

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 23/08/2022.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



PG-BGA

EFEITO IMUNOMODULADOR DA GEOPRÓPOLIS ASSOCIADA À DEXAMETASONA SOBRE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO

MARIANA DA SILVA HONORIO

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ MAURÍCIO SFORCIN

COORIENTADORA: DR^a. KARINA BASSO SANTIAGO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: Biomoléculas – Estrutura e Função.

BOTUCATU – SP

2022



unesp

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



PG-BGA

EFEITO IMUNOMODULADOR DA GEOPRÓPOLIS ASSOCIADA À DEXAMETASONA SOBRE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO HUMANO

MARIANA DA SILVA HONORIO

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ MAURÍCIO SFORCIN

COORIENTADORA: DR^a. KARINA BASSO SANTIAGO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, para a obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração: Biomoléculas – Estrutura e Função.

BOTUCATU – SP

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Honorio, Mariana da Silva.

Efeito imunomodulador da geoprópolis associada à dexametasona sobre células do sangue periférico humano / Mariana da Silva Honorio. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Maurício Sforcin
Coorientador: Karina Basso Santiago
Capes: 21100004

1. Geoprópolis. 2. Abelha - Produtos. 3. Dexametasona.
4. Imunomodulação. 5. Leucócitos mononucleares.
6. Inflamação.

Palavras-chave: Geoprópolis; Imunomodulação; Inflamação; PBMC.

Agradecimentos

Aos meus pais, Ana Maria da Silva Honorio e Ailton José Honorio, por sempre incentivarem e apoiarem os meus estudos e as minhas escolhas.

Aos meus tios, Adenilda Cristina Honorio França e Eduardo Luzia França, por me influenciarem no caminho da pesquisa e no amor pela ciência.

À minhas irmãs, Patrícia da Silva Antunes, Danielle Cristina Honorio França e Emanuelle Carolina Honorio França, e aos demais familiares, por acreditarem em mim e sempre estarem ao meu lado me incentivando a ser uma pessoa melhor.

Às minhas amigas Jaqueline Gracielle da Silva e Heloana Muniz Viana por todo carinho, incentivo e amizade mesmo de longe.

Aos demais amigos que estiveram ao meu lado nos últimos anos me apoiando, e aconselhando a sempre seguir em frente.

A meu orientador, José Maurício Sforcin, pela confiança em me oferecer a oportunidade de fazer parte de uma ótima equipe. E por todo apoio e conhecimento compartilhado ao longo do desenvolvimento deste trabalho, que me levaram ao crescimento científico e pessoal.

À minha co-orientadora Karina Basso Santiago, e os demais membros do laboratório, Arthur, Eliza, Fernanda, Karen e Nicolas, por todo auxílio na pesquisa, os ensinamentos e momentos de descontração na rotina de laboratório.

Ao professor William Zambuzi, e à Dra. Geórgia Feltran por todo apoio no desenvolvimento da pesquisa.

Ao departamento de Ciências Químicas e Biológicas por toda a infraestrutura, e pelos alunos e docentes que fazem parte do nosso dia-a-dia.

Ao Programa Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada por toda ajuda fornecida na resolução de dúvidas durante esses 2 anos de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado concedida (2019-2022).

“O COMEÇO DE TODAS AS CIÊNCIAS É O ESPANTO DE AS COISAS SEREM O QUE SÃO”

(ARISTÓTELES)

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Definição por extenso	Em inglês
CNM	Cinamoiloxi-mammeisina	Cinnamoyloxy-mammeisin
COX	Ciclo-oxigenase	Cyclooxygenase
DMSO	Dimetilsulfóxido	Dimethylsulfoxide
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática	Enzyme-linked immunosorbent assay
ERK	Cinase regulada por fatores extracelulares	Extracellular signal-regulated kinase
HLA	Antígeno leucocitário humano	Human leukocyte antigen
IKB α	Proteína inibitória kappa B alpha	I kappa B alpha
IL	Interleucina	Interleukin
LPS	Lipopolissacárideo	Lipopolysaccharide
LTB4	Leucotrieno B4	Leukotriene B4
MAPK	Proteína cinase ativada por mitógenos	Mitogen-activated protein kinase
MTT	Brometo de 3-4,5 dimetil-tiazol-2-il-2,5 difeniltetrazólio	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide
NF- κ B	Fator nuclear kappa B	Nuclear factor kappa B
NK cells	Células exterminadoras Naturais	Natural killer cells
PAMP	Padrão molecular associado ao patógeno	Pathogen associated molecular pattern
PBMC	Células mononucleares do sangue periférico	Peripheral blood mononuclear cells
PBS	Salina tamponada com Fostato	Phosphate buffered saline
PGE2	Prostaglandina E2	Prostaglandin E2
RPMI	Meio Roswell Park Memorial Institute	Roswell Park Memorial Institute
TLR	Receptor Toll-símile	Toll-like receptor
TMB	3,3',5,5'Tetrametilbenzidina	3,3',5,5'-Tetrametilbenzidine
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa	Tumor necrosis factor alpha

RESUMO

A resposta inflamatória pode ser desencadeada por inúmeros estímulos e condições nocivas, podendo ser aguda ou crônica. Diferentes intervenções terapêuticas têm sido avaliadas para tratamento do processo inflamatório, devido à sua complexidade e diversidade de células e mediadores fisiológicos envolvidos. Neste contexto, o uso de produtos naturais tem propiciado o surgimento de terapias alternativas ou descoberta de novos medicamentos com ação anti-inflamatória. A geoprópolis (GEO) é um produto elaborado por abelhas sem ferrão (meliponíneos) e apresenta diversas propriedades biológicas. O presente trabalho foi delineado visando avaliar o possível sinergismo entre a geoprópolis e o fármaco anti-inflamatório dexametasona (DEX) em células mononucleares do sangue periférico humano (PBMC) estimuladas com lipopolissacarídeo (LPS). A viabilidade de PBMCs foi avaliada pelo método do MTT, apoptose/necrose por citometria de fluxo, a produção de citocinas e eicosanoides por ELISA e a expressão de vias intracelulares por RT-qPCR. Os tratamentos isolados e sua combinação não afetaram a viabilidade celular e apresentaram efeito inibitório na produção de citocinas (TNF- α , IL-1 β e IL-10). Os tratamentos não induziram alterações biologicamente relevantes na produção de leucotrieno B₄ e na expressão das vias do NF- κ B e p38 MAPK. Pode-se concluir que a combinação GEO + DEX, apesar de nem sempre se apresentar mais eficiente do que os tratamentos isolados, parece promissora e sua utilização permitiria uso da DEX em menores concentrações, diminuindo os efeitos adversos causados pelo tratamento contínuo com este anti-inflamatório, principalmente em células envolvidas na resposta imune.

Palavras-chave: inflamação; PBMC; imunomodulação; geoprópolis.

IMMUNOMODULATORY EFFECT OF GEOPROPOLIS ASSOCIATED WITH DEXAMETASONE ON MONONUCLEAR CELLS OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD

ABSTRACT

The inflammatory response can be triggered by numerous stimuli and harmful conditions and can be acute or chronic. Different therapeutic interventions have been evaluated for the treatment of the inflammatory process, due to its complexity and diversity of cells and physiological mediators involved. In this context, the use of natural products has led to the emergence of alternative therapies or the discovery of new drugs with anti-inflammatory action. Geopropolis (GEO) is a product made by stingless bees (meliponineos) and has several biological properties. The present work was designed to evaluate a possible synergism between GEO and the anti-inflammatory drug dexamethasone (DEX) in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) stimulated by lipopolysaccharide (LPS). PBMCs viability was evaluated by the MTT method, apoptosis/necrosis by flow cytometry, cytokines and eicosanoids production by ELISA and intracellular pathways by RT-qPCR. The isolated treatments and their combination did not affect cell viability and inhibited cytokines production (TNF- α , IL-1 β and IL-10). The treatments did not induce biologically relevant alterations in leukotriene B4 production and in NF- κ B and p38 MAPK pathways. One may conclude that the combination GEO + DEX, despite not always being more efficient than the isolated treatments, seems promising and would allow the use of DEX in lower concentrations, reducing adverse effects caused by the continuous treatment with this drug, mainly in cells involved in the immune response.

Keywords: inflammation; PBMC; immunomodulation; geopropolis.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	9
3.1.	Obtenção das amostras de geoprópolis.....	18
3.2.	Preparação do extrato hidroalcoólico de geoprópolis e da solução de dexametasona	18
3.3.	Obtenção de PBMCs humanas	19
3.4.	Avaliação da viabilidade celular	19
3.5.	Análise de apoptose e necrose por citometria de fluxo	20
3.6.	Avaliação de vias intracelulares por RT-qPCR.....	21
3.7.	Determinação de citocinas pela técnica de ELISA	22
3.8.	Dosagem de eicosanoides	22
3.9.	Análise estatística	23
4.	RESULTADOS.....	24
4.1.	Viabilidade celular.....	24
4.2.	Apoptose e necrose por citometria de fluxo	25
4.3.	Avaliação de vias intracelulares	25
4.4.	Determinação de citocinas pela técnica de ELISA	26
4.5.	Determinação de Eicosanóides pela técnica de ELISA.....	30
5.	DISCUSSÃO	32
6.	CONCLUSÃO	38
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
	ANEXO 1	45

1. INTRODUÇÃO

A inflamação ou resposta inflamatória pode ser desencadeada por inúmeros estímulos e condições nocivas, tais como agentes patogênicos ou alergênicos, compostos tóxicos ou por lesão tecidual, entre outros. A lógica fisiológica da inflamação induzida por uma infecção é clara, porém, outros tipos de resposta inflamatória são conhecidos apenas em contextos patológicos, como, por exemplo, em doenças autoimunes. Independentemente da causa, a inflamação evoluiu como uma resposta biológica visando restaurar a homeostase e a proteção do indivíduo (MEDZHITOV, 2008; ARULSELVAN *et al.*, 2016; AZAB *et al.*, 2016).

Os efeitos benéficos da resposta inflamatória e seu potencial de lesão tecidual precisam estar em equilíbrio, caso contrário podem ser prejudiciais ao organismo. Trata-se de um importante mecanismo de defesa; entretanto, se não controlado, pode prevalecer seu lado negativo, promovendo diversas condições patológicas, tais como asma, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, entre outras (SIMMONS, 2006).

A inflamação pode ser classificada em aguda ou crônica. A inflamação aguda compreende a primeira resposta à lesão celular e tecidual, e foi melhor caracterizada em infecções microbianas (particularmente bacterianas), durando de poucos minutos a poucos dias. Sua principal característica é a presença de certos mediadores no plasma e influxo de leucócitos no sítio inflamatório (ARULSELVAN *et al.*, 2016). O processo inflamatório agudo é iniciado pela migração de células do sistema imunológico, tais como neutrófilos, monócitos, macrófagos, basófilos, mastócitos, eosinófilos, células dendríticas, levando à produção e liberação de uma ampla variedade de mediadores inflamatórios, incluindo quimiocinas, citocinas, aminas vasoativas, eicosanoides e produtos de cascatas proteolíticas, bem como ativação de fatores de transcrição. O principal e mais imediato efeito desses mediadores é provocar um exudato inflamatório local (MEDZHITOV, 2008; ANDRADE *et al.*, 2017).

Localmente, a inflamação caracteriza-se pelos sinais cardinais como edema, calor, rubor, dor e perda da função, ocasionando frequentemente destruição tecidual, porém, transitória, havendo posteriormente a regeneração ou cicatrização da área afetada (MEDZHITOV, 2008; FRANCESCHI & CAMPISI, 2014; FOUGÈRE *et al.*, 2016).

A partir da fase aguda pode ocorrer a cronicidade do processo com a não eliminação

do agente agressor e persistência da liberação de mediadores que causam sensibilização de nociceptores ou sua ativação, estabelecendo a dor, que é a principal queixa de portadores de doenças inflamatórias, além de possivelmente ocorrer a perda de função (FRANCESCHI & CAMPISI, 2014).

A inflamação crônica pode ocorrer, por exemplo, quando não há resolução quanto à eliminação de agentes infecciosos e resistência dos mesmos aos mecanismos de defesa do hospedeiro, ou em resposta a corpos estranhos não removidos, exposição química contínua, entre outros fatores (ARULSELVAN *et al.*, 2016). A inflamação crônica, bem como sua gravidade e progressão, está relacionada à persistência na produção de citocinas pró-inflamatórias e desencadeamento de lesões. Entre elas, a IL-18 é considerada como importante determinante do grau de severidade das doenças, principalmente nos processos crônicos (LI *et al.*, 2019).

Há vários mecanismos que operam para encerrar o processo inflamatório e iniciar a remodelação do tecido, chamados coletivamente de resolução inflamatória. Tal resolução é mediada por eicosanoides anti-inflamatórios, como lipoxinas e maresinas (SERHAN & LEVY, 2018).

As citocinas podem atuar perpetuando ou atenuando a resposta inflamatória de acordo com o microambiente no qual se encontram, atuando como pró-inflamatórias ou anti-inflamatórias, respectivamente. Alguns exemplos de citocinas pró-inflamatórias são: interleucina (IL)-1 β , IL-2, IL-6, IL-7 e fator de necrose tumoral (TNF)- α , além de mediadores como a histamina, cininas, fatores de coagulação, fatores de complemento, óxido nítrico, prostaglandinas e leucotrienos, que também são considerados pró-inflamatórios. As citocinas anti-inflamatórias incluem: IL-4, IL-10, IL-13 e fator transformador de crescimento (TGF)- β . Além disso, também são considerados notáveis mediadores anti-inflamatórios os glicocorticoides (TURNER *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2017).

Outras citocinas também importantes no processo inflamatório são a IL-18 e a IL-33, consideradas membros da família da IL-1. A IL-18, assim como a IL-1, é sintetizada como precursora inativa e é ativada após clivagem enzimática pela caspase-1. A IL-33 está envolvida na dor durante a resposta inflamatória. A liberação de sua forma bioativa funciona como um “gatilho” inflamatório, agindo de forma autócrina e parácrina, e sua sinalização ocorre através da via do receptor ST2 (ALENCAR *et al.*, 2005).

Outros mediadores são essenciais na resposta inflamatória, como o ácido

araquidônico, que é um ácido graxo poli-insaturado associado a fosfolipídios de membranas celulares. Os fosfolipídios liberam o ácido araquidônico em resposta à enzima fosfolipase A2, a qual é ativada após uma série de estímulos fisiológicos, farmacológicos e patológicos. O ácido araquidônico, por sua vez, pode originar mediadores importantes através de duas vias enzimáticas distintas. A ação da ciclo-oxigenase (COX) sobre o ácido araquidônico origina metabólitos como os eicosanoides, que são as prostaglandinas e tromboxanos, e os leucotrienos são gerados a partir da lipoxigenase (ALENCAR *et al.*, 2005).

As prostaglandinas participam de diversos processos fisiológicos e patológicos, tais como vasodilatação ou vasoconstrição, hiperalgesia, contração ou relaxamento da musculatura lisa, hipotensão, entre outros (ALENCAR *et al.*, 2005). A prostaglandina E2 (PGE2) é uma das formas mais estudadas tanto em condições fisiológicas como patológicas (AZAB *et al.*, 2016). A PGE2 é um mediador lipídico produzido em condições fisiológicas, mas que tem sua produção aumentada quando ocorre uma infecção ou inflamação, e seu acúmulo excessivo no organismo pode provocar imunossupressão intensa, podendo contribuir para a inflamação crônica e potencialmente progredir para diversas patologias, tais como câncer, artrite reumatoide e aterosclerose (FAUDZI *et al.*, 2019).

Os leucotrienos são mediadores lipídicos envolvidos na resposta imune/inflamatória e em várias doenças, como asma e aterosclerose. O leucotrieno B4 (LTB4) é um dos mais potentes fatores quimiotáticos para neutrófilos, exercendo um papel crucial na defesa do hospedeiro contra infecções e na ativação de células envolvidas na imunidade inata. Neutrófilos e monócitos produzem LTB4 e são as principais fontes deste mediador no sangue e no sítio inflamatório (KONIG *et al.*, 2019).

Em relação aos fatores de transcrição atuantes na resposta inflamatória, destaca-se o fator nuclear kappa B (NF- κ B), presente em todas as células de mamíferos. Atua regulando a expressão de genes essenciais no processo inflamatório e é ativado através de receptores Toll-like (TLR), que são capazes de reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). Esses receptores são expressos na superfície e no citosol de inúmeras células (REDONDO *et al.*, 2014) e a sinalização de TLRs desencadeia o recrutamento de proteínas, que se ligam a proteínas quinases para finalmente levar à ativação de fatores de transcrição, como o NF- κ B. Estas proteínas são: MyD88, IRAK e TRAF-6 e podem desencadear a ativação das vias JNK e ERK da cascata das MAPKs (proteínas quinases ativadas por mitógeno). Isso induz a ativação dos fatores de transcrição AP-1 (ativador proteico-1) e NF-

kB, resultando na expressão de vários genes diretamente envolvidos na produção de citocinas inflamatórias em resposta à infecção. Após ativação de TLRs, também ocorre aumento na expressão de moléculas coestimuladoras (CD80 e CD86), que são importantes no início da resposta imune adaptativa e também na produção de citocinas (REDONDO *et al.*, 2014).

A p38 MAPK é uma classe de proteínas-quinases que respondem a estímulos como citocinas inflamatórias e espécies reativas de oxigênio (EROs). Sabe-se que a p38 MAPK possui papel importante na inflamação crônica, o que desencadeou crescente interesse na realização de ensaios pré-clínicos e clínicos para a aplicação de inibidores da p38 MAPK em doenças inflamatórias, como artrite reumatoide, asma e doenças neurodegenerativas, o que tem sido considerado um potencial alvo terapêutico (KIM & LEE, 2017).

Durante o processo inflamatório, pode ocorrer a formação do inflamassoma, o qual é um complexo multiproteico intracelular que atua na ativação de enzimas da família cisteína-aspartato proteases (caspases), sendo uma estrutura essencial no reconhecimento de alterações não fisiológicas. Estas alterações podem ser resultado da presença de produtos microbianos, adjuvantes ou alterações no ambiente iônico intra e extracelular. A participação do inflamassoma é evidente em diversas doenças inflamatórias, tais como choque séptico, artrite reumatoide, dor neuropática crônica, gota e epilepsia, cuja atuação é moldada pelo tipo de ativação e influenciada pelo microambiente. O inflamassoma estabelece um envolvimento estreito com a inflamação patológica, pela ativação de vias intracelulares de morte por apoptose, piroptose e necrose, sendo um alvo potencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para doenças de base inflamatória (PAIVA-OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Diferentes intervenções terapêuticas têm sido avaliadas para tratamento do processo inflamatório, devido à sua complexidade e diversidade de mediadores fisiológicos envolvidos. A maneira mais comum compreende o emprego de inibidores da COX (VANE *et al.*, 1998). Vane e colaboradores, em 1971, identificaram o mecanismo de ação dos medicamentos anti-inflamatórios não-esteroidais clássicos, os quais inibem a produção das prostaglandinas através da inibição da COX-1 e da COX-2.

Outra terapia utilizada para o tratamento de doenças de natureza inflamatória ou autoimune inclui os glicocorticoides, que são hormônios sintetizados e secretados pelo córtex da adrenal. Esta classe de hormônios exerce inúmeras ações fisiológicas no organismo quando disponíveis em concentrações basais. Os glicocorticoides geralmente atuam no

metabolismo dos carboidratos, proteínas e gorduras e são secretados em maiores quantidades em situações traumáticas e estressantes. Entretanto, quando as concentrações plasmáticas dos glicocorticóides excedem os valores de normalidade, podem induzir distúrbios metabólicos (LONGUI, 2007).

A dexametasona é um anti-inflamatório esteroide amplamente utilizado na prática clínica, indicado para o tratamento de alergias, inflamações e sintomas de diversos tipos de doenças, como problemas reumáticos e artríticos, de pele, nos olhos, glandulares, pulmonares, sanguíneos e gastrintestinais, em adultos e crianças. É um glicocorticoide de ação prolongada, promovendo supressão do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) por 36 a 72 horas (ANTI *et al.*, 2008). A dexametasona sintética é mais potente que o cortisol e não possui atividade mineralocorticoide, o que a torna um fármaco com menos efeitos colaterais (GUYTON & HALL, 2006). Como exemplo, WANG *et al.* (2019) desenvolveram micelas mistas em nanoescala utilizando lecitina de gema de ovo / glicolato de sódio para encapsular o palmitato de dexametasona (DMP-MMs) e realizar o tratamento da artrite reumatoide, exibindo vantagens no alívio da inflamação articular.

A dexametasona possui a capacidade de estabilizar as membranas lisossomais dos leucócitos, diminuindo a concentração de enzimas liberadas e reduzindo a capacidade dos vasos em responder aos estímulos agressivos. Reduz a expressão endotelial das moléculas de adesão intercelular, fato que dificulta a migração leucocitária em circulação (PETTET *et al.*, 1996), e diminui a angiogênese, a síntese de prostaglandinas e leucotrienos por meio do bloqueio da fosfolipase A2, enzima que promove a liberação do ácido araquidônico na lesão celular (MACEDO & OLIVEIRA, 1998).

Porém, os principais efeitos colaterais da utilização de dexametasona incluem aumento de peso, hipertensão, osteoporose, aumento do apetite, dificuldade na cicatrização de feridas, aumento da suscetibilidade para contrair infecções, fraqueza muscular, úlcera gastrintestinal, hiperglicemia e aumento da necessidade de medicamentos para controle da diabetes. Nestes casos, os glicocorticoides apresentam-se como hormônios diabetogênicos, promovendo aumento da produção hepática de glicose e diminuição da captação periférica deste carboidrato nos tecidos muscular, hepático e adiposo (LONGUI, 2007).

Diante de tais considerações, a busca por novas intervenções terapêuticas para tratamento de portadores de doenças inflamatórias tem sido crescente, principalmente incluindo o uso de produtos naturais ou combinação dos mesmos com fármacos, com o

objetivo de diminuir a concentração causadora dos efeitos colaterais. Dentre os produtos naturais que têm sido investigados quanto ao seu potencial efeito anti-inflamatório, destacam-se os produtos elaborados pelas abelhas, tais como própolis e geoprópolis (GEO).

O uso de produtos apícolas no tratamento e alívio de diversos estados patológicos é uma prática que acompanha a humanidade desde a antiguidade. Nas últimas décadas, muitos trabalhos foram publicados para divulgar e revisar as propriedades da própolis produzida por abelhas do gênero *Apis*.

As abelhas sociais pertencem à família Apidae e encontram-se divididas em duas subfamílias: Apinae, com a espécie mais estudada *Apis mellifera* L., e Meliponinae, conhecidas como abelhas indígenas sem ferrão ou meliponíneos (SILVEIRA *et al.*, 2002).

Os meliponíneos estão distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, já foram identificadas mais de 400 espécies de abelhas nativas, responsáveis pela polinização de grande parte das plantas dos trópicos. O principal interesse na criação de abelhas sem ferrão está no fato de que esta atividade não representa qualquer risco de acidentes com enxames, o que facilita a manipulação bem como a extração de mel e própolis direcionados ao setor comercial (LAVINAS *et al.*, 2019; SOUZA JUNIOR *et al.*, 2019).

As abelhas sociais coletam resinas de diferentes partes de plantas e adicionam secreções mandibulares produzindo a própolis, um material resinoso e balsâmico de composição complexa, contendo 50% de resinas e bálsamos vegetais, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen e 5% de outras substâncias, podendo variar de acordo com a flora da região e subespécie de abelha (BANKOVA *et al.*, 2019).

Diferentemente, para elaboração da geoprópolis, algumas espécies de Meliponinae adicionam terra ou barro à sua composição (LAVINAS *et al.*, 2019; SOUZA; JUNIOR *et al.*, 2019). Neste grupo, encontra-se *Melipona fasciculata* Smith, conhecida popularmente como “a tiúba do Maranhão”, ocorrendo no nordeste da região amazônica, nos estados do Pará, Maranhão e Tocantins (SILVEIRA *et al.*, 2002).

Própolis e geoprópolis são utilizadas para proteger a entrada da colméia, revestir as paredes internas, desinfetar os favos e embalsamar insetos mortos, para manter o ambiente interno asséptico, o que está relacionado com a sua comprovada atividade antimicrobiana (GHISALBERTI, 1979; BURDOCK, 1998; SALATINO *et al.*, 2005).

A partir de trabalhos publicados nas últimas décadas, a própolis produzida por *Apis*

mellifera vem demonstrando uma gama imensa de propriedades biológicas, tais como imunomoduladora (ORSI *et al.*, 2000; SFORCIN, 2007), antitumoral (ORSOLIC & BASIC, 2005), antimicrobiana (MOHAMMADZADEH *et al.*, 2007; LIBÉRIO *et al.*, 2009), antifúngica (MURAD *et al.*, 2002), antioxidante (AHN *et al.*, 2004), hepatoprotetora (BHADAURIA *et al.*, 2008), anti-inflamatória, anestésica, cicatrizante (DOBROWOLSKI *et al.*, 1991), dentre outras.

As atividades biológicas da própolis de *A. mellifera* são atribuídas a diversas classes de compostos químicos, principalmente dos ácidos fenólicos, flavonoides e terpenos (MENEZES, 2005). Porém, essa composição varia de acordo com condições geográficas e origem botânica, havendo maior variabilidade de compostos quando a própolis pertence a regiões tropicais, onde há maior diversidade florística (BANKOVA *et al.*, 2000).

ASGHARPOUR *et al.* (2019) investigaram os efeitos antioxidantes e imunomoduladores do extrato de própolis em macrófagos murinos (RAW 264.7), observando inibição da proliferação celular e redução da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e NO. Além disso, a expressão de COX-2, IL-1 β e IL-6 diminuiu significativamente e tais achados sugeriram os efeitos anti-inflamatórios da própolis.

SILVA *et al.* (2017) demonstraram o potencial anti-inflamatório da própolis vermelha brasileira, verificando inibição na produção de citocinas pró-inflamatórias e diminuição da expressão de genes relacionados ao sistema complemento e à migração de neutrófilos e macrófagos. Este trabalho demonstrou que a própolis vermelha pode ser tão efetiva quanto a dexametasona, mas atuando por diferentes mecanismos de ação.

Com relação à geoprópolis, há relatos de sua utilização empiricamente no tratamento de doenças respiratórias, do trato digestivo, dermatoses e na melhoria do sistema imunológico (FREITAS *et al.*, 2008; JÚNIOR *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2018). Sua composição química também pode variar de acordo com a localização geográfica, flora local, clima, espécies de abelhas, o que pode influenciar suas propriedades biológicas (FERREIRA *et al.*, 2019). Os principais compostos isolados da geoprópolis foram, ácidos graxos, ácidos orgânicos, açúcares, álcoois, esteroides, além de compostos polifenólicos, triterpenos e saponina (SOUZA *et al.*, 2017; DUTRA *et al.*, 2019; SOUZA JUNIOR *et al.*, 2019). Os polifenóis são os principais compostos relacionados à ação anti-inflamatória, além de agirem também como anticarcinogênicos e prevenirem doenças degenerativas, disfunções neurológicas, entre outras (FERREIRA *et al.*, 2019).

A geoprópolis tem sido investigada quanto às suas propriedades antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, antioxidante, antinociceptiva, anti-inflamatória, imunomoduladora e gastroprotetora (SANTOS *et al.*, 2017; DUTRA *et al.*, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2019; SOUZA JÚNIOR *et al.*, 2019). Contudo, ainda são escassos os estudos sobre as atividades farmacológicas da geoprópolis produzida por *Melipona fasciculata*, criada há séculos no Estado do Maranhão pela população indígena para produção de mel. Atualmente, são criadas comercialmente em agrupamentos de colônias, denominados meliponários (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Desde 2003, pesquisadores da área de Produtos Naturais das Universidades Federal e Estadual do Maranhão analisaram algumas de suas atividades biológicas, bem como a sua composição química. GOMES (2005) estudou a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da geoprópolis de tíuba. DUAİLIBE *et al.* (2007) observaram o efeito do bochecho com extrato alcoólico de geoprópolis no número de colônias de *Streptococcus mutans* na saliva de pacientes, atuando como auxiliar no tratamento e na prevenção da cárie. ASSUNÇÃO (2009) evidenciou que o extrato hidroalcoólico de geoprópolis apresentou atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo*. ARAÚJO (2009) analisou os efeitos da administração aguda e subcrônica do extrato hidroalcoólico de geoprópolis em camundongos, observando sua baixa toxicidade quando utilizado oralmente, em doses únicas e altas, e toxicidade hepática em tratamentos subcrônicos.

Em 2010, uma doutoranda (Maria José Abigail Mendes Araújo) trouxe amostras de geoprópolis produzidas no Maranhão ao nosso laboratório, iniciando assim os estudos deste produto em nosso grupo e investigando sua ação antimicrobiana, imunomoduladora e citotóxica contra células HEp-2. Esta amostra foi analisada quimicamente, revelando que seus principais compostos são lupeol, amirinas, ácido anacárdico, dentre outros (ARAÚJO *et al.*, 2015).

Diante do exposto, o presente trabalho foi delineado visando avaliar o possível sinergismo entre a geoprópolis e o fármaco anti-inflamatório dexametasona. A hipótese deste projeto é que a interação entre a geoprópolis e menores concentrações de dexametasona não é tóxica para monócitos humanos e exerce ação anti-inflamatória mais eficiente do que a dexametasona isoladamente. Assim, consideramos justificável a proposta de avaliar os efeitos da geoprópolis em conjunto com a dexametasona sobre estas células, podendo culminar em achados que possam favorecer o tratamento de doenças inflamatórias.

Considerando o consumo de produtos apícolas e meliponícolas por via oral e a distribuição sistêmica de anti-inflamatórios, foram avaliadas células mononucleares do sangue periférico (PBMC, na sigla em inglês), que são células circulantes e amplamente utilizadas em ensaios de imunomodulação e imunofarmacologia.

2. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Avaliar o possível efeito citotóxico e imunomodulador da combinação geoprópolis + dexametasona sobre PBMCs humanas, através da avaliação de vias de sinalização, produção de citocinas e eicosanóides.

Objetivos específicos:

- Verificar o possível efeito citotóxico da geoprópolis associada ou não à dexametasona sobre PBMCs humanas;
- Avaliar, se houver morte, e o tipo de morte após o tratamento com geoprópolis associada ou não à dexametasona, por citometria de fluxo;
- Avaliar a produção de citocinas pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e aquelas envolvidas no inflamassoma (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-18 e IL-33) por ensaio imunoenzimático (ELISA), após incubação de PBMCs com geoprópolis associada ou não à dexametasona;
- Avaliar a produção de prostaglandina E2 e leucotrieno B4, por ensaio imunoenzimático (ELISA);
- Avaliar as vias intracelulares do NF-kB e p38 MAPK por RT-qPCR.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGGARWAL, B.B.; GUPTA, S.C.; KIM, J.H. Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. **Blood**, v. 119, p. 651-65, 2012.
- AHN, M.R.; KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T.; BANG, K.S.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 7286-92, 2004.
- ALENCAR, M.M.A.; ROCHA, M.F.G.; PINHEIRO, D.C.S.N. Inflamação e sua modulação por anti-inflamatórios não esteróides: riscos e benefícios. **Ciência Animal**, v. 15, p. 33-41, 2005.
- ALTER, G.; KAVANAGH, D.; RIHN, S.; LUTEIJN, R.; BROOKS, D.; OLDSTONE, M.; VAN LUNZEN, J.; ALTFELD, M. IL-10 induces aberrant deletion of dendritic cells by natural killer cells in the context of HIV infection. **Journal of Clinical Investigation**, v. 120, p. 1905-13, 2010.
- ANDRADE, SILVA, T.C.; P.B.; PAIVA-MARTINS, F.; VALENTÃO, P.; PEREIRA, D.M. *In vitro* anti-inflammatory and cytotoxic effects of aqueous extracts from the edible sea anemones *Anemonia sulcata* and *Actinia equina*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, p. 653, 2017.
- ANTI, S.M.A.; GIORGI, R.D.N.; CHAHADE, W.H. Anti-inflamatórios hormonais: glicocorticóides. **Einstein**, v. 6, p. S159-65, 2008.
- ARAÚJO, M.J.A.M. **Estudo de parâmetros toxicológicos em animais tratados com própolis e geoprópolis de abelhas nativas do Maranhão**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, UFMA, São Luís, 2009.
- ARAÚJO, M.J.A.M.; BÚFALO, M.C.; CONTI, B.J.; FERNANDES JR. A.; TRUSHEVA, B.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J.M. The chemical composition and pharmacological activities of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in Northeast Brazil. **Journal of Molecular Pathophysiology**, v. 4, p. 12-20, 2015.
- ARULSELVAN, P.; FARD, M.T.; TAN, W.S.; GOTHAI, S.; FAKURAZI, S.; NORHAIZAN, M.E.; KUMAR, S.S. Role of antioxidants and natural products in inflammation. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-15 2016.
- ASGHARPOUR, F.; MOGHADAMNIA, A.A.; MOTALLEBNEJAD, M.; NOURI, H.R. Propolis attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through intracellular ROS and NO levels along with downregulation of IL-1 β and IL-6 expressions in murine RAW 264.7 macrophages. **Journal of Food Biochemistry**, v. 43, p. 12926, 2019.
- ASSUNÇÃO, A.K.M. **Efeito antitumoral do tratamento profilático com extrato hidroalcolico de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith**. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2009.
- AUFFRAY, C.; SIEWEKE, M.H.; GEISSMANN, F. Blood monocytes: development, heterogeneity, and relationship with dendritic cells. **Annual Review of Immunology**, v. 27, p. 669-92, 2009.
- AZAB, A.; NASSAR, A.; AZAB, A.N. Anti-inflammatory activity of natural products. **Molecules**, v. 21, p. 10, 2016.
- BANKOVA, V.B.; CASTRO, S.L.; MARCUCCI, M.C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.
- BANKOVA, V.; CHRISTOV, R.; MARCUCCI, M.C.; POPOV, S. Constituents of Brazilian geopropolis. **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 53, p. 402-6, 1998.

- BANKOVA, V.; POPOV, M. Propolis of stingless bees: a promising source of biologically active compounds. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, p. 88-92, 2007.
- BANKOVA, V.; BERTELLI, D.; BORBA, R.; CONTI, B.J.; CUNHA, I.B.S.; DANERT, C.; EBERLIN, M.N.; FALCÃO, S.I.; ISLA, M.I.; MORENO, M.I.N.; PAPOTTI, G.; POPOVA, M.; SANTIAGO, K.B.; SALAS, A.; SAWAYA, A.C.H.F.; SCHWAB, N.V.; SFORCIN, J.M.; SIMONE-FINSTROM, M.; SPIVAK, M.; TRUSHEVA, B.; VILAS-BOAS, M.; WILSON, M. & ZAMPINI, C. Standard methods for *Apis mellifera* propolis research. **Journal of Apicultural Research**, v. 58, p. 1-49, 2019.
- BARTON, G.M. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 188, p. 413-20, 2008.
- BARTOLOMEU, A.R.; FRIÓN-HERRERA, Y.; SILVA, L.M.; ROMAGNOLI, G.G.; OLIVEIRA, D.E.; SFORCIN, J.M. Combinatorial effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith with anticancer drugs against human laryngeal epidermoid carcinoma (HEp-2) cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 81, p. 48-55, 2016.
- BHADAURIA, M.; NIRALA, S.K.; SHUKLA, S. Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2703–12, 2008.
- BORISH, L.C.; STEINKE, J.W. Cytokines and chemokines. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 111, p. 460–75, 2003.
- BÚFALO, M.C.; FERREIRA, I.; COSTA, G.; FRANCISCO, V.; LIBERAL, J.; CRUZ, M.T.; LOPES, M.C.; BATISTA, M.T.; SFORCIN, J.M. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149, p. 84-92, 2013.
- BURDOCK, G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-63, 1998.
- CHEN, L.; DENG, H.; CUI, H.; FANG, J.; ZUO, Z.; DENG, J.; LI, Y.; WANG, X.; AND ZHAO, L. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. **Oncotarget**, v. 9, p. 7204–18, 2017.
- CHEN, F.; HAO, L.; ZHU, S.; YANG, X.; SHI, W.; ZHENG, K.; WANG, T.; CHEN, H. Potential adverse effects of dexamethasone therapy on COVID-19 patients: review and recommendations. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 10, p. 1907-31, 2021.
- CUNHA, M.G.; ROSALEN, P.L.; FRANCHIN, M.; ALENCAR, S.M. D.; IKEGAKI, M.; RANSOM, T.; BEUTLER, J.A. Antiproliferative constituents of geopropolis from the bee *Melipona scutellaris*. **Planta Medica**, v. 82, p. 190-94, 2015.
- CRABTREE, G.R.; S.; GILLIS, S.; SMITH, K.A.; MUNCK, A. Glucocorticoids and immune responses **Arthritis & Rheumatology**, v. 22, p. 1246-56, 1979.
- DAVILA, J.A.; HERNANDEZ DE LOS RIOS, A. An overview of peripheral blood mononuclear cells as a model for immunological research of *Toxoplasma gondii* and other apicomplexan parasites. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 24, 2019.
- DOBROWOLSKI, J.W.; VOHORA, S.B.; SHARMA, K.; SHAH, S.A.; NAQVI, S.A.; DANDIYA, P.C. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 35, p. 77-82, 1991.
- DUALIBE, S.A.C.; GONÇALVES, A.G.; AHID, F.J.M. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts *in vivo*. **Journal of Applied Oral Science**, v. 15, p. 420-3, 2007.
- DUTRA, R.P.; NOGUEIRA, A.M.C.; MARQUES, R.R.O.; COSTA, M.C.P.; RIBEIRO, M.N.S. Avaliação farmacognóstica de geoprópolis de *Melipona fasciculata* Smith da baixada maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 557-62, 2008.

- DUTRA, R.P.; ABREU, B.V.B.; CUNHA, M.S.; BATISTA, M.C.A.; TORRES, L.M.B.; NASCIMENTO, F.R.F.; RIBEIRO, M.N.S.; GUERRA, R.N.M. Phenolic acids, hydrolyzable tannins, and antioxidant activity of geopropolis from the stingless bee *Melipona fasciculata* Smith. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 2549-57, 2014.
- DUTRA, R. P.; BEZERRA, J. L.; SILVA, M. C. P.; BATISTA, M. C. A.; PATRÍCIO, F.J. B.; NASCIMENTO, F. R. F.; GUERRA, R. N. M. Antileishmanial activity and chemical composition from Brazilian geopropolis produced by stingless bee *Melipona fasciculata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 287–93, 2019.
- FAUDZI, S.M.; ABDULLAH, M.A.; ABDULL, M.R.; ISMAIL, A.Z.; RULLAH, K.; ALUWI, M.F.F.; RAMLI, A.N.; ABAS, F.; LAJIS, N.H. Inhibition of nitric oxide and prostaglandin E₂ production by pyrrolylated-chalcones: synthesis, biological activity, crystal structure analysis, and molecular docking studies. **Bioorganic Chemistry**, v. 2019, p. 103376, 2019.
- FERREIRA, B.L.; GONZAGA, L.V.; VITALI, L.; MICKE, G.A.; MALTEZ, H.F.; RESSUREIÇÃO, C.; COSTA, A.C.O.; FETT, R. Southern-Brazilian geopropolis: a potential source of polyphenolic compounds and assessment of mineral composition. **Food Research International**, v.126, p. 108683, 2019.
- FOGEL, I.; AMIR, J.; BAR-ON, E.; HAREL, L. Dexamethasone therapy for septic arthritis in children. **Pediatrics**, v. 136, p. 776-82, 2015.
- FOUGÈRE, B.; BOULANGER, E.; NOURHASHÉMI, F.; GUYONNET, S.; CESARI, M. Chronic inflammation: accelerator of biological aging. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 72, p. 1218–25, 2016.
- FRANCESCHI, C.; CAMPISI, J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age associated diseases. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 69, p. 4–9, 2014.
- FRANCHIN, M.; DA CUNHA, M.G.; DENNY, C.; NAPIMOGA, M.H.; CUNHA, T.M.; KOO, H.; DE ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P.L. Geopropolis from *Melipona scutellaris* decreases the mechanical inflammatory hypernociception by inhibiting the production of IL-1 β and TNF- α . **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 709–15, 2012.
- FRANCHIN, M.; ROSALEN, P.L.; DA CUNHA, M.G.; SILVA, R.L.; COLÓN, D.F.; BASSI, G.S.; DE ALENCAR, S.M.; IKEGAKI, M.; ALVES-FILHO, J.C.; CUNHA, F.Q.; BEUTLER, J.A.; CUNHA, T.M. Cinnamoyloxy-mammeisin isolated from geopropolis attenuates inflammatory process by inhibiting cytokine production: involvement of MAPK, AP-1, and NF- κ B. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 1828-33, 2016.
- FREITAS, M.O.; PONTE, F.A.F.; LIMA, M.A.S.; SILVEIRA, E.R. Flavonoids and Triterpenes from the nest of the stingless bee *Trigona spinipes*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 19, p. 532-5, 2008.
- GOMES, V.A. **Estudo das atividades anti-inflamatória e antinociceptiva da própolis de *Melipona compressipis fasciculata* (túba)**. Monografia (Graduação em Farmácia) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UFMA, São Luís, 2005.
- GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. The pharmacological basis of therapeutics: a textbook of pharmacology, toxicology and therapeutics for physicians and medical students. **Preface to the fifth edition**, ed. 13, v. 5, p. 5-6. 1975.
- GOVERNA, P.; CUSI, M.G.; BORGONETTI, V.; SFORCIN, J.M.; TERROSI, C.; BAINI, G.; MIRALDI, E.; BIAGI, M. Beyond the biological effect of a chemically characterized poplar propolis: antibacterial and antiviral activity and comparison with flurbiprofen in cytokines release by LPS-stimulated human mononuclear cells. **Biomedicines**, v. 7, p. 73, 2019.
- GHISALBERTI, E.L. Propolis: a review. *Bee World*, v. 60, p. 59-84, 1979.

- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Textbook of medical physiology, ed. 11, **Elsevier Saunders**, Philadelphia, 2006.
- HOWREN, M.B.; LAMKIN, D.M.; SULS, J. Associations of depression with C-reactive protein, IL-1, and IL-6: a meta-analysis. **Psychosomatic Medicine**, v. 71, p. 171–86, 2009.
- HUNGNESS, E.S.; PRITTS, T.A.; LUO, G.J.; SUN, X.; PENNER, C.G.; HASSELGREN, P.O. The transcription factor activator protein-1 is activated and interleukin-6 production is increased in interleukin-1beta-stimulated human enterocytes. **Shock**, v. 14, p. 386-91, 2000.
- KIM, B.Y.; SON, Y.; LEE, J.; CHOI, J.; KIM, C.D.; BAE, S.S. Dexamethasone inhibits activation of monocytes/macrophages in a milieu rich in 27-oxygenated cholesterol. **PLoS One**, v. 12, p. 0189643, 2017.
- KÖNIG, S.; PACE, S.; PEIN, H.; HEINEKAMP, T.; KRAMER, J.; ROMP, E.; STRAßBURGER, M.; TROISI, F.; PROSCHAK, A.; DWORSCHAK, J.; SCHERLACH, K.; ROSSI, A.; SAUTEBIN, L.; HAEGGSTRÖM, J.Z.; HERTWECK, C.; BRAKHAGE, A. A.; GERSTMEIER, J.; PROSCHAK, E.; WERZ, O. Gliotoxin from *Aspergillus fumigatus* abrogates leukotriene B4 formation through inhibition of leukotriene a4 hydrolase. **Cell Chemical Biology**, 26, p. 524–34, 2019.
- KUROWSKA, A.; BODYS-CUPAK, I.; STASZKIEWICZ, M.; SZKLARCZYK, J.; ZALEWSKA-PUCHAŁA, J.; KLIŚ-KALINOWSKA, A.; MAKARA-STUDZIŃSKA, M.; MAJDA, A. Interleukin-6 and melatonin as predictors of cognitive, emotional and functional ageing of older people. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, p. 3623, 2020.
- LAVINAS, F.C.; MACEDO, E.H.B.C.; SÁ, G.B.L.; AMARAL, A.C.F.; SILVA, J.R.A.; AZEVEDO, M.M.B.; RODRIGUES, I.A. Brazilian stingless bee propolis and geopropolis: Promising sources of biologically active compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 29, p. 389–99, 2019.
- LAWRENCE, T.; WHILLOUGHBY, D.A.; GILROY, D.W. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p. 787-95, 2002.
- LEE, J.K.; KIM, N.J. RECENT Advances in the Inhibition of p38 MAPK as a Potential Strategy for the Treatment of Alzheimer's Disease, **Molecules**, v. 22, p. 1287, 2017.
- LI, Q.; VERMA, I.M. NF-kappaB regulation in the immune system. **Nature Reviews Immunology**, v. 2, p. 725-34, 2002.
- LI, Z.; YU, X.; WERNER, J.; BAZHIN, A.V.; D'HAESE, J.G. The role of interleukin-18 in pancreatitis and pancreatic cancer. **Cytokine Growth Factor Reviews**, v. 50 p. 1-12, 2019.
- LIBÉRIO, S.A.; PEREIRA, A.L.A.; ARAÚJO, M.J.A.M.; DUTRA, R.P.; NASCIMENTO, F.R.F.; MONTEIRO-NETO, V.; RIBEIRO, M.N.S.; GONÇALVES, A.G.; GUERRA, R.N.M. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 1-9, 2009.
- LIU, T.; ZHANG, L.; JOO, D.; SUN, S.C. NF-κB signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, p. 17023, 2017.
- LONGUI, C.A. Corticoterapia: minimizando efeitos colaterais. **Jornal de Pediatria**, v. 83, p. 163-71, 2007.
- MACEDO, J.M.S.; OLIVEIRA, I.R. Corticoesteróides. **Farmacologia**, v. 4, p. 760-75, 1998.
- MACEDO, R.B.V.; KAKEHASI, A.M.; MELO A.M.V. Ação da IL-33 na artrite reumatoide: contribuição para a fisiopatologia. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 56, p. 451-57, 2016.
- MEDZHITOV, R. Origin and physiological roles of inflammation. **Nature**, v. 454, p. 428–35, 2008.

- MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivos do Instituto de Biologia**, v. 72, p. 405-11, 2005.
- MOHAMMADZADEH, S.; SHARRIATPANAHI, M.; HAMEDI, M.; AHMADKHANIHA, R; SAMADI, N.; OSTAD, S. N. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. **Food Chemical**, v. 103, p. 1097-03, 2007.
- MURAD, J.M.; CALVI, S.A.; SOARES, A.M.V.C.; BANKOVA, V.; SFORCIN, J.M. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 331-4, 2002.
- MYLES, P.S.; CORCORAN, T. Benefits and risks of dexamethasone in noncardiac surgery. **Anesthesiology**, v.135, p. 895-903, 2021.
- OLIVEIRA, L.P.G.; CONTE, F.L.; CARDOSO, E.O.; CONTI, B.J.; SANTIAGO, K.B.; GOLIM, M.A.; CRUZ, M.T.; SFORCIN, J.M. Immunomodulatory/inflammatory effects of geopropolis produced by *Melipona fasciculata* Smith in combination with doxorubicin on THP-1 cells. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 68, p. 1551-8, 2016.
- OLIVEIRA, L.P.G.; CONTE, F.L.; OLIVEIRA CARDOSO, E.; CONTI, B.J.; SANTIAGO, K.B.; DE ASSIS G.; SFORCIN, J.M. A new chemotherapeutic approach using doxorubicin simultaneously with geopropolis favoring monocyte functions. **Life Sciences**, v. 217, p. 81–90, 2019.
- OLIVEIRA, C.M.B.; SAKATA, R.K.; ISSY, A.M.; GEROLA, L.R.; SALOMÃO, R. Citocinas e dor. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 61, 2011.
- ORSI, R.O.; FUNARI, S.R.C.; SOARES, A.M.V.C.; CALVI, S.A.; OLIVEIRA, S.L.; SFORCIN, J.M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, p. 205-19, 2000.
- ORSOLIC, N.; BASIC, I. Antitumor, hematostimulative and radioprotective action of water-soluble derivative of propolis (WSDP). **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 59, p. 561–70, 2005.
- PAIVA-OLIVEIRA, E.L.; SILVA, A.C.; SILVA, R.M.; SEVENINI, L.A.; MELO, H.A.; LAGROTA-CANDIDO, J.; QUIRICO-SANTOS, P. Inflamassoma e sua repercussão clínica: revisão da literatura. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 11, p. 96-102, 2012.
- PETTET, G.; BYRNE, H. M.; MCELWAIN, D. L.; NORBURY J. A model of wound-healing angiogenesis in soft tissue. **Mathematics Biosciences**, v.136, p. 35-63. 1996.
- REDONDO, A.C.C.; CECCON, E. J. R.; SILVEIRA-LESSA, A. L.; QUINELLO, C.; PALMEIRA, P.; CARVALHO, W. B.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. Expressão do TLR-2 e do TLR-4 em monócitos de recém-nascidos a termo com sepse tardia. **Jornal de Pediatria**, v. 90, p. 472-8, 2014.
- SALATINO, A.; TEIXEIRA, E.W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, p. 33-8, 2005.
- SANTOS, C.M.; CAMPOS, J.F.; DOS SANTOS, H.F.; BALESTIERI, J.B.P.; SILVA, D. B.; SOUZA, K.P.; CAROLLO, C.A.; ESTEVINHO, L.M. Chemical composition and pharmacological effects of Geopropolis produced by *Melipona quadrifasciata anthidioides*. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1–13, 2017.
- SARAIVA, M.; VIEIRA, P.; O'GARRA, A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. **Journal of Experimental Medicine**, v. 217, p. 20190418, 2020.
- SHELLER, J.; CHALARIS, A.; SCHMIDT-ARRAS, D.; ROSE-JOHN, S. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1813, p. 878–88, 2011.

- SCHREIBER, S.; NIKOLAUS, S.; HAMPE, J. Activation of nuclear factor kappa B inflammatory bowel disease. **Gut**, v. 42, p. 477-84, 1998.
- SERHAN, C.N.; LEVY, B.D. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. **Journal of Clinical Investigation**, v.128, p. 2657, 2018.
- SFORCIN, J.M. Propolis and the immune system: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 113, p. 1-14, 2007.
- SILVA, B.B.; KAWAMOTO, D.; ANDO-SUGIMOTO, E. S.; CASARIN, R. C. V.; ALENCAR, S. M.; ROSALEN, P. L.; MAYER, M. P. A. Brazilian red propolis effects on peritoneal macrophage activity: Nitric oxide, cell viability, pro-inflammatory cytokines and gene expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 207, p. 100-7, 2017.
- SILVEIRA, F.A.; MELO, G.A.R.; ALMEIDA, E.A.B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte: **Composição e Arte**, v. 2002, p. 253, 2002.
- SIMMONS, D.L. What makes a good anti-inflammatory drug target? **Drug Discovery Today**, v. 11, p. 210-9, 2006.
- SOUZA JUNIOR, U. P.; CABRERA, S. P.; SILVA, T. M. G.; SILVA, E. M. S.; CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S. Geopropolis gel for the adjuvant treatment of candidiasis – formulation and *in vitro* release assay. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.29, p. 278-86, 2019.
- SOUZA, S.A.; DA SILVA, T.M.G.; DA SILVA, E.M.S.; CAMARA, C.A.; SILVA, T.M.S. Characterisation of phenolic compounds by UPLC-QTOF-MS/MS of geopropolis from the stingless bee *Melipona subnitida* (jandaíra). **Phytochemical Analysis**, v. 29, p. 549–58, 2017.
- STEVENS, S.R.; CHANG, T.H. History of development of TNF inhibitors. **TNF-alpha Inhibitors**, v. 2006, p. 9-22, 2006.
- TURNER, M.D.; NEDJAI, B.; HURST, T.; PENNINGTON, D.J. Cytokines and chemokines: at the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1843, p. 2563–82, 2014.
- VANE, J.R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature: New Biology**, v. 231, p. 232-35, 1971.
- VANE, J.R.; BAKHLE, Y.S.; BOTTING, R.M. Cyclooxygenase 1 and 2. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 38, p. 97-120, 1998.
- WANG, X.; FENG, Y.; FU, J.; WU, C.; HE, B.; ZHANG, H.; WANG, X.; DAI, W.; SUN, Y.; ZHANG, Q. A lipid micellar system loaded with dexamethasone palmitate alleviates rheumatoid arthritis. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, p. 316, 2019.
- WOLF, G.; LIVSHITS, D.; BEILIN, B.; YIRMIYA, R.; SHAVIT, Y. Interleukin-1 signaling is required for induction and maintenance of postoperative incisional pain: genetic and pharmacological studies in mice. **Brain, Behavior and Immunology**, v. 22, p. 1072-7, 2008.
- YOON, S.B.; LEE, Y.J.; PARK, S.K.; KIM, H.C.; BAE, H.; KIM, H.M.; KO, S.G.; CHOI, Y.; OH, M.S.; PARK, W. Anti-inflammatory effects of *Scutellaria baicalensis* water extract on LPS-activated RAW 264.7 macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 125, p. 286-90, 2009.
- YU, Z.Q.; WANG, L.M.; YANG, W.X. How vitamin E and its derivatives regulate tumour cells via the MAPK signalling pathway? **Gene**, v. 808, p. 145998, 2022.
- ZHANG, J.M.; AN, J. Cytokines, inflammation, and pain. **International Anesthesiology Clinics**, v. 45, p. 27-37, 2007.