

# EFEITO CICATRIZANTE DA GELÉIA REAL *IN NATURA* EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EM CAPRINOS: ASPECTOS MICROSCÓPICOS

PAIXÃO, S. F. <sup>1</sup>; PEREIRA, H.M. <sup>2</sup>; PEREIRA, D. P. <sup>3</sup>; SANTOS, H. P.<sup>2</sup> SOUSA, V. E.<sup>3</sup>

## 1- INTRODUÇÃO

A cicatrização constitui um conjunto de alterações teciduais importantes na manutenção da integridade do organismo, que envolve inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação (GARROS et al. 2006).

Apesar da presença e do constante uso de substâncias sintéticas, principalmente antiinflamatórias, atualmente há um crescente interesse pela apiterapia que por definição, é o uso medicinal dos produtos das abelhas, para diferentes fins terapêuticos. Dentre os produtos apiterápicos o mel, é o alimento produzido pelas abelhas melíferas, a partir do néctar das flores e de outras secreções de partes da planta (JEFFREY & ECHAZARRETA, 1996). Já a própolis é elaborada a partir de exsudatos de resinas que as abelhas recolhem de determinadas plantas (MENEZES, 2005). Enquanto que a Geléia Real é uma substância leitosa produzida pelas glândulas salivares das abelhas operárias e representa a principal fonte de alimento das rainhas (MARCUCCI, 2002).

A geléia real é um produto secretado pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares de abelhas jovens (3-12 dias) utilizada para alimentar a rainha por toda sua vida (PIERRE, 1981). Segundo Breyer (1991), a Geléia Real apresenta a consistência fluida, cor branca gelatinosa, às vezes amarela sabor ácido, semelhante à geléia de pêssego, odor azedo e muito aromático. Vários autores estudaram a composição da geléia real e verificaram, que ela é um alimento rico em vitaminas do complexo B, minerais (K, Na, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn), proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais e açúcares. Possui 33% de matéria seca, pH entre 3,6 e 4,8 e água entre 50 a 70% (BENITEZ, 2000). De acordo com Lengler (2003), a geléia real é utilizada como estimulante do apetite, no tratamento de anemias, atua em conjunto como antioxidantes, possui ação bactericida, anti-séptica, cicatrizante e aumenta anticorpos para defesa do organismo.

Teixeira et al., (2000) ao estudarem o efeito cicatrizante do uso tópico da própolis verde e da Geléia Real, assim como administração oral da geléia real no tratamento de feridas cutâneas induzidas experimentalmente em camundongos observaram que não houve diferença significativa no tempo de cicatrização, entretanto, houve diferenças no aspecto da evolução da ferida. Em feridas tratadas com o creme de Geléia Real, constatou-se a formação de uma crosta fina de coloração rósea, sem contração da pele, com aspecto seco, sem purulência, ao contrário dos animais tratados com o creme de própolis verde. Quanto aos animais tratados com suspensão oral de Geléia Real, as feridas apresentaram sangramento, secreção purulenta, formação de uma crosta espessa avermelhada e contração da pele. Porém, nesse estudo os autores concluíram que os tratamentos foram diferentes em relação à qualidade da cicatrização e análises histológicas e bioquímicas, sendo necessária avaliar a morfologia e a constituição do tecido regenerado.

Considerando que ao longo do tempo, o homem vem sempre procurando mecanismos químicos, biológicos ou naturais que acelerem as fases de cicatrização e que a Geléia Real é um produto natural com propriedades capaz de acelerar estas fases, é que este estudo teve por objetivo avaliar os aspectos macroscópicos do efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas em caprinos.

## 2- MATERIAL E MÉTODOS

---

<sup>1</sup> Mestre em Ciências Veterinárias

<sup>2</sup> Curso de Medicina Veterinária-UEMA, helderpereirap@yahoo.com.br.

<sup>3</sup> Bolsistas de Iniciação Científica - UEMA

Para o presente estudo foi utilizada geléia real *in natura* produzida pelo apiário Wenzel em São Carlos - SP. Apresenta uma composição média padrão referente a Umidade 24%, Nitrogênio total 4,58 %, Proteína total 30,62%, Fósforo total 0,67%, Enxofre 0,38%, Dextrose total, 11,70%, Sacarose 3,35%, Extrato etéreo 15,22%, Índice iodométrico 12,51%, pH 3 a 4, ácido pantotênico 2,00%, Niacina 9-149 mcg, Inositol 100 mcg, Riboflavina 9-19mcg, Piridoxina 2-8 mcg, ácido fólico 0,2-0,35 mcg, Biotina 0,7-3 mcg,, hormônios 2,4%, Vitamina C, Vitamina A e D e Vitamina do Complexo B, Manganês, Cálcio, Sódio, Potássio, Enxofre, Fósforo, Alumínio, Manganês, Ferro, Cobre, Zinco, Cobalto. Foram utilizados 15 caprinos SRD, fêmeas, com idade variando de 18 a 24 meses, onde foram vermifugados e submetidos a exame clínico geral. Posteriormente, os distribuímos em 3 grupos experimentais de 5 animais, assim denominados: Grupo Controle (GC) – animais tratados com solução salina a 0,9%; Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com 0,1cm<sup>3</sup> de geléia real *in natura*; Grupo Pomada cicatrizante (GP) - animais tratados com 0,1 cm<sup>3</sup> de pomada alopática constituída de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1% (laboratório Pfizer – Brasil).

Para a realização das feridas, os animais foram pesados apresentando em média 27,5Kg. Em seguida realizou-se tricotomia da fossa paralombar direita e esquerda. O protocolo anestésico empregado foi anestesia local infiltrativa em L invertido com cloridrato de lidocaína a 2% com vasoconstrictor na dose de 7mg/ Kg de peso vivo. Após estes procedimentos realizou-se assepsia local com álcool iodado. Foi realizada uma demarcação circular de 2,5 cm de diâmetro com um marcador circular e tinta. Deste modo, obtivemos uma área da ferida de 5cm<sup>2</sup>. Demarcada as áreas, realizou-se uma incisão circular com bisturi, logo após retirou-se o segmento de pele, expondo a fáscia muscular. Durante o ato cirúrgico a hemorragia foi contida por compressão mecânica com gaze estéril. Após indução das feridas cirúrgicas foi iniciado o tratamento tópico dos grupos experimentais por 10 dias a cada 24 horas.

As feridas da fossa paralombar esquerda foram avaliadas microscopicamente no 2º, 6º e 10º dia pós-operatório (p.o) realizando-se biópsia de pele em todos os animais dos grupos experimentais. Foram retirados segmentos com margem de 0,5 cm<sup>2</sup> do bordo da ferida, e posteriormente distendido sobre um pedaço de papel filtro de 2 cm<sup>2</sup>. Estes foram conservados completamente imersos em Paraformaldeído a 4% sob refrigeração de 8°C por um período de 24 horas. Em seguida desidratados em soluções crescentes de álcool (70, 80 e 90% e álcool absoluto), diafanizado em xilol e incluído em parafina histológica, conforme protocolo descrito por Propet et al., (1992). Os cortes histológicos foram seccionados a 4µm de espessura, em micrótomo de rotação HM 360 MICROM. Em seguida as lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina (He), para posterior análise morfológica e coradas com Picrossírius para análise morfométrica das fibras de colágeno. A análise morfológica e morfométrica foi realizada utilizando-se um analisador de imagem computadorizado Leica Qwin D-1000, versão 4.1 (Cambridge, UK) do setor de Patologia animal / Laboratório de patologia (BIOLAI) do Centro de Ciências Agrárias (CCA)/ Universidade Federal do Piauí (UFPI). Para análise morfológica foram selecionados ao acaso 10 campos/ lâminas com área 371,7 µm<sup>2</sup> /campo onde foram quantificados neutrófilos, macrófagos, congestão vascular e edema, proliferação de fibroblastos, formação de fibras de colágeno, neoformação vascular e reepitelização. O mesmo procedimento foi empregado para análise das fibras colágenas. Esta última foi realizada através do método de contagem por diferenciação de cor, onde se mensurou o nível de cor vermelha, em um campo de até 10µm<sup>2</sup> de área, onde se avaliou o maior e o menor nível de cor. A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa Graphpad InStat for Windows versão 2.0/2001 e o delineamento experimental foi em blocos casualizados. Realizou-se ainda teste de comparação de médias para as áreas mensuradas nos grupos experimentais, por meio da análise de variância e o teste de Tukey pareado com intervalo de confiança de 95% (p< 0,05).

### 3- RESULTADOS

Na quantificação de neutrófilos não houve diferença estatística entre os grupos controle (GC), grupo da geléia real (GG) e o grupo da pomada (GP) no 2º e no 6º dia (Tab. 1). Em relação ao número de macrófagos, observou-se ausência destas células no 2º dia p.o nos três grupos experimentais, no 6º dia observou-se uma quantidade expressiva de macrófagos, em ambos os grupos, porém não diferiram estatisticamente (Tab.2).

**Tabela 1.** Média e desvio padrão do número de neutrófilos em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos nos grupos controle (GC), grupo da geléia (GG) e grupo da pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório.

Dias	Grupos			Valor de p
	GC	GG	GP	
2º DIA	44 <sup>a</sup> (19,7)	52 <sup>a</sup> (17)	48 <sup>a</sup> (13,5)	0,7084
6º DIA	36 <sup>b</sup> (15,4)	43 <sup>b</sup> (14,5)	38 <sup>b</sup> (10,5)	0,5710
10º DIA	0	0	0	

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente com intervalos de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2.** Média e desvio padrão do número de macrófagos em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos nos grupos controle (GC), grupo da geléia (GG) e grupo da pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório

Dias	Grupos			Valor de p
	GC	GG	GP	
2º DIA	0	0	0	
6º DIA	37 <sup>a</sup> (10,56)	38 <sup>a</sup> (12,17)	35 <sup>a</sup> (8,38)	0,7947
10º DIA	17 <sup>b</sup> (4,82)	18 <sup>b</sup> (4,82)	15 <sup>b</sup> (5,02)	0,3410

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente com intervalos de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

Com relação à avaliação histológica, no grupo controle verificou-se edema intersticial acentuado e acentuada congestão vascular no 2º dia p.o, ocorrendo diminuição na intensidade desses processos no 10º dia. No 6º dia as feridas apresentavam proliferação de fibroblastos e acentuada presença de fibras de colágeno. Com 10 dias havia reepitelização parcial da epiderme e a presença de grande número de fibroblastos e feixes de fibras colágenas. No grupo das feridas tratadas com geléia real observou-se no 2º dia edema intersticial não acentuado e não apresentou congestão vascular no campo da lesão. No 6º dia de tratamento, verificou-se proliferação fibroblástica e moderada deposição de fibras de colágeno, acentuada proliferação de capilares neoformados. No 10º dia as feridas tratadas apresentavam-se totalmente reepitelizada, com acentuada proliferação fibroblástica e presença de feixes de colágeno dispostos na superfície. No grupo dos animais tratados com a pomada, a avaliação histológica das feridas no 2º dia pós-operatório mostrou ausência de congestão vascular e edema intersticial não acentuado. No 6º dia p.o observou-se acentuada proliferação fibroblástica e presença de grande deposição de fibras colágenas. Com 10 dias, a lesão apresentava reepitelização parcial, neoformação capilar e presença acentuada de fibroblastos e fibras de colágeno (Tab. 3). Quanto a quantificação das fibras de colágeno realizada no 2º, 6º e 10º dia p.o, os resultados demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos controle

(GC), da geléia (GG) e da pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dia. Porém em todos os grupos observou-se um aumento destas fibras. Logo o grupo GG e o grupo GC apresentaram média de colágeno maiores em comparação ao grupo GP (Tab. 4).

**Tabela 3** Avaliação microscópica qualitativa de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo controle (GC), grupo da geléia (GG) grupo da geléia (GG) e grupo da pomada (GP) levando-se em consideração congestão vascular, edema, proliferação fibroblástica, fibras de colágeno, reepitelização e neoformação capilar no 2º, 6º e 10º dia p.o.

Grupos/ dias	congestão vascular	edema	proliferação fibroblástica	Fibras de colágeno	Reepitelização	Neoformação Capilar
GC2	++	+++	++	++	++	+
GC6	+	+	++++	++++	++	++++
GC10	+	+	++++	++++	+++	++++
GG2	+	++	++	++	++	+
GG6	+	+	++++	+++	+++	++++
GG10	+	+	++++	++++	++++	++++
GP2	++	++	++	+++	++	+++
GP6	+	+	++++	++++	+++	++++
GP10	+	+	++++	++++	+++	++++

+ = Ausência de congestão vascular/ ausência de edema/ausência de proliferação fibroblástica/ ausência de fibras de colágeno/ ausência do processo de reepitelização/ ausência de Neoformação capilar; ++= Não acentuada congestão vascular/ não acentuada edema/ discreta proliferação fibroblástica/ discreta fibras colágenas/ Reepitelização parcialmente pouco evidente/ neoformação muito rara; +++= Acentuada congestão vascular/Acentuada edema/Moderada proliferação fibroblástica/ Moderada fibras de colágeno/ Reepitelização parcialmente evidente/ Neoformação Capilar; ++++= Acentuada proliferação fibroblástica/acentuada fibras de colágeno/ Reepitelização completa/ Neoformação capilar acentuada.

**Tabela 4.** Média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos controle (GC), geléia real (GG) e pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório.

Dias	Grupos			Valor de p
	GC	GG	GP	
2º DIA	220 <sup>a</sup> (19)	225 <sup>a</sup> (39)	215 <sup>a</sup> (31)	0,5037
6º DIA	218 <sup>b</sup> (20)	233 <sup>b</sup> (20)	215 <sup>b</sup> (30)	0,5699
10º DIA	229 <sup>c</sup> (4)	236 <sup>c</sup> (11)	216 <sup>c</sup> (36)	0,7661

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente com intervalos de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

#### 4- DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na quantificação de neutrófilos demonstraram que a presença de neutrófilos nos três grupos experimentais nas primeiras 48 horas evidenciam uma resposta inflamatória aguda com a presença destas células corroborando com Curi et al., (2003). Entre o 2º e 6º dia houve uma redução significativa no número de neutrófilos paralelamente a um aumento no número de macrófagos, o que caracteriza o processo de cicatrização. Segundo Di Pietro, (1995) as células que surgem na região entre o segundo e o quinto dia são os macrófagos que ao contrário do papel desempenhado pelos neutrófilos, é o elemento mais crítico na indução do processo de reparo, pois auxilia os neutrófilos na eliminação de microorganismos pela fagocitose.

Os resultados obtidos na avaliação histológica revelaram que as feridas dos animais dos três grupos apresentaram característica de respostas inflamatória aguda caracterizada pela presença de polimorfonucleares, congestão vascular e edema, semelhantes aos descritos por Malbebaum et al., (2003).

O grupo da geléia apresentou acentuada proliferação fibroblástica com deposição de feixes de fibras de colágeno, que apesar da quantificação de colágeno entre os grupos não apresentar diferença estatística significativa, o grupo da geléia apresentou valores médios maiores e crescentes nos três dias, implicando que o processo além de passar para a fase de maturação (ANDRADE, 2003) houve deposição de fibras de colágeno na matriz extracelular propiciando a reepitelização completa das lesões, o que caracteriza a cicatrização. Estes resultados são similares aos encontrados por Rahal et al., (2003) que verificou a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas limpas em ratos.

#### 5- CONCLUSÃO

Com base nos resultados desta pesquisa podemos concluir que:

A geléia real *in natura* parece ter efeito, acelerando o processo de cicatrização em feridas cutâneas induzidas experimentalmente na pele de caprino;

A evolução do processo de cicatrização em relação aos aspectos microscópicos foi semelhante nos grupos experimentais. Porém os animais tratados com geléia tiveram uma reepitelização completa com deposição de fibras de colágeno em maior quantidade que no grupo controle e no grupo da pomada;

A geléia pode ser uma alternativa para o tratamento de feridas cutâneas em pele de caprinos.

#### 6- REFERÊNCIAS

ANDRADE, E. **Efeito do uso tópico do extrato aquoso da *Orbignya phalerata* (babaçu) na cicatrização de feridas cutâneas:** estudo controlado em ratos, 2003. 59 f. Tese (Dissertação de Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão.

BENITEZ, A.L.G.A. **Dietas protéicas sobre a produção de Geléia**, 2000. 140 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, São Paulo

BREYER, E.U. **Apicultura**. 6. ed. Paraná, 1991. 347 p.

CARRICO, T.J.; MEHROF, A.J.JR; COHEN, I.K. Biology of wound healing. **Surg Clin North Am**, v. 32, n. 6, p. 721-733, 1984.

CURI, R.; PEREIRA, L.M.; BALBINO, C. A. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.41, n.1, p. 27-46 2005.

DI PIETRO, L.A. Wound healing: the role of macrophage and other immune cells. **Shock**, v.4, p.233-40, 1995.

GARROS, I.C.; CAMPOS, A.C.L.; TIMBARA, E.M.; TENÓRIO, S.B.; TORRES, O.J.M.; AGULHAM, M.A.; ARAÚJOA, C.F.; SANTIS-ISOLAN, P.M.B.; OLIVEIRA, R.M.; ARRUDA, E.C.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas

em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta cirúrgica Brasileira**, v. 2, p. 55-65, 2006.

JEFFREY, A.E.; ECHAZARRETA, C.M. Medical uses of honey. **Biomed**, v. 7, p. 43-49, 1996

LEGLER, C.B. Produtos: a geléia real. **Revista Brasileira Agropecuária**, ano II, n.15, p. 54-62, 2003

MARCUCCI, M.C. Apiterapia. In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE APICULTURA, São Paulo, 2002. **Anais**. São Paulo: Universidade Bandeirante de São Paulo, 2002. p 95-102.

MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Brás Dermatol**, vol.78, n.4, p.393-415. 2003.

MENEZES, H. Própolis: artigo de revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arq. Inst. Bio**, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.

PIERRE, J.P. Apicultura: **Conocimiento de la abeja manejo de lê comeira**. México: Mundi-prensa, 1981. 289p.

RAHAL, S.C.; BACARENSE, A.P.F.R.L.; TANAKA, C.Y.; GRILLO, T.P.; LEITE, C.A.L. Utilização de própolis ou mel no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. **Archives of veterinary Science**, v.8, p.61-67, 2003.

TEIXEIRA, R.R.; GUIMARÊS, L.M.A.D.; OLIVEIRA, R.J.S., SILVA, L.C; RIBEIRO, R.I.M.; LOYOLA, A; MESPINDOLA, F.S. Análise do potencial cicatrizante dos produtos da colméia em feridas cutâneas induzidas cirurgicamente em camundongos. Resumo CNPQ. Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia, 2000.