympathetic denervation and decreased myocardial nerve growth factor in streptozotocin diabetic rats implications for cardiac sympathetic dysinnervation complicating diabetes. **Diabetes**; 48:603-8, 1999.

SHIMAZAWA, M.; CHIKAMATSU, S.; MORIMOTO, N.; MISHIMA, S.; NAGAI, H.; HARA, H. Neuroproteção pela própolis verde brasileira contra dano neuronal isquêmico *in vitro* e *in vivo*. **Medicina Complementar e Alternativa Baseada em Evidências**; 2:201-207, 2005.

SILVA, M. B. G.; SKARE, T. L. Manifestações musculoesqueléticas em diabetes mellitus. *Rev. Bras. Reumatol.*; 52(4), 2012.

SILVEIRA, M. A. D. *et al.* Effects of Brazilian green propolis on proteinuria and renal function in patients with chronic kidney disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **BMC Nephrology**; 20(1):140, 2019.

SILVEIRA, M. A. D. *et al.* Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF[®]) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. **Biomedicine & Pharmacotherapy**; 138:111526, 2021.

TELES, T.; DA SILVA, T. M.; DA CRUZ, F. P.; HONORATO, V. H.; DE OLIVEIRA, COSTA, H.; BARBOSA, A. P. F.; DE OLIVEIRA, S. G.; PORFIRIO, Z.; LIBÓRIO, A. B.; BORGES, R. L.; FANELI, C. Brazilian red propolis attenuates hypertension and renal damage in 5/6 renal ablation model. **PLoS One**; 10:1–15, 2015.

TESFAYE, S. Diabetic Neuropathy. Oxford Diabetes Library, 2009.

THOMAS, P. K. Classification of the diabetic neuropathies. In: GRIES, F. A.; CAMERON, N. E.; LOW, P. A.; ZIEGLER, D. Textbook of Diabetic Neuropathy; **Thieme**, 2003.

VINIK, A. I.; MASER, R. E.; MICHELL, B. D.; FREEMAN, R. Diabetic autonomic neuropathy. **Diabetes Care**; 26(5):1553-79, 2003.

WAJCHENBERG, B. L. Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus. **Arq Bras Endocrinol Metab.**; 46 (5), 2002.

YANG, K.; WANG, Y.; LI, Y-W. *et al.* Progress in the treatment of diabetic peripheral neuropathy. **Biomed Pharmacother**; 148:112717, 2022.

ZHAO, L.; PU, L.; WEI, J.; LI, J.; WU, J.; XIN, Z.; GAO, W.; GUO, C. Brazilian Green Propolis Improves Antioxidant Function in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. **Int J Environ Res Public Health**; 13(5):498, 2016.