

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 07/04/2023.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Fernanda Lopes Conte

**Avaliação de parâmetros imunológicos, inflamatórios e
bioquímicos em pacientes HIV-positivos sob uso da terapia
antirretroviral em associação com a própolis**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Ciências, área de Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Maurício Sforcin
Coorientadora: Dr^a Karen Ingrid Tasca

**Botucatu
2021**

Fernanda Lopes Conte

Avaliação de parâmetros imunológicos, inflamatórios e bioquímicos em pacientes HIV-positivos sob uso da terapia antirretroviral em associação com a própolis

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Ciências, área de Patologia.

Orientador: Prof. Dr. José Maurício Sforcin
Coorientadora: Dr^a Karen Ingrid Tasca

Botucatu
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

Conte, Fernanda Lopes.

Avaliação de parâmetros imunológicos, inflamatórios e bioquímicos em pacientes HIV-positivos sob uso da terapia antirretroviral em associação com a própolis / Fernanda Lopes Conte. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: José Maurício Sforcin

Coorientador: Karen Ingrid Tasca

Capes: 40105008

1. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. 2. Terapia antirretroviral. 3. Imunomodulação. 4. Resposta imune. 5. Própolis. 6. Inflamação - Aspectos imunológicos.

Palavras-chave: HIV/aids; Imunomodulação; Inflamação; Própolis; Terapia antirretroviral.

Dedicatória

***Aos meus amados pais,
Luiz Fernando Conte e Maria José Lopes Conte,
dedico esse trabalho.***

*Obrigada por me ensinarem, desde criança, que a educação pode mudar o mundo.
Obrigada por todo esforço que dedicaram à minha formação pessoal e profissional.
Obrigada por trilharem esse caminho ao meu lado, pelo amor e apoio incondicional.*

Vocês são os responsáveis pela realização desse grande sonho!

Agradecimentos especiais

Sempre e em primeiro à Deus, de onde vem o meu sustento, coragem e força para enfrentar os desafios;

Aos meus amados pais, a quem dedico esse trabalho, e aos quais me faltam palavras para agradecer tanto amor, carinho e incentivo;

Ao meu irmão Tiago, e aos demais familiares, pelo apoio, força e torcida no decorrer dessa jornada;

Ao meu namorado Heitor, pelo companheirismo em todos os momentos dessa caminhada e por fazer meus dias mais felizes.

Agradecimentos

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), por possibilitar a realização desse trabalho, bem como aos funcionários da seção técnica de pós-graduação pela assistência prestada;

Ao meu orientador, Prof Dr José Maurício Sforcin, pela confiança e oportunidade de fazer parte de sua equipe. Agradeço pelos anos de orientação, pela dedicação com o desenvolvimento desse trabalho, por todos os ensinamentos e por contribuir, de forma grandiosa, com meu crescimento profissional. Minha gratidão será eterna;

À minha co-orientadora, Dr^a Karen Ingrid Tasca, pela parceria profissional e pela amizade. Obrigada por me permitir fazer parte desse projeto, por me passar tanto conhecimento, sempre com muito carinho e dedicação. Seu amor pela ciência é inspirador;

Aos demais colegas do grupo de pesquisa em Imunomodulação por Produtos Naturais: Karina Basso Santiago, Eliza de Oliveira Cardoso, Mariana da Silva Honorio, Arthur Alves Sartori e Nicolas Ripari por me auxiliarem com os experimentos, análises e discussão dos resultados, e pelos momentos de descontração no laboratório. Vocês também são parte dessa conquista;

Às professoras Maria Teresa Cruz, Maria Teresa Batista, e aos seus respectivos alunos, da Universidade de Coimbra, por me receberam em seus laboratórios, por me propiciarem tanto conhecimento e me acolherem tão bem em Portugal. Gratidão por terem contribuído com meu crescimento pessoal e profissional;

À empresa Apis Flora Industrial e Comercial Ltda por conceder os comprimidos de própolis (EPP-AF®) para realização dessa pesquisa, em especial a pesquisadora Andresa Aparecida Berretta e Silva por todo apoio prestado;

Ao Serviço de Ambulatórios Especializados de Infectologia “Domingos Alves Meira” (SAEI-DAM) que nos permitiu a realização desse projeto e a todos seus funcionários por nos auxiliarem na condução da pesquisa;

A todos os pacientes atendidos no SAEI-DAM, pelos grandes ensinamentos de vida, em especial àqueles que aceitaram participar dessa pesquisa, confiando em nosso trabalho e contribuindo para o desenvolvimento da ciência;

Aos funcionários do Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP-FMB), pelo auxílio com o desenho do estudo, questões burocráticas e com as análises estatísticas, essenciais para concretização desse trabalho;

Aos docentes, discentes e todos os funcionários do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas, do Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), pela saudável convivência e por auxiliarem na condução dessa pesquisa;

À Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX), onde realizei parte dos experimentos, e a todos seus colaboradores;

Ao Instituto de Biotecnologia da UNESP (IBTEC), ao Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior e a Dr^a Leila Sabrina Ullmann pelo auxílio com as análises de RT-qPCR;

Aos Laboratórios de Citometria de Fluxo do IBB e FMB, em especial as profissionais Dr^a Graziela Gorete Romagnoli, Dr^a Marjorie de Assis Golim e Dr^a Aline Márcia Marques Braz, pelo auxílio com as análises de citometria de fluxo;

Aos membros da banca do exame geral de qualificação, professoras Dr^a Alexandrina Sartori e Dr^a Fabiani Gai Frantz pelas valiosas contribuições e discussões que enriqueceram o trabalho;

Aos membros titulares da banca da defesa de tese, Dr^a Lenice do Rosário de Souza, Dr^a Andresa Aparecida Berretta e Silva, Dr^a Maria Angelica Ehara Watanabe, Dr Marcelo Augusto Duarte Silveira, por aceitarem o convite e pela disposição em avaliar e contribuir com o presente trabalho;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de doutorado durante o primeiro ano de realização da tese (processo 140245/2017-0);

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de doutorado nos anos seguintes (processo 2016/24591-6), que proporcionou também suporte financeiro para realização dos experimentos e participação em cursos e congressos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, em especial pela concessão da bolsa de doutorado sanduíche (88887.467268/2019-00), que possibilitou a experiência de realizar parte da pesquisa no exterior, fortalecer a parceria com a Universidade de Coimbra, e contribuir para minha formação profissional.

Epigrafe

Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

Madre Teresa de Calcutá

RESUMO

A infecção pelo HIV representa um grave problema de saúde pública no mundo, contando com milhões de pessoas infectadas e novos casos registrados anualmente. A terapia antirretroviral (TARV) mudou completamente o cenário da infecção, propiciando marcante redução da mortalidade das pessoas que vivem com HIV/aids (PVHA). Apesar dos benefícios da TARV, seu uso crônico pode resultar em efeitos adversos, como citotoxicidade e distúrbios metabólicos, processos que contribuem com a persistente ativação imune e estado inflamatório intenso que as PVHA apresentam. Assim, objetivamos investigar se a própolis, produto apícola que possui inúmeras propriedades terapêuticas, seria capaz de promover benefícios à saúde de PVHA assintomáticas em uso de TARV. Para isso, após randomização de 40 pacientes em caráter duplo-cego, os dois grupos (500 mg/dia própolis versus placebo) foram analisados em dois momentos: antes (M0) e 3 meses após (M1) a intervenção. Resultados da carga viral plasmática do HIV, contagem de células T CD4⁺/CD8⁺, hemograma e o perfil bioquímico/metabólico foram obtidos via prontuário eletrônico. A concentração de citocinas plasmáticas (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-17, IL-2 e IL-4) e a proliferação de linfócitos foram determinadas por citometria de fluxo. A produção de citocinas (IFN- γ , IL-5, IL-17, IL-10, IL-18, IL-1 β e IL-33) por células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foi determinada por método imunoenzimático (ELISA). A expressão dos genes T-bet, GATA-3, ROR γ t e Foxp3 foi avaliada pela reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RT-qPCR). Houve aumento na atividade de creatinofosfoquinase no grupo tratado com própolis, embora sem significância clínica. Observou-se, no mesmo grupo, aumento na concentração de magnésio, correlação positiva entre IL-10 (citocina anti-inflamatória) e contagem de células T CD4⁺, correlação negativa entre IL-10 e IFN- γ (citocina pró-inflamatória), além do aumento da expressão de Foxp3 e da proliferação de linfócitos T CD4⁺. Assim, os resultados indicam que o uso da própolis é seguro e pode ser uma alternativa para melhora da resposta imune e redução da inflamação nos pacientes assintomáticos, através da indução de células T reguladoras. Resultados adicionais obtidos com linhagem celular de monócitos humanos, em projeto paralelo, indicaram que a própolis exerce atividade antioxidante, potencialmente envolvida em sua ação anti-inflamatória e antialérgica, o que também pode ser uma contribuição para as PVHA. No entanto, mais estudos

são necessários para confirmar esses achados e poder considerar a própolis uma intervenção efetiva para as PVHA, em especial àquelas com comorbidades ou falha terapêutica, não contempladas neste estudo.

ABSTRACT

HIV infection represents a serious public health problem in the world, with millions of people infected and new cases registered annually. Antiretroviral therapy (ART) has completely changed the infection scenario, providing a marked reduction in the mortality of people living with HIV/AIDS (PLWHA). Despite the benefits of the ART, its chronic use can lead to side effects such as cytotoxicity and metabolic disorders, what contributes to persistent immune activation and inflammatory status in PLWHA. Thus, we aimed to investigate whether propolis, a bee product presenting several therapeutic properties, could be able to improve the health of asymptomatic PLWHA under ART. After a double-blind randomization of 40 patients, two groups (500 mg/day propolis versus placebo) were analyzed in two moments: before (M0) and 3 months after (M1) the intervention. Plasma HIV viral load, CD4⁺/CD8⁺ T cell count, complete blood count and biochemical/metabolic profile were obtained via electronic medical record. The concentration of plasma cytokines (TNF- α , IL-6, IL-10, IL-17, IL-2 and IL-4) and lymphocyte proliferation were determined by flow cytometry. The production of cytokines (IFN- γ , IL-5, IL-17, IL-10, IL-18, IL-1 β and IL-33) by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). The expression of the T-bet, GATA-3, ROR γ t and Foxp3 genes was evaluated by real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR). There was an increase in creatinophosphokinase activity after propolis intake, although without clinical significance. The same group also showed increased magnesium levels, a positive correlation between IL-10 (anti-inflammatory cytokine) and CD4⁺ T cell count, a negative correlation between IL-10 and IFN- γ (proinflammatory cytokine), an increased Foxp3 expression and CD4⁺ T lymphocytes proliferation. Our findings indicate that the use of propolis is safe and may be an alternative for improving the immune response and reducing inflammation in asymptomatic patients, inducing regulatory T cells. Additional findings were obtained using a human monocytic cell line in a parallel project, indicating that propolis exerted an antioxidant activity, potentially involved in its anti-inflammatory and antiallergic action, what can also be a contribution to PLWHA. However, more studies are needed to confirm these findings and consider propolis an effective intervention for PLWHA, especially those with comorbidities or therapeutic failures, who was not included in this study.

SUMÁRIO

Introdução	13
1. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e aids.....	13
1.1. Aspectos gerais e história natural da doença	13
1.2. Ativação imune e inflamação no HIV/aids.....	16
1.3. Terapia antirretroviral (TARV)	20
2. Própolis	24
2.1. Aspectos gerais.....	24
2.2. Propriedades biológicas da própolis	26
2.3. Extrato Padronizado de Própolis (EPP-AF®).....	29
3. Justificativa do trabalho.....	31
Objetivos	32
Referências bibliográficas	34
Manuscrito 1	49
Manuscrito 2	78
Manuscrito 3	99
Conclusões	120
Considerações finais	121
Anexo 1	122
Anexo 2	123
Anexo 3	125

1. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e aids

1.1. Aspectos gerais e história natural da doença

A infecção pelo HIV representa um dos maiores problemas de saúde pública no mundo, com 38 milhões de pessoas infectadas, sendo 1,7 milhão somente em 2019 (UNAIDS, 2020). Apesar dos intensos avanços tecnológicos e das pesquisas relacionadas ao seu diagnóstico precoce e tratamento eficaz, a infecção pelo HIV ainda é emergente, em função do elevado número de novos casos a cada ano e de sua gravidade (Brasil, 2020).

O HIV começou a propagar-se, de forma silenciosa, na década de 70 (Gallo, 2006; Montagnier, 2010). Em 1980, ocorreu o primeiro caso da doença no Brasil (Brasil, 2008) e, em 1981, foi identificada e denominada “síndrome da imunodeficiência adquirida”, conhecida pela sigla AIDS (Gallo, 2006; Montagnier, 2010). Em 1982, foram identificados os modos de transmissão do vírus: via sangue, relação sexual e da mãe para o filho (Galvão, 2002). No mesmo ano, foram identificados os então chamados grupos de risco, denominados de "5 H's": homossexuais, usuários de heroína, haitianos, hemofílicos e *hookers* (do inglês, “prostitutas”) (Gallo, 2006). Em 1983, o HIV foi finalmente isolado e, no ano de 1984, foi confirmado como agente causal da aids (Montagnier, 2010).

O entendimento inicial da patogênese do HIV e o rápido avanço na pesquisa levaram à expectativa de que a aids pudesse ser prontamente resolvida, porém, com experiência em retrovírus, os cientistas sabiam que esse seria um longo caminho e, até mesmo, uma infecção permanente (Gallo, 2006).

Os anos seguintes caracterizaram um período de mobilização global, com campanhas de educação quanto à prevenção da infecção, um grande avanço prático que continua até os dias atuais, mas com resultados que variam a nível local e temporal (Gallo, 2006).

O HIV pertence ao gênero *Lentivirus* e à família *Retroviridae*. É um vírus de RNA, de estrutura esférica, com tamanho médio de 100 a 120 nm, encapsulado por um nucleocapsídeo, um capsídeo e um envelope externo com bicamada fosfolipídica (ICTV, 2017; Brasil, 2018a). Seu genoma inclui, principalmente, os genes *gag*, *pol* e *env*, que codificam proteínas estruturais e enzimas virais, além de outros genes regulatórios e acessórios (Miller, 2010).

A entrada do vírus na célula do hospedeiro é mediada, inicialmente, pela glicoproteína (gp) 120, presente no envelope viral, que se liga ao receptor CD4 presente nas células do hospedeiro, como linfócitos T CD4⁺, células dendríticas (DCs) e macrófagos. Essa ligação desestabiliza a gp120 e expõe sua alça V3, que interage com o co-receptor CCR5 ou CXCR4. Em seguida, ocorre a ativação da gp41 e a fusão do envelope viral com a membrana celular, permitindo a entrada do vírus na célula do hospedeiro (Kwong *et al.*, 1998; Goodsell, 2015). Após liberação do material genético viral na célula do hospedeiro, o RNA é convertido em DNA pela ação da enzima viral transcriptase reversa, e, posteriormente, o DNA viral é inserido no DNA do hospedeiro com auxílio da enzima viral integrase. A partir desse momento e pela ação da protease viral, a célula hospedeira produz RNA e proteínas virais para formação de novos vírus, que são então liberados da célula por brotamento e, após sofrer maturação, são capazes de infectar outras células (Goodsell, 2015).

Após o contato inicial com o HIV, macrófagos, DCs e células T residentes no local de entrada são as primeiras células a serem infectadas (Espíndola *et al.*, 2016). A resposta imune inata é desencadeada no foco da infecção, com posterior atração de células T, levando ao aumento da replicação e disseminação do vírus (McMichael *et al.*, 2010). No decorrer da infecção, o HIV é disseminado para os reservatórios virais, principalmente nos tecidos linfoides (Trigo & Costa, 2016).

Desde a entrada do vírus no organismo até à viremia inicial, decorrem cerca de 4 a 11 dias (Trigo & Costa, 2016), com pico em torno de 21 a 28 dias após a exposição (McMichael *et al.*, 2010).

Essa primeira fase da infecção, denominada de fase aguda, geralmente é sintomática, com duração de algumas semanas. As queixas e sinais clínicos mais observados nesse momento são febre, adenopatia, astenia, faringite, exantema,

mialgia e cefaleia. Nessa fase, são observados valores elevados de carga viral plasmática do HIV, maior número de células infectadas e queda no número de células T CD4⁺ (McMichael *et al.*, 2010; Espíndola *et al.*, 2016; Brasil, 2018a).

Durante a disseminação sistêmica viral, a resposta imune específica é desencadeada para controlar a infecção (Langford *et al.*, 2007). Essa resposta conta com a ação de linfócitos T citotóxicos específicos contra o HIV e produção de anticorpos neutralizantes, levando à diminuição da viremia até o nível de *set point* viral e o estabelecimento de uma infecção latente (Ascher & Sheppard, 1988; Trigo & Costa, 2016). Assim, é estabelecida uma fase crônica que perdura por muitos anos. O exame clínico nessa etapa costuma ser normal, com exceção da linfadenopatia que pode ser persistente, e alguns achados laboratoriais como anemia e leucopenia leves (Brasil, 2018b).

No entanto, a resposta imune desencadeada é tardia e insuficiente para evitar a progressão e erradicação da infecção (McMichael *et al.*, 2010). Com a progressão da infecção, ocorre a evolução para aids, caracterizada pela contagem de linfócitos T CD4⁺ inferior a 200 células/mm³, presença de infecções oportunistas e neoplasias (Trigo & Costa, 2016). Assim, o principal dano causado pelo HIV é a deterioração progressiva do sistema imunológico, especialmente das células T CD4⁺, acarretando grave imunodepressão, o que torna o indivíduo mais suscetível às doenças oportunistas e determinadas neoplasias (Gallo, 2006; Brasil, 2014).

O curso da infecção depende dos fatores virológicos e também do hospedeiro (Okulicz *et al.*, 2009). Estima-se que o tempo entre o contato inicial com o vírus e surgimento da aids, em indivíduos não tratados, seja de aproximadamente 10 anos (Brasil, 2013). Esse quadro acontece com os chamados “progressores típicos”, no entanto, cerca de 5% dos infectados permanecem sem sintomas ou evidência clínicas da infecção por um período superior, sendo denominados de “progressores lentos” (Kumar, 2013). Há, ainda, um grupo mais raro ($\leq 1\%$ dos infectados), os chamados “controladores de elite”, que mesmo sem tratamento apresentam carga viral indetectável (Poropatich & Sullivan, 2011). No entanto, desde a recomendação do tratamento antirretroviral imediato para todas as pessoas que vivem com HIV/aids (PVHA), tornou-se mais escassa a identificação desses grupos (Brasil, 2018b).

Como as células T CD4⁺ são essenciais para o desenvolvimento da resposta imune adaptativa, sua depleção resulta em significativa redução na capacidade de elaboração da resposta imune específica do hospedeiro (Langford *et al.*, 2007; Said *et al.*, 2010). Melhores respostas linfoproliferativas a antígenos específicos do HIV são observadas em indivíduos que apresentam progressão mais lenta da doença, em comparação aos indivíduos que demonstram rápida progressão. Dessa forma, a contagem de células T CD4⁺ consiste em um importante marcador para acompanhar o desenvolvimento da doença, sendo que baixas contagens estão relacionadas com maiores chance de progressão (Langford *et al.*, 2007). Além de reduzir a quantidade dessas células, a infecção viral também ocasiona menor função efetora das mesmas (Said *et al.*, 2010).

1.2. Ativação imune e inflamação no HIV/aids

A infecção pelo HIV induz intensa desregulação do sistema imunológico, gerando perda da função celular e inflamação crônica. A exaustão imunológica observada nas PVHA é caracterizada pelo aumento do fenótipo ativado das células T e B, porém diminuição da capacidade proliferativa e perda da capacidade efetora das células do sistema imune (Gutiérrez *et al.*, 2019).

Dentre as respostas imunes adaptativas existentes, as subpopulações celulares mais estudadas são os linfócitos T *helper* (Th) 1, Th2, Th17 e T regulador (Treg). Nunnari *et al.* (2016) descreveram que a progressão para a aids deve-se provavelmente ao grande desbalanço que ocorre entre esses diferentes perfis de resposta.

Clereci & Shearer (1993) revelaram que o desequilíbrio das respostas Th1 e Th2 está associado com resistência à infecção pelo HIV ou progressão para aids. Os autores descreveram que a exposição ao HIV desencadeia forte resposta Th1 contra o vírus, enquanto a progressão para aids está relacionada com a perda da produção de IL-2 e IFN- γ e aumento de produção de IL-4 e IL-10 (Clereci & Shearer, 1993). Orsilles *et al.* (2006) observaram que pacientes HIV⁺ sem uso da terapia antirretroviral (TARV) e com contagem de CD4 ≥ 200 células/mm³ apresentavam maior concentração de IL-2, ao passo que aqueles com contagem de CD4 < 200

céls/mm³ apresentavam maior produção de IL-10, comparados ao controle. No entanto, não foram observadas diferenças significativas desses valores em pacientes sob uso de TARV, demonstrando que a desregulação das citocinas pode ser revertida pela terapia (Orsilles *et al.*, 2006).

De fato, o HIV é capaz de modular a secreção de diversas citocinas durante a progressão da infecção, mas a influência dessas moléculas na patogênese do vírus é diversa e não completamente entendida (Chinen & Shearer, 2002). Roberts *et al.* (2010) observaram elevação de diversas citocinas inflamatórias na infecção aguda pelo HIV, como IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α . Os autores também descreveram que as citocinas IL-12 e IFN- γ estão associadas com baixa carga viral, enquanto IL-7 e IL-15 estão associadas com carga viral elevada (Roberts *et al.*, 2010). Nunnari *et al.* (2016) identificaram que indivíduos HIV⁺ sem tratamento, com alta viremia ou controladores de elite, apresentaram maior expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , INF- γ , IL-18) e quimiocinas (CCL3, CCR6, CCL5, CCR7, CXCL16 e CXCR4) do que indivíduos saudáveis. Também as moléculas de HLA I e II, CD3, CD4, CD28, CD69, CTLA4 e LAG3 estavam positivamente reguladas nas PVHA (Nunnari *et al.*, 2016), demonstrando o estado de ativação imune na infecção pelo HIV.

A principal característica da infecção pelo HIV é a secreção de citocinas pró-inflamatórias, as quais podem favorecer a replicação do vírus, a apoptose das células T (Decrion *et al.*, 2005) e contribuir com o desenvolvimento de comorbidades não-associadas à aids (Tasca *et al.*, 2012). Além das citocinas, outros biomarcadores associados a processos inflamatórios encontram-se elevados nas PVHA, como a alfa-1-glicoproteína ácida (Cordially *et al.*, 1992), proteína C reativa (PCR) e creatinofosfoquinase (CPK) (Monteiro *et al.*, 2013; Neuhaus *et al.*, 2010). Além disso, PCR e CPK são fatores também associados ao risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares, corroborando o fato de que as PVHA frequentemente apresentam maior estado inflamatório e danos cardiovasculares em relação à população não infectada (Deeks, 2011). Tien e colaboradores (2010) sugeriram que, mesmo em PVHA com contagens de CD4 > 500 células/mm³ relativamente preservadas, a inflamação ainda é um importante fator de risco para mortalidade dessa população.

Além dos marcadores inflamatórios, também a proteína de morte celular programada 1 (PD-1) apresenta-se superregulada em pacientes HIV⁺ sem uso de TARV (Said *et al.*, 2010). Outros marcadores associados à coagulação (D-dímero) e função renal (cistatina C), encontram-se elevados na infecção pelo HIV, mesmo após adesão à TARV e supressão da carga viral (Neuhaus *et al.*, 2010).

O HIV também induz ativação do inflamassoma, um complexo citoplasmático multiproteico que contribui com o processo inflamatório (Hernandez *et al.*, 2014). A ativação do inflamassoma induz a maturação das citocinas IL-1 β , IL-18 e IL-33 em suas formas biologicamente ativas, as quais são então liberadas das células e desempenham papel crucial na inflamação. A ativação do inflamassoma parece ter participação em uma variedade de doenças inflamatórias, como aterosclerose, gota e diabetes do tipo 2 (Yang *et al.*, 2012). Na infecção pelo HIV, observa-se alta expressão de IL-1 β , IL-18 e caspase-1 tanto no tecido linfoide associado ao intestino (GALT) quanto nas células mononucleares do sangue periférico (PBMC) (Feria *et al.*, 2018).

Para o controle de resposta imunológica exacerbada, diversos mecanismos são acionados, como a diferenciação celular para o perfil de células Tregs (Raphael *et al.*, 2015). Os linfócitos Treg secretam citocinas anti-inflamatórias e suprimem respostas inflamatórias em diversos contextos biológicos, sendo considerados um fator vital de regulação negativa da inflamação, inclusive em processos infecciosos crônicos (Plitas & Rudensky, 2016). No entanto, na infecção pelo HIV é observado um estado de hiperativação imune, com redução no número e função das Tregs (Eggena *et al.*, 2005; Prendergast *et al.*, 2010), sendo a contagem dessas células ainda menor na ausência da TARV (Gutiérrez *et al.*, 2019).

As PVHA também apresentam diminuição do perfil Th17 - resposta importante para manutenção da homeostase no GALT. Essa resposta previne a inflamação e evita alterações na estrutura da mucosa intestinal, diminuindo o risco de ruptura da barreira epitelial, dificultando a translocação microbiana do lúmen intestinal para a corrente sanguínea (Wacleche *et al.*, 2017). A presença de produtos microbianos circulantes nas PVHA, principalmente o lipopolissacarídeo (LPS), está diretamente correlacionado com aumento da ativação da resposta imune inata e adaptativa, e com aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias (Klatt *et al.*,

2013). Assim, na falha de uma resposta protetora no GALT, todos estes processos são intensificados, comprometendo ainda mais o *status* clínico das PVHA (Brenchley *et al.*, 2006; Hsu *et al.*, 2013).

A translocação microbiana, bem como os danos genômicos e estresse oxidativo podem contribuir para senescência celular acelerada na infecção pelo HIV. Muitas das anormalidades do sistema imune, geralmente relacionadas com aumento da idade, são observadas mais cedo e mais frequentemente nas PVHA, como a redução do número e função das células-tronco hematopoiéticas, disfunção tímica, repertório de células T reduzido, potencial proliferativo limitado, capacidade de resposta reduzida às vacinas, concentrações aumentadas de citocinas pró-inflamatórias, e proporções CD4/CD8 diminuídas, conforme revisado por Deeks (2011).

A ativação das células T CD8⁺ específicas para o controle da infecção, apesar de suprimir a replicação viral, contribui também para o aumento da ativação imune crônica e seus marcadores, tais como a expressão de CD38 e HLA-DR. Durante a progressão da infecção, essas células adquirem um fenótipo característico de imunosenescência, com capacidade proliferativa e funcional limitadas, o que pode ser observado mesmo nos indivíduos sob uso de TARV (Warren *et al.*, 2019).

Assim, a ativação do sistema imune e o processo inflamatório são persistentes durante todo o curso da infecção, sendo decorrentes, provavelmente, de vários fatores, incluindo efeitos diretos das proteínas virais, a própria resposta imune ao vírus, translocação microbiana, produção desregulada de citocinas e quimiocinas, replicação residual do HIV, estímulo provocado por outros patógenos, perda de células regulatórias, fibrose do timo e linfonodo (Hunt, 2012; Kamat *et al.*, 2012; Brasil, 2013; Hsu *et al.*, 2013; Zicari *et al.*, 2019), além de efeitos adversos da própria TARV, como citotoxicidade, promoção de estresse oxidativo e distúrbios metabólicos.

As persistentes ativação imune e inflamação observadas nas PVHA merecem atenção, pois são fatores potencialmente determinantes de morbidade e mortalidade não associadas à aids, mesmo nos indivíduos sob TARV e que

apresentam supressão viral adequada (French *et al.*, 2009; Deeks, 2011; Aberg, 2012; Hunt *et al.*, 2013; Zicari *et al.*, 2019).

1.3. Terapia antirretroviral (TARV)

A TARV foi considerada o maior avanço da pesquisa na área HIV/aids (Gallo, 2006), diminuindo consideravelmente a morbidade e mortalidade das PVHA (Brasil, 2013), além de impactar na economia do sistema público de saúde, evitando gastos com internações e tratamento de infecções oportunistas (Galvão, 2002).

O tratamento antirretroviral no Brasil teve início no ano de 1989, com a zidovudina (AZT), a qual passou a ser distribuída em 1991 de forma gratuita pelo Sistema Único de Saúde (SUS). No ano de 1996, foi instituída a lei brasileira que garantia às PVHA o acesso universal e gratuito aos medicamentos antirretrovirais. Desde então, terapias mais eficazes e refinadas foram surgindo no país (Brasil, 2008). Estima-se que, após um ano de tratamento, pelo menos 80% das PVHA apresentam carga viral inferior a 50 cópias/mL, supressão viral que se mantém no decorrer do tempo (Brasil, 2018b).

De acordo com o Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS (UNAIDS), até o fim de 2019, aproximadamente 25,4 milhões de PVHA tinham acesso à TARV, o que é considerado um grande aumento comparado aos 7,7 milhões em 2010. Além disso, desde 2010, a mortalidade relacionada à aids diminuiu consideravelmente devido à esta terapia (UNAIDS, 2020). De acordo com o Boletim Epidemiológico HIV/Aids do Ministério da Saúde (2020), a taxa de mortalidade sofreu decréscimo de 28,1% entre 2014 e 2019, possivelmente, em consequência da recomendação do “tratamento para todos” e da ampliação do diagnóstico precoce da infecção pelo HIV (Brasil, 2020).

A TARV engloba vários tipos de fármacos, que atuam em diferentes fases do ciclo viral. As classes utilizadas para o tratamento da infecção pelo HIV incluem os inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRN), inibidores de transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNN), inibidores de protease (IP), de fusão, de integrase e antagonistas do correceptor CCR5. Tais classes são utilizadas em associação, compondo diferentes esquemas terapêuticos,

cuja prescrição depende de diversos fatores, como presença de comorbidades, intolerância medicamentosa, uso de outros medicamentos, presença de co-infecções, risco cardiovascular elevado, ocorrência de falha virológica, entre outros (Brasil, 2018b).

Considerando os benefícios da TARV, como supressão viral, melhora da função imunológica e redução da transmissão do HIV, a Organização Mundial da Saúde passou a recomendar o início imediato da terapia a todos pessoas diagnosticadas com a infecção, independente do estágio clínico ou imunológico (Ford *et al.*, 2018).

Assim, a adesão à TARV tem promovido maior sobrevida e mais benefícios às PVHA, levando à redução do reservatório viral e proteção da imunidade inata e adquirida (Sáez-Cirión *et al.*, 2013). Valdez *et al.* (2002) descreveram que a maioria das mudanças na restauração imunológica das PVHA ocorre já durante o primeiro ano do uso da TARV.

Apesar dos benefícios promovidos pela TARV, o início terapêutico tem ocorrido cada vez mais cedo, ocasionando surgimento precoce de eventos adversos causados pelos antirretrovirais, como distúrbios metabólicos, doenças cardiovasculares, toxicidade óssea, desenvolvimento de hepatopatias, alterações renais e pancreáticas (Rose *et al.*, 2006; Aberg, 2012; Hsu *et al.*, 2013; Pinto Neto *et al.*, 2013; Deeks *et al.*, 2015; Ngala *et al.*, 2015; Vos *et al.*, 2018). Além disso, mesmo sob terapia, a inflamação e ativação imune ainda estão presentes nas PVHA, quando comparado aos indivíduos não infectados (Deeks, 2011; Kamat *et al.*, 2012).

Entre as alterações metabólicas oriundas da TARV, a dislipidemia, caracterizada pelo aumento dos níveis séricos de triglicérides, colesterol total, LDL-colesterol, e redução do HDL-colesterol, é mais prevalente em PVHA do que na população de não-infectados (Rose *et al.*, 2006). Uma vez iniciada a TARV, observa-se que 33% a 82% dos pacientes desenvolvem hipercolesterolemia e 43% a 66% hipertrigliceridemia (Yu *et al.*, 2005), alterações estas que contribuem para o aparecimento de doenças cardiovasculares nesses pacientes (Venkataramana, 2013).

As alterações do perfil metabólico estão associadas também com o desenvolvimento da resistência à insulina, que, por sua vez, pode contribuir com o desenvolvimento de hipertensão arterial sistêmica. Essas alterações provocadas pela TARV, somadas às alterações no perfil lipídico e inflamatório, resultam em aumento no risco de doenças cardiovasculares em PVHA (Brasil 2013, 2018b).

Outro evento adverso provavelmente associado à TARV é o desenvolvimento da lipodistrofia - desordem do tecido adiposo caracterizada por níveis alterados de gordura em diferentes partes do corpo (Araújo-Vilar & Santini, 2019). Além dos fatores intrínsecos do indivíduo, da própria infecção e da TARV, a concentração elevada de proteínas inflamatórias também está associada ao seu desenvolvimento (Caron-Debarle *et al.*, 2010). Como exemplo, a citocina TNF- α , cuja expressão está aumentada no tecido lipoatrófico das PVHA, é responsável pela indução da apoptose das células de gordura. A lipodistrofia é um fator impactante na vida das PVHA, causando problemas psicológicos, sociais, diminuindo adesão à terapia e aumento da morbimortalidade nesses indivíduos (Brasil, 2013).

Alterações renais podem ser decorrentes da nefrotoxicidade causada pelos antirretrovirais ou das alterações metabólicas relacionadas a estas medicações (Brasil, 2013). A doença renal crônica apresenta alta prevalência em PVHA sob TARV, com índices que só são observados na população geral com mais de 60 anos de idade (Menezes *et al.*, 2011). PVHA também apresentam maior risco de desenvolver injúria renal aguda do que indivíduos não infectados (Wyatt, 2014).

A hepatotoxicidade grave acomete até 10% das PVHA sob TARV (Brasil, 2013), pois tanto os antirretrovirais quanto o vírus desencadeiam aumento da atividade de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) (Mgogwe *et al.*, 2012; Venkataramana *et al.*, 2013). Além disso, o aumento desses marcadores está associado a maior risco de mortalidade em PVHA (Viana *et al.*, 2011).

As alterações pancreáticas também são frequentes nas PVHA (Chehter *et al.*, 2000), sendo consideradas umas das principais causas de morbidade nessa população (Raza *et al.*, 2013) e também podem estar associadas ao uso dos antirretrovirais (Oliveira *et al.*, 2014).

A prevalência de osteopenia e osteoporose é pelo menos três vezes maior em pessoas infectadas pelo HIV do que em não infectadas e, da mesma forma, as fraturas também são mais comuns nessa população (Deeks, 2011). A própria infecção pelo HIV pode causar distúrbios de mineralização óssea, através da ação direta do vírus nas células osteogênicas, e também pela presença persistente de citocinas pró-inflamatórias e alterações no metabolismo da vitamina D (Brasil, 2013). Além disso, a TARV também contribui nesse cenário, em decorrência da toxicidade dos medicamentos e da persistente inflamação sistêmica (Deeks, 2011). Os antirretrovirais podem interferir no metabolismo do fósforo e da vitamina D (Brasil, 2018b), inibir a formação óssea ou influenciar na diferenciação e função dos osteoclastos (Brasil, 2013). Estima-se que, nos primeiros dois anos da terapia, a densidade óssea sofre uma redução de 2 a 6%, com posterior estabilização (Brasil, 2018b).

Também as neoplasias passaram a ser responsáveis por um número maior de óbitos nas PVHA após a implementação da TARV, associada ao aumento da média de idade das PVHA, presença de co-infecções, exposição prolongada a fatores ambientais de risco e estilo de vida. Entre os tipos de cânceres mais comuns nessa população estão os de pele, pulmão, colorretal/anal, carcinoma hepatocelular, e linfoma de Hodgkin's, conforme revisado por Brugnaro *et al.* (2015).

Há que se considerar, também, outros fatores que podem contribuir com o surgimento ou agravamento dessas comorbidades, como tabagismo, etilismo, sedentarismo, alimentação desbalanceada, estresse, co-infecções com vírus da hepatite B e C, doenças pré-existentes, uso de outros medicamentos, fatores genéticos, entre outros (Deeks, 2011; Brasil, 2018b).

Assim, atualmente as principais causas de óbito em PVHA estão associadas às comorbidades não-aids, diferentemente da era pré-TARV, em que as causas de óbito eram associadas principalmente com a profunda imunossupressão e desencadeamento de infecções oportunistas. As principais comorbidades atualmente presentes nas PVHA são doenças típicas do envelhecimento, como doença cardíaca isquêmica, acidente vascular encefálico e outras alterações do sistema nervoso central, dislipidemias, hepatopatias, doença renal crônica, diabetes mellitus, alterações ósseas, cânceres não relacionados à aids, entre outras (Crum-

Cianflone *et al.*, 2010; Deeks, 2011; Guaraldi *et al.*, 2011; Venkataramana, 2013; Ramana, 2014; Ngala *et al.*, 2015). Estas comorbidades são frequentes em indivíduos infectados pelo HIV (Hsu *et al.*, 2013; Maciel *et al.*, 2018), e aparecem cerca de 15 anos mais cedo nas PVHA do que na população em geral, caracterizando o “envelhecimento precoce” (Guaraldi *et al.*, 2011). Além disso, o processo inflamatório crônico apresentado pelas PVHA também é um importante mecanismo desencadeador do envelhecimento mais acelerado (Wing, 2016).

Portanto, muitas das comorbidades encontradas nas PVHA podem ser consequência do dano direto do vírus bem como da inflamação persistente e da toxicidade da terapia antirretroviral (Anthony *et al.*, 2006; Brasil, 2013; Zicari *et al.*, 2019).

Diante deste cenário, pode-se observar que ainda há necessidade de encontrar novas alternativas quanto à melhoria da saúde das PVHA, visando atenuar o impacto da própria infecção e dos efeitos adversos da TARV nestes indivíduos. Assim, tivemos a iniciativa de investigar um produto apícola – a própolis, a qual apresenta inúmeras propriedades terapêuticas, na promoção de benefícios à saúde das PVHA sob TARV.

2. Própolis

2.1. Aspectos gerais

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a própolis é classificada como um produto opoterápico, coletada a partir de espécies vegetais e que sofre adição de secreções da abelha (Brasil, 2011). A própolis é elaborada pelas abelhas a partir de material coletado de diferentes partes das plantas, como brotos, ramos, cascas de árvores, exsudatos resinosos e botões florais, ao qual as abelhas adicionam enzimas salivares, cera e pólen (Bankova, 2005). Dessa forma, a própolis caracteriza-se como um material lipofílico, resinoso, balsâmico (Fokt *et al.*, 2010) e de matriz complexa (Braakhuis, 2019).

Em relação às suas características organolépticas, a própolis apresenta aspecto duro e quebradiço em baixas temperaturas, e apresenta-se como material

References

- Bachiega, T.F., Orsatti, C.L., Pagliarone, A.C., Sforcin, J.M., 2012. The effects of propolis and its isolated compounds on cytokine production by murine macrophages. *Phytother. Res.* 26, 1308-1313.
- Búfalo, M.C., Bordon-Graciani, A.P., Conti, B.J., Golim, M.A., Sforcin, J.M., 2014. The immunomodulatory effect of propolis on receptors expression, cytokine production and fungicidal activity of human monocytes. *J. Pharm. Pharmacol.* 66, 1497-1504.
- Búfalo, M.C., Ferreira, I., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Cruz, M.T., Lopes, M.C., Batista, M.T., Sforcin, J.M., 2013. Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated proinflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. *J. Ethnopharmacol.* 149, 84-92.
- Burdock, G.A., 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem. Toxicol.* 36, 347-363.
- Chanput, W., Mes, J.J., Wichers, H.J., 2014. THP-1 cell line: na in vitro cell model for immune modulation approach. *Int. Immunopharmacol.* 23, 37-45.
- Conti, B.J., Bankova, V., Sforcin, J.M., 2015. Chemical composition of the same Brazilian propolis sample analysed in 1997 and in 2012: no freezing effect. *Nat. Prod. Commun.* 10, 1279-1280.

- Coskun, Z.M., Ersoz, M., Gecili, M., Ozden, A., Acar, A., 2020. Cytotoxic and apoptotic effects of ethanolic propolis extract on C6 glioma cells. *Environ. Toxicol.* 35, 768-773.
- Curti, V., Zaccaria, V., Tsetegho Sokeng, A.J., Dacrema, M., Masiello, I., Mascaro, A., D'Antona, G., Daglia, M., 2019. Bioavailability and in vivo antioxidant activity of a standardized polyphenol mixture extracted from brown propolis. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 1250.
- Duca, A., Sturza, A., Moacă, E.A., Negrea, M., Lalescu, V.D., Lungeanu, D., Dehelean, C.A., Muntean, D.M., Alexa, E., 2019. Identification of resveratrol as bioactive compound of propolis from western Romania and characterization of phenolic profile and antioxidant activity of ethanolic extracts. *Molecules* 24, 3368.
- Dzialo, M., Mierziak, J., Korzun, U., Preisner, M., Szopa, J., Kulma, A., 2016. The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 160.
- Exner, M., Minar, E., Wagner, O., Schillinger, M., 2004. The role of heme oxygenase-1 promoter polymorphisms in human disease. *Free Radic. Biol. Med.* 37, 1097-1104.
- Fu, R., Zhang, Y., Peng, T., Guo, Y., Chen, F., 2015. Phenolic composition and effects on allergic contact dermatitis of phenolic extracts *Sapium sebiferum* (L.) Roxb. Leaves. *J. Ethnopharmacol.* 162, 176-180.
- Gabay, C., Lamacchia, C., Palmer, G., 2010. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.* 6, 232-241.
- Geissmann, F., Auffray, C., Palframan, R., Wirrig, C., Ciocca, A., Campisi, L., Narni-Mancinelli, E., Lauvau, G., 2008. Blood monocytes: distinct subsets, how they relate to dendritic cells, and their possible roles in the regulation of T-cell responses. *Immunol. Cell Biol.* 86, 398-408.
- Hori, J.I., Zamboni, D.S., Carrão, D.B., Goldman, G.H., Berretta, A.A., 2013. The inhibition of inflammasome by Brazilian propolis (EPP-AF). *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013, 418508.
- Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G. Q., Hu, F.L., 2014. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules* 19, 19610-19632.

- Hussain, T., Tan, B., Yin, Y., Blachier, F., Tossou, M.C., Rahu, N., 2016. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016, 7432797.
- Ishihara, Y., Takemoto, T., Itoh, K., Ishida, A., Yamazaki, T., 2015. Dual role of superoxide dismutase 2 induced in activated microglia: oxidative stress tolerance and convergence of inflammatory responses. *J. Biol. Chem.* 290, 22805-22817.
- Jeon, Y.D., Kee, J.Y., Kim, D.S., Han, Y.H., Kim, S.H., Kim, S.J., Um, J.Y., Hong, S.H., 2015. Effects of *Ixeris dentata* water extract and caffeic acid on allergic inflammation in vivo and in vitro. *BMC Complement. Altern. Med.* 15, 196.
- Lopez-Castejon, G., Brough, D., 2011. Understanding the mechanism of IL-1 β secretion. *Cytokine Growth Factor Rev.* 22, 189-195.
- Moon, P.D., Han, N.R., Lee, J.S., Kim, H.M., Jeong, H.J. *p*-coumaric acid, an active ingredient of *Panax ginseng*, ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions through inhibition of thymic stromal lymphopoietin in mice. *J. Ginseng Res.*, in press.
- Pisoschi, A.M., Pop, A., 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur. J. Med. Chem.* 97, 55-74.
- Saito, Y., Tsuruma, K., Ichihara, K., Shimazawa, M., Hara, H., 2015. Brazilian green propolis water extract up-regulates the early expression level of HO-1 and accelerates Nrf2 after UVA irradiation. *BMC Complement. Altern. Med.* 15, 421.
- Sforcin, J.M., 2016. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytother. Res.* 30, 894-905.
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., Almeida-Aguiar, C., 2015. Propolis: a complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2015, 1-29.
- Szliszka, E., Kucharska, A.Z., Sokół-Łętowska, A., Mertas, A., Czuba, Z.P., Król, W., 2013. Chemical composition and anti-inflammatory effect of ethanolic extract of Brazilian green propolis on activated J774A.1 macrophages. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013, 976415.
- Taofiq, O., González-Paramás, A.M., Barreiro, M.F., Ferreira, I.C.F.R., 2017. Hydroxycinnamic acids and their derivatives: cosmeceutical significance, challenges and future perspectives, a review. *Molecules* 22, 281.

- Toreti, V.C., Sato, H.H., Pastore, G.M., Park, Y.K., 2013. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2013, 1-13.
- Wided, K., Hassiba, R., Mesbah, L., 2014. Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pak. J. Pharm. Sci.* 27, 1891-1897.
- Wu, M.L., Ho, Y.C., Lin, C.Y., Yet, S.F., 2011. Heme oxygenase-1 in inflammation and cardiovascular disease. *Am. J. Cardiovasc. Dis.* 1, 150-158.
- Wu, Z., Zhu, A., Takayama, F., Okada, R., Liu, Y., Harada, Y., Wu, S., Nakanishi, H., 2013. Brazilian green propolis suppresses the hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation in microglia. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2013, 906726.
- Yuan, W., Chang, H., Liu, X., Wang, S., Liu, H., Xuan, H., 2019. Brazilian green propolis inhibits Ox-LDL-stimulated oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells partly through PI3K/Akt/mTOR-mediated Nrf2/HO-1 pathway. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2019, 5789574.

Glossary:

BCA, bicinchoninic acid; CD, cluster of differentiation; DNFB, 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene; DPPH, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl; EC, effective concentration; FBS, fetal bovine serum; FITC, fluorescein isothiocyanate conjugate; GC-MS, gas chromatography–mass spectrometry; HCl, *hydrochloric acid*; HEPES, 2-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid; HMOX-1, heme oxygenase-1; HPLC–PDA–ESI/MSⁿ, high performance liquid chromatography coupled to photodiode-array detector and interfaced with a electrospray ionization mass spectrometer; ICAM-1, intercellular adhesion molecule-1; IL, interleukin; IFN- γ , *interferon gamma*; LPS, lipopolysaccharide; NaCl, *sodium chloride*; Nrf2, *nuclear factor-erythroid-2–related factor 2*; PBS, phosphate buffered saline; PVDF, polyvinylidene fluoride; ROS, reactive oxygen species; RPMI, Roswell Park Memorial Institute; SDS-PAGE, *sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis*; SOD, superoxide dismutase; TNF- α , tumor necrosis factor alpha; WST-1, [2-(4-Iodophenyl)- 3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2Htetrazolium.

Conclusões

O consumo de própolis durante 3 meses (500 mg/dia) por PVHA assintomáticas sob TARV promoveu:

- Aumento na atividade de CPK, considerado uma alteração sem importância clínica relevante. Visto que os pacientes não apresentaram mioglobinúria e sinais clínicos de rabdomiólise, a administração da própolis pode ser considerada segura e sem efeitos adversos;

- Aumento na concentração de magnésio, indicando que a própolis pode contribuir para a manutenção da homeostase do organismo, uma vez que esse íon está envolvido em várias reações metabólicas e é um importante regulador fisiológico e hormonal;

- Associação entre imunidade adequada (alta contagem de células T CD4⁺) e menor estado inflamatório (altos níveis de IL-10), o que foi reforçado pela correlação inversa entre as citocinas anti-inflamatória IL-10 e a pró-inflamatória IFN- γ ;

- Aumento na expressão de Foxp3, fator de transcrição característico de células T reguladoras, indicando que o consumo de própolis modula a resposta imune das PVHA, favorecendo um perfil anti-inflamatório;

- Aumento na proliferação de linfócitos T CD4⁺, indicando que o consumo de própolis pode melhorar a resposta imunológica das PVHA sob TARV.

Considerações finais

Considerando a importância da utilização da TARV e o início da terapia cada vez mais precoce, procuramos nesse trabalho uma alternativa que minimizasse seus efeitos adversos e promovesse melhor qualidade de vida às PVHA. Nesse sentido, a própolis apresentou resultados interessantes e promissores, não acarretando efeitos colaterais e conferindo, conseqüentemente, segurança após sua ingestão.

A própolis aumentou a concentração de magnésio, a linfoproliferação e promoveu perfil anti-inflamatório em PVHA assintomáticas sob TARV. Esses achados não foram associados às características sociodemográficas e terapêuticas, tampouco às mudanças nos hábitos alimentares destes indivíduos.

Ademais, resultados adicionais obtidos com linhagem celular de monócitos humanos, em projeto paralelo, indicaram que a própolis exerce atividade antioxidante, potencialmente envolvida em sua ação anti-inflamatória e antialérgica, o que também pode ser uma contribuição para as PVHA.

Novos estudos são necessários para a adoção da própolis como intervenção efetiva para as PVHA, em especial àquelas com comorbidades ou falha terapêutica, não contempladas neste estudo.