

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas
induzidas experimentalmente em caprinos

SONÁLIA FERREIRA DA PAIXÃO

São Luís
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

SONÁLIA FERREIRA DA PAIXÃO

Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas
induzidas experimentalmente em caprinos

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau
de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área: Sanidade Animal

Orientador: Prof^o Dr^o Helder de Moraes Pereira

São Luís
2008

Paixão, Sonália Ferreira da.

Efeito cicatrizante da geléia real in natura em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos/ Sonália Ferreira da Paixão. - São Luís, 2008.

86f:il.

Dissertação (Mestrado) – Curso em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Maranhão, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira

1. Ferida. 2. Cicatrização 3. Geléia real. 4. caprinos. I. Título.

CDU: 636.39:616-003.9:544.777

Dissertação de Mestrado aprovada em _____ de _____ de 2008 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^o Dr^o Francisco Solano Feitosa Junior (1^o Membro)

Prof^a Dr^a Ana Lúcia Abreu Silva (2^o Membro)

Prof. Dr^o. Helder de Moraes Pereira (Orientador)

Aos meus pais José Ribeiro e Darcy,
minha irmã Poliana, por serem razão
e fonte de inspiração da minha vida.
E à minha avó, tios, primos e
amigos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido a realização desta pesquisa.

Aos meus pais, José Ribeiro e Darcy, que implantaram em mim, a semente da busca pelos ideais e pelos sonhos, através dos seus ensinamentos, incentivo e força.

A minha querida irmã Poliana, que apesar da distância, sempre me incentivou a continuar trilhando essa longa jornada em busca do conhecimento.

A minha avó Valézia, que sempre declara seu amor e admiração por mim e assim sinto-me com mais vontade de realizar meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Helder de Moraes Pereira por ter confiado em mim, pelos seus ensinamentos, dedicação e apoio que foram o alicerce para a concretização desse objetivo.

A Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e Universidade Federal do Piauí (UFPI), mais precisamente aos laboratórios de patologia animal, por ter concedido a realização desta pesquisa.

Aos meus colegas de turma, em especial a minha grande amiga Nívia, pela amizade de mais de dez anos, que ao longo do tempo, somente nos fortaleceu e nos proporcionou bons frutos.

A todos os professores do Mestrado e funcionários da universidade que com empenho, me permitiram concluir mais uma etapa da minha vida profissional.

“Quanto mais às pessoas acreditam em uma coisa, quanto mais se dedicam a ela, mais podem influenciar no seu acontecimento.”

DOV ÉDEN

EFEITO CICATRIZANTE DA GELÉIA REAL *IN NATURA* EM FERIDAS CUTÂNEAS INDUZIDAS EXPERIMENTALMENTE EM CAPRINOS¹

Autora: Sonália Ferreira da Paixão.

Orientador: Prof. Dr. Helder de Moraes Pereira

RESUMO

Esta pesquisa objetivou-se avaliar o efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas induzidas experimentalmente em caprinos. Foram utilizados 15 caprinos, SRD, fêmeas, com idade variando de 18 a 24 meses, divididos em três grupos de cinco animais. As feridas cutâneas foram realizadas na fossa paralombar direita e esquerda e os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos: Grupo Controle (GC) – animais tratados com solução salina a 0,9%, Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com geléia real *in natura* e Grupo Pomada Cicatrizante (GP) – animais tratados com pomada alopática constituída de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1%. As feridas foram avaliadas macroscopicamente durante dez dias consecutivos, mensuradas a cada 24 horas e analisadas histologicamente no 2º, 6º e 10º dia pós-operatório utilizando-se um analisador de imagem computadorizado Leica Qwin D-1000, versão 4.1 (Cambridge, UK). Os resultados revelaram que macroscopicamente não houve diferença quanto ao tempo de cicatrização entre os grupos e não apresentaram diferença no aspecto da evolução da ferida. O grupo da geléia apresentou uma contração média de 84 % percentualmente melhor que o grupo controle (75%) e o grupo pomada (77%). Microscopicamente não houve diferença estatística quanto a quantificação de neutrófilos e macrófagos em ambos os grupos. Na quantificação do colágeno o grupo GC apresentou média de 229 μm^2 , o grupo GG apresentou 236 μm^2 e o grupo GP 216 μm^2 no 10º dia p.o. Logo, no grupo da geléia real e da pomada observou-se maior proliferação de colágeno e epitelização das feridas. Portanto, conclui-se que apesar dos aspectos macroscópicos e microscópicos apresentarem resultados semelhantes entre os grupos, o grupo da geléia real apresentou maior contração da área da ferida, reepitelização completa com maior proliferação de colágeno podendo ser uma alternativa no tratamento de feridas.

Palavras-chave: Ferida, cicatrização, geléia real, caprinos.

¹ Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias - Sanidade Animal, Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, MA, 86p., abril 2008.

Healing of Royal Jelly in nature in Skin wound induced experimentally in goats

Author: Sonália Ferreira da Paixão
Adviser: Prof^o Dr^o Helder de Moraes Pereira

ABSTRACT

This research purposed to evaluate the effect of healing of royal jelly in nature in skin wound induced experimentally in goats. Used fifty goats, S.R.D, females, with age rangin from eightheen to twenty-four months, divided into tree groups of five animals. The skin wounds were performed in pit paralombar right and left and the animals were subjected the following treatments: control group (CG) - animals treated with saline solution to 0.9%, group royal jelly (GG) - animals treated with royal jelly in nature and healing pomade group (GP) – animals treated of pomade consists of desoxirribonuclease to 6.66%, fibrolisina 0.1% and clorafenicol to 1%. The wounds were evaluated macroscopically for ten consecutive days ,measured every wenty-fou hours and examined histologically at 2, 6 and 10 postoperative day using a computerized image analyser of Leica Qwin D-1000, version 4.1(Cambridge, UK). The results revealed that macroscopically there was no difference in how long the healing between groups and showed no difference in the appearance of the evolution of the wound. The group of royal jelly presented a contraction average percentage of 84% better than the control group (75%) in group of pomade (77%). Microscopically there was no statistical difference as the quantification of neutrophils and macrophages in both groups. At quantify of collagen, the group GC presented average of $229\mu\text{m}^2$, the group GG presented $236\mu\text{m}^2$ and group GG presented $215\mu\text{m}^2$ at 10^o day p.o. While, on the group of royal jelly and the group of pomade there was greater proliferation of collagen and epithelization the wounds. Therefore, it is concluded that despite the macroscopic and microscopic aspects submit similar results between the groups, the group of royal jelly showed greater contraction of the area of the wound, reepithelization complete with greater proliferation of collagen can be an alternative in the treatment of wounds.

Keywords: Wound, healing, royal jelly, goats.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	15
2.	OBJETIVOS.....	27
2.1	Objetivo Geral.....	27
2.2	Objetivos Específicos.....	27
3.0	Artigo I - Efeito cicatrizante da geléia real <i>in natura</i> em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos macroscópicos.....	29
4.0	Artigo II - Efeito cicatrizante da geléia real <i>in natura</i> em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos microscópicos.....	52
5.0	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	75
	REFERÊNCIAS.....	77
	ANEXO A – Normas editoriais da revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo controle (GC) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dias do processo de cicatrização.....	40
Tabela 2 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo Geléia (GG) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dia do processo de cicatrização.....	40
Tabela 3 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo pomada (GP) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dia de processo de cicatrização.....	41
Tabela 4 – Média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos controle (GC), tratados com geléia real (GG) e com pomada cicatrizante (GP) no 2º, 6º e 10º dia de evolução.....	42
Tabela 5 – Percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, após 10 dias de evolução na pele de acordo com o grupo experimental.....	43
Tabela 6 – 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 dia pós-operatório.....	59
Tabela 7 – 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 dia pós-operatório.....	60
Tabela 8 – 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, reepitelizaçãoe neoformação capilar no 2º, 6º e 10º dia p.o.....	62
Tabela 9 – 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 dia pós-operatório.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fotografia da pele de caprino- 2º dia p.o. As feridas cutâneas dos caprinos do grupo controle (A e B) e grupo da geléia real (C e D) evidenciam feridas sem coloração e exsudato nas superfícies. As feridas cutâneas do grupo da pomada apresentam feridas avermelhadas, sem exsudato e bordas regulares com necrose (E e F).....	37
Figura 2 –	Fotografia da pele de caprino no 6º dia p.o - Formação de crosta total feridas cutâneas de caprinos evidenciando-se crostas secas, coloração marrom, exuberantes, com exsudato e aderidas à pele nos grupos GC (A e B) e GG (C e D). No grupo GP as crostas apresentavam-se secas, coloração marrom, não exuberantes e aderidas à pele (E e F).....	38
Figura 3 –	Fotografia da pele de caprino no 10º dia p.o. Reepitelização das feridas cutâneas em caprinos com reepitelização completa de forma plana e delineada no grupo GC (A e B), GG (C e D) e GP (E e F).....	39
Figura 4 –	Gráfico da média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos controle (GC), tratados com geléia real (GG) e com pomada cicatrizante (GP) no 2º, 6º e 10º dia de evolução.....	42
Figura 5 –	Gráfico do percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente na pele d após 10 dias de evolução na pele de caprinos, de acordo com o grupo experimental	43
Figura 6 –	Gráfico da 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 dia pós-operatório	60
Figura 7 –	Gráfico da 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 dia	61
Figura 8 –	Fotomicrografia da pele de caprino no 2º, 6º e 10º dia p.o. As lesões cutâneas evidenciam no 2º dia migração de neutrófilos (seta preta) (GC 2º; GG2º) e edema (seta branca) (GG 2º; GP2º). Proliferação de fibroblastos (F) (GC 6º; GP6º) e neoformação vascular (NV) (GG6º). Reepitelização (R) e intensa fibras de colágeno (FC) nos grupos controle e geléia real (GG10º; GP10º).....	63
Figura 9 –	Gráfico da 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	64

- Figura 10 – Gráfico da 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 65
- Figura 11 – Fotomicrografia da pele de caprino onde se observa a disposição e quantidade de fibras colágenas quantificadas no 2º, 6º e 10º dia, nos três grupos experimentais (GC; GG e GP)..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

BIOLAI	– Laboratório de Patologia Clínica
CCA	– Centro de Ciências Agrárias
EGF	– Fator de crescimento Epitelial
GC	– Grupo controle
GG	– Grupo da geléia real
GP	– Grupo da pomada
HE	– Hematoxilina eosina
MHC	– Complexo Maior de Histocompatibilidade
P.O	– Pós- operatório
PDGF	– Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PMN	– Polimorfonucleares
SRD	– Sem raça definida
TGF-B	– Fator B de crescimento e Transformação
UEMA	– Universidade Estadual do Maranhão
UFPI	– Universidade Federal do Piauí

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A pele está exposta freqüentemente a traumatismo que desencadeiam soluções de continuidade com perdas extensas de tecidos, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional. As feridas lacerantes, úlceras, queimaduras, exérese de neoplasias e correções cirúrgicas de defeitos cutâneos exigem tratamento especializado para se obter retorno funcional e anatômico da região. A extensão da perda cutânea dificulta ou até mesmo impossibilita a aproximação das bordas, ocorrendo a cicatrização por segunda intenção, que é um processo mais lento, produzindo muitas vezes cicatrizes extensas, retração cicatricial e elevação do custo do tratamento (TENÓRIO et al., 1999).

A cicatrização é um fenômeno pela qual o organismo tende a reparar uma porção lesada. Envolve a integração de um conjunto de respostas químicas, físicas e biológicas que se traduzem por agregação plaquetária, coagulação sanguínea, formação de fibrina, reação inflamatória ao trauma, proliferação vascular e recomposição da cobertura superficial, garantindo assim, homeostasia do organismo (SINGER & CLARK, 1999).

Uma maneira clássica de se estudar o processo de cicatrização é observar os eventos ocorrentes após uma ferida produzida na pele, atingindo a epiderme e os tecidos mais profundos, pois ferida é uma interrupção de tecido em maior ou menor extensão, podendo afetar a pele, mucosa ou órgãos (FONTANA, 1996).

A maior parte dos autores classifica o processo em 03 fases: inflamatória, proliferativa ou fibroplasia, e modelação ou remodelação (PHILIPS, 2002; ANDRADE, 2003; PEREIRA, 1998). Já outros classificam de uma forma mais completa dividindo o processo em cinco fases principais: Coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (MALDELBAUM et al., 2003).

A fase inflamatória se inicia por uma constrição capilar imediata à ferida, objetivando uma coagulação intravascular, sendo sucedida por uma

dilatação capilar com o aumento de permeabilidade vascular produzida por mediadores inflamatórios, que permitem a passagem do plasma, eritrócitos e leucócitos do sangue para o local da ferida. As plaquetas se aderem e agregam formando um coágulo que restaura a homeostasia. Coágulo, fibrina e exsudato preenchem a ferida formando uma matriz sobre a qual fibroblastos e células endoteliais neoformadas constituirão o tecido de granulação (CORSI et al., 1994).

Para Curi et al. (2005), a fase inflamatória inicia-se com a ruptura de vasos sanguíneos e o extravasamento de seus constituintes. O processo que ocorre nos primeiros momentos são voltados para o tamponamento desses vasos, que quase concomitante ao estímulo lesivo, e devido à influência nervosa (descargas adrenérgicas), ação de mediadores oriundos da desgranulação de mastócitos, ocorre vasoconstricção como primeira resposta. Com a injúria do endotélio (ruptura, fissura ou erosão) dispara uma seqüência de eventos, iniciando-se com a deposição das plaquetas, formação de trombo e uma matriz preliminar que alicerçará a migração das células responsáveis pelo desencadeamento do processo de reparo.

No entanto, a fase inflamatória depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. Sendo que, os PMN chegam no momento da injúria tissular e ficam por um período que varia de 3 a 5 dias; são eles os responsáveis pela fagocitose das bactérias. Já os macrófagos são células inflamatórias mais importantes dessa fase, pois permanecem do 3º ao 10º dia fagocitando bactérias, debridando corpos estranhos e direcionando o desenvolvimento do tecido de granulação (MALDELBAUM et al., 2003).

O processo de cicatrização também é controlado por vários fatores de crescimento sintetizados por macrófagos, plaquetas, células endoteliais e linfócito T (FILHO, 1998). Os macrófagos e neutrófilos liberam uma série de fatores de crescimento como Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), o fator B de crescimento e Transformação (TGF- β) e também os fatores estimulantes de angiogênese, importantes na reconstrução tecidual,

juntamente com as plaquetas. Estas, por sua vez, liberam alfa-grânulos na lesão, iniciando a formação de tecido conjuntivo, além de liberar o PDGF, TGF-B e o fator de crescimento Epitelial (EGF) (GENTILHOMME et al., 1999). A combinação dos fatores PDGF, TGF-B E EGF e dos fatores angiogênicos induz a formação de tecidos de granulação, preenchendo a ferida. O PDGF estimula também a contração da ferida enquanto o EGF e o PDGF estimulam a migração de divisão celular, cobrindo a ferida com tecido de granulação. Assim, a reparação das feridas é fortemente influenciada pela presença e ativação dos fatores de crescimento (TERKELTUB & GINSBERGM, 1998).

Os neutrófilos oriundos da circulação são as primeiras células a alcançarem a região inflamada, sendo os tipos celulares predominantes entre o primeiro e segundo dia e sua função principal neste processo é de eliminação de possíveis microorganismos pela fagocitose (CORSI et al., 1994; CURI et al., 2005; MALDEBAUM et al., 2003).

As próximas células que surgem na região são os macrófagos derivados de monócitos do segundo ao quinto dia após a lesão 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, processa-os nos fagossomas e apresenta seus peptídeos pelo Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) às células T auxiliares (DI PIETRO, 1995; CLARCK, 1996).

Além do mais, os macrófagos são mediadores de transição entre a fase inflamatória e proliferativa, produzem citocinas que controlam a formação do tecido de granulação e proteases que digerem a fibrina e o colágeno desvitalizado (CORSI et al., 1994). A interleucina-1 é uma citocina produzida pelos macrófagos, importante fator quimiotático para os polimorfonucleares, além de ser angiogênica e estimular ou inibir a síntese de colágeno (FILDES et al., 1991; COBEN et al., 1994; ROBSON, 1998).

Uma outra fase de cicatrização é a fibroplasia ou reparação que se caracteriza pelo aparecimento de uma população celular específica que são os fibroblastos (GRINNEL et al., 1981). Com a presença local de macrófagos

derivados de monócitos e a produção e liberação de mediadores químicos produzidos por eles, a migração e a ativação de fibroblastos é intensificada.

Uma das principais funções dos fibroblastos é a síntese de colágeno (TIAGO, 1995), sendo que a resistência da cicatriz é determinada pela velocidade, quantidade e qualidade da deposição do mesmo (WITTE & BARBUL, 1997). Essas células são os principais componentes do tecido de granulação e após a influência dos fatores de crescimento e demais mediadores, derivados principalmente (mas não exclusivamente) dos macrófagos, são ativadas e migram das margens da ferida para o seu centro (CURI et al., 2005).

Com a fibroplasia se inicia a formação de tecido de granulação composto por macrófagos, fibroblastos e vasos neoformados que estão suportados por uma matriz frouxa de fibronectina, ácido hialurônico e colágeno tipo I e II (GUIDGLI NETO, 1992).

O tecido de granulação é edemaciado porque o endotélio capilar não apresenta estruturas juncionais completas e permite a passagem de líquidos para o interstício e cerca de cinco dias após, esse tecido preenche todo o espaço da ferida e o epitélio da epiderme já adquire sua espessura normal, inclusive com o início da ceratinização (FILHO, 1998).

Segundo Curi et al. (2005) o tecido de granulação é edematoso e caracterizado pela presença de muitos espaços vazios, devido à imaturidade dos vasos, os quais, são extremamente exsudativos e sagram com facilidade. Ao serem observados a olho nu, a superfície deste tecido parece conter muitos grânulos que são as extremidades rombas de vasos neoformados que estão organizados perpendicularmente em direção à superfície e possuem uma coloração vermelha escura.

Também na fase proliferativa ocorre a angiogênese que é o processo pelo qual as células endoteliais secretam proteases que degradam a matriz extracelular, depois migram nos espaços perivasculares, proliferam e se alinham para formar novos vasos (FRANCO, 2003). Este processo pode ser creditado aos macrófagos que migram ao interior da ferida tornando-se anóxicos, o que estimula o crescimento dos capilares (KNIGHTON et al., 1981).

A neovascularização é essencial nesse estágio, porque permite a troca dos gases e a nutrição das células metabolicamente ativas (ECKERSLEY & DUDLEY, 1988).

Os fibroblastos depositam grandes quantidades de fibronectina que desempenha uma série de funções, mas atua especificamente como substrato necessário para fixação. Essas células passam por algumas alterações fenotípicas dramáticas que vão desde as células migratórias, replicativas e imaturas, até verdadeiras fábricas de produção de colágeno. Sendo uma proteína mais comumente encontrada em animais, e sua produção envolve diversos eventos pós-translacionais (CARVALHO, 2002).

O processo de reepitelização da ferida se inicia imediatamente logo após a lesão pelo mecanismo de “efeitos de vizinhança livre”. Células primitivas da camada basal do tecido epidermal possuem poder mitótico latente. Em tecidos normais, este se encontra inibido pelo contato existente entre as células pela “inibição por contato”. Com a ocorrência de uma lesão, este mecanismo inibitório desaparece e as células entram imediatamente em processo mitótico. Quando ativadas as células epidermais retraem os tonofilamentos intracelulares, ocorrem a dissolução dos desmossomos intercelulares e na periferia do interior da célula se formam filamentos de actina. Estas alterações liberam-nas da membrana basal e das células epiteliais adjacentes, permitindo assim, sua movimentação em direção ao centro da ferida (FRANCO, 2003).

A quantidade de colágeno aumenta com o tempo, e por volta de 2 semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. Ao mesmo tempo, começa haver a redução da síntese de glicosaminoglicanos, especialmente do ácido hialurônico. O colágeno do tipo I passa a predominar em relação ao tipo III e as fibras colágenas se tornam mais grossas e compactadas, comprimindo os capilares e reduzindo seu número. As células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situado logo abaixo da epiderme já regenerada. Os fibroblastos sintetizam actina e tornam-se contráteis (miofibroblastos), produzindo

contração da cicatriz e aproximando mais ainda as bordas da ferida (FILHO, 1998).

Após as fases de inflamação e de granulação, segue-se a fase de maturação na qual as células epiteliais remanescentes migram com movimentos amebóides sobre o tecido de granulação, onde formam uma camada sobre a qual estratificam outras (ANDRADE, 2003).

As fases finais do processo cicatricial são constituídas pela contração e aumento da resistência da cicatriz. A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida aberta, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão (VAN WINKLE JÚNIOR, 1967), sendo provocada pelos filamentos de actina dos miofibroblastos, pois quando há produção de colágeno e arranjo das suas moléculas, os miofibroblastos diminuem em número, quando se observa a relação do mecanismo de contração com a maturação do colágeno (ANDERSON, 1996).

Atualmente a resolução completa de uma ferida, somente pode ser considerada concluída após a maturação e remodelagem da matriz extracelular, pois este processo ocorre lentamente levando muitos meses ou às vezes anos e, mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% da resistência da pele normal (CURI et al., 2005).

A cicatriz passa a apresentar a forma de uma massa fibrosa acrescida de fibras colágenas. Observa-se apoptose dos fibroblastos e das células endoteliais, e os eosinófilos aparecem nas últimas fases de reparação, presumindo que possam estar ligados a fatores de crescimento (TODD et al., 1991).

Com a restauração da circulação sanguínea e o aumento dos níveis de oxigênio na área afetada, ocorre a facilitação da síntese do colágeno e da proliferação celular, havendo a inibição da angiogênese e da migração celular. A presença de fatores de crescimento influencia a produção de componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos, enquanto a composição da matriz extracelular pode influenciar a função celular (CARVALHO, 2002).

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. Mel, pólen e geléia real são valiosos complementos nutricionais e por sua vez possuem propriedades terapêuticas (MORALES, 2006).

A história da Apiterapia remonta do Egito antigo, Grécia e China. Hipócrates, médico grego, conhecido como o “pai da medicina” usava o veneno de abelha para tratar artrites e outras enfermidades articulares. De acordo com os papiros de Theban, escritos no ano de 1870 AC, os Egípcios alimentavam e curavam os seus filhos com mel. Plínio, o “velho” recomendava, já início do primeiro milênio, para uso externo, no tratamento de feridas, os produtos da colméia (MARCUCCI, 2002).

Nos últimos anos com o aumento do papel da medicina preventiva, se compreende a importância dos produtos naturais e seu consumo, contribuindo para que a Apiterapia, a Fitoterapia e outras linhas de medicina natural ganhem espaço dentro da medicina convencional (MORALES, 2006).

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, bem como de substâncias doces elaboradas por determinadas espécies vegetais e apresenta composição: água, frutose, glicose, sacarose, maltose, dissacarídeos, açúcares, lactose e glucolactose, cinzas e nitrogênio (JEFFREY & ECHAZARRETA, 1996).

Já a própolis é outro produto da colméia, elaborada a partir de exsudatos de resinas que as abelhas recolhem de determinadas plantas (MENEZES, 2005). Possui mais de 100 componentes que atuam em sinergismo e dentre eles destacam-se os açúcares, flavonóides, cinzas e vitaminas (MORALES, 2006).

A geléia real é um produto secretado pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares de abelhas jovens (3-12 dias) que serve para alimentar a rainha por toda sua vida (PIERRE, 1981). Segundo Lengler (2003) geléia real possui como benefícios a estimulação do apetite, tratamento de anemias, atua em conjunto como antioxidantes, possui ação bactericida, anti-séptica, cicatrizante e aumenta anticorpos para defesa do organismo.

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% (COUTO, 1991; PALMA, 1992; AZEVEDO, 1996; PEREIRA, 1996; BENITEZ, 2000).

Estudo sobre os efeitos clínicos da geléia real constatou-se que a mesma pode ser usada em gastroptoses, úlceras, feridas pós-operatórias, diabetes e outras. Além de ser um apiterápico muito usado no tratamento de doenças da pele, queimaduras de sol, ressecamento e eczema, possuindo também ação microbicida, anti-séptica e cicatrizante (BREYER, 1991).

Pereira et al. (2006) relatam que o mel apresenta atividade microbicida, anti-séptica, cicatrizante, fungicida dentre outras. Dunford et al. (2000) relatam que o mel tem sido usado no tratamento de feridas a mais de 2000 anos e que pesquisas vêm sendo desenvolvidas no sentido de explicar qual o mecanismo que desencadeia tais efeitos. Segundo Staunnt et al. (2005), o mel acelera o processo de cicatrização agindo diretamente nos tecidos. Esta ação ocorre através da diminuição do processo inflamatório, facilitando a chegada dos macrófagos, cuja função é combater agentes ali presentes, propiciando um meio favorável para a regeneração tecidual.

Na medicina popular é atribuída à própolis inúmeras propriedades biológicas, tais como: antibacteriana, antiviral, antifúngica, imunoestimulante, hipotensiva e citostática, de forma que tem despertado o interesse científico, a explicar com e o que condiciona este produto a tais propriedades (PEREIRA, 2006).

Teixeira et al. (2000) em um estudo sobre o potencial 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, houveram 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 a qualidade da cicatrização e análises histológicas e bioquímicas sendo necessária para avaliar a morfologia e a constituição do tecido regenerado.

Verificando-se a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas limpas por segunda intenção, induzidos cirurgicamente, 60 ratos foram submetidos aos tratamentos com própolis, mel e solução fisiológica a 0,9% em que as feridas foram mensuradas e analisadas histologicamente. A análise estatística das áreas não revelou diferenças significativas entre efeito de cada tratamento e número de dias após o tratamento. Histologicamente, os tratamentos com mel e própolis induziram melhor cicatrização pela redução a resposta inflamatória, havendo reepitelização mais rápida com própolis (RAHAL et al., 2003).

Em uma avaliação histológica da ação cicatrizante do extrato alcoólico da própolis sobre úlceras em mucosa oral de ratos, avaliação no tecido conjuntivo e tempo de cicatrização observou-se que o extrato alcoólico da própolis promoveu uma aceleração nos fenômenos relacionados à cicatrização se comparado ao grupo controle, pois houve diminuição no tempo de epitelização da úlcera em qualidade e quantidade das células ligadas ao infiltrado inflamatório. Logo, formulações farmacêuticas que contenham a própolis como princípio ativo favoreceu o processo de reparo de lesões ulceradas, acelerando o tempo de cicatrização (GREGÓRY et al., 2002).

Em outra pesquisa realizada também com ratos, observou-se a eficácia do mel na cicatrização de feridas cutâneas e concluiu-se que as feridas tratadas com mel cicatrizaram mais rápido do que feridas tratadas com solução salina. Os autores sugerem que o mel comercial pode acelerar a cicatrização da ferida quando aplicado topicamente devido suas propriedades energéticas e seu efeito hidrofóbico, além de atividade bacteriana (BERGMAN et al., 1983).

Paraventi (2004) avaliou o uso de geléia real e da própolis no tratamento de doença periodontal da atividade antimicrobiana da geléia real *in vitro* em linhagens de: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas gingivalis*, e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. A partir dos resultados obtidos isoladamente, também foi avaliada a atividade antimicrobiana da geléia real e da própolis em placas supra e subgingival, coletadas de indivíduos com periodontite crônica para as linhagens de *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* e linhagens de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Enquanto que, a geléia real bruta utilizada não apresentou efeito antimicrobiano em todos os experimentos realizados, e também não se mostrou eficaz como agente antimicrobiano nas placas supra e subgingivais de pacientes com periodontite crônica.

Em uma avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas em 20 pessoas com feridas de pele crônicas através da avaliação e o tempo de cicatrização das feridas observou-se que o tempo de cicatrização de todas as lesões foi 13 semanas e meia, 74% das úlceras lograram cicatrização antes desse período concluindo-se que a utilização da forma farmacêutica pomada de própolis foi eficiente na cicatrização de feridas (SANTOS et al., 2007).

Em outro estudo em queimaduras superficiais a pele de ratos avaliou-se a ação do mel e do açúcar com uma composição similar do mel. Observou-se que as feridas tratadas com mel histologicamente obteve-se uma cicatrização mais ativa e avançados do que as feridas tratadas com a solução de açúcar e mesmo sem tratamento. O tempo de evolução da cicatrização foi significamente menor no grupo do mel do que nos demais grupos e não houve a presença de necrose. Feridas tratadas com mel propiciaram uma intensa inflamação, exsudação e uma rápida regeneração do tecido epitelial, ou seja, uma rápida cicatrização (BURLANDO, 1978).

Já em outro experimento de indução de feridas cutâneas no dorso de búfalas para avaliação do efeito do mel, da nitrofurazona ou da solução fisiológica como grupo controle. Observou-se que no grupo de feridas tratadas com mel apresentaram tecido de granulação, formação de crosta e completa

cicatrização mais rápida do que as tratadas com nitrofurazona e as tratadas com soro no grupo controle. Histologicamente o grupo da nitrofurazona e o grupo controle apresentaram inflamação aguda e pouca proliferação de fibroblastos e angioblastos comparados com o grupo do mel (KUMAR et al., 1993).

Considerando-se 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, este estudo teve por objetivo avaliar os aspectos macroscópicos do efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas em caprinos.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar o efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos S.R.D.

2.2 Específicos

- Mensurar o tempo de cicatrização em feridas de pele tratadas com Geléia Real *in natura* e feridas tratadas com solução salina a 0,9% e pomada cicatrizante alopática constituída de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1%;
- Descrever as características macroscópicas das feridas induzidas durante o processo de cicatrização;
- Avaliar nas fases de cicatrização aspectos microscópicos como: número de neutrófilos e de macrófagos, congestão vascular, edema, proliferação de fibroblastos; formação de fibras de colágeno, reepitelização e neoformação capilar;
- Quantificar o colágeno tecidual durante o processo de cicatrização em diferentes tempos, através da técnica de morfometria.

ARTIGO I

Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos macroscópicos. Para ser enviado à revista Brazilian Journal of Veterinary Reserch and Animal Science.

**Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas
induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos macroscópicos**

**Effect healing of Royal Jelly in nature in Skin wound
induced experimentally in goats: macroscopic aspect**

Sonália Ferreira da PAIXÃO²; Helder de Moraes PEREIRA³

RESUMO

Esta pesquisa objetivou avaliar o efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas em caprinos. Foram utilizados 15 caprinos, S.R.D, fêmeas, com idade variando de 18 a 24 meses, divididos em três grupos experimentais de cinco animais. As feridas cutâneas foram realizadas na fossa paralombar direita e esquerda e os animais submetidos aos seguintes tratamentos: Grupo controle (GC) – animais tratados com solução salina a 0,9%, Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com geléia real *in natura* e Grupo Pomada cicatrizante (GP) animais tratados com pomada alopática constituída de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1%. As feridas foram avaliadas durante dez dias consecutivos e mensuradas a cada 24 horas. Os resultados revelaram que macroscopicamente não houve diferença quanto ao tempo de cicatrização entre os grupos e não apresentaram diferença no aspecto da evolução da ferida. Quanto a área da ferida não houve diferença significativa entre as médias dos grupos, sendo a média dos grupos GC 5,25 cm², GG 2,78 cm² e do GP 3,93 cm² no 10º dia p.o. O grupo da GG apresentou uma contração média de 84 % percentualmente melhor que o grupo GC (75%) e o grupo GP (77%). Portanto, conclui-se que apesar dos grupos apresentarem resultados macroscópicos semelhantes, o grupo da geléia real apresentou maior contração da área da ferida, indicando que a geléia real pode ser uma alternativa no tratamento de cicatrização de feridas.

Unitermos: Ferida, cicatrização, geléia real, caprinos.

² Pós-graduanda em Ciências Veterinárias-UEMA.

³ Departamento das Clínicas do Curso de Medicina Veterinária-UEMA.

INTRODUÇÃO

A pele está exposta freqüentemente a traumatismo que desencadeiam soluções de continuidade com perdas extensas de tecidos, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional. As feridas lacerantes, úlceras, queimaduras, exérese de neoplasias e correções cirúrgicas de defeitos cutâneos exigem tratamento especializado para se obter retorno funcional e anatômico da região. A extensão da perda cutânea dificulta ou até mesmo impossibilita a aproximação das bordas, ocorrendo a cicatrização por segunda intenção, que é um processo mais lento, produzindo muitas vezes cicatrizes extensas, retração cicatricial e elevação do custo do tratamento.⁴¹ A cicatrização constitui um conjunto de alterações teciduais importantes na manutenção da integridade do organismo, que envolve inflamação, quimiotaxia, proliferação celular, diferenciação e remodelação.^{5,17} Surgem como resposta às lesões de origem traumática ou por procedimentos cirúrgicos. Considerado o componente primordial no processo de reparação, por proporcionar os mecanismos pelos quais o tecido lesionado é preparado para reconstrução. Deste modo, considera-se o processo de cicatrização um fenômeno multimediado, localizado, transitório e autolimitado.¹⁷

A fase inflamatória se inicia por uma constrição capilar imediata à ferida, objetivando uma coagulação intravascular, sendo sucedida por uma dilatação capilar com o aumento de permeabilidade vascular produzida por mediadores inflamatórios, que permitem a passagem do plasma, eritrócitos e leucócitos do sangue para o local da ferida. As plaquetas se aderem e agregam formando um coágulo que restaura a homeostasia. Coágulo, fibrina e exsudato preenchem a ferida formando uma matriz sobre a qual fibroblastos e células endoteliais neoformadas constituirão o tecido de granulação.⁸

O processo de cicatrização também é controlado por vários fatores de crescimento sintetizados por macrófagos, plaquetas, células endoteliais e linfócito T.^{15,40} Estas células são ativadas por fatores quimiotáxicos, promovendo uma resposta imediata de neutrófilos e macrófagos que respondem rapidamente. A matriz extracelular recém-formada também proporciona plaquetas, células endoteliais e linfócito T.¹⁵ A combinação dos fatores PDGF, TGF-B E EGF e dos fatores angiogênicos induz a formação de tecidos de granulação, preenchendo a ferida.⁴⁰

Neutrófilos e macrófagos respondem rapidamente a agentes quimiotáxicos e estímulos ativadores. A matriz extracelular recém-formada também proporciona um substrato para a subsequente migração dos leucócitos.⁶ Os neutrófilos oriundos da circulação são as primeiras células a alcançarem a região inflamada, sendo os tipos celulares predominantes entre o primeiro e segundo dia e sua função principal neste processo é de eliminação de possíveis microorganismos pela fagocitose.^{6,10}

As próximas células que surgem na região são os macrófagos derivados de monócitos entre o segundo e o quinto dia 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, processa-os nos fagossomas e apresenta seus peptídeos pelo Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) às células T auxiliares.¹² Além do mais, os macrófagos produzem citocinas que controlam a formação do tecido de granulação e proteases que digerem a fibrina e o colágeno desvitalizado.⁸ A interleucina-1 é uma citocina produzida pelos macrófagos, importante fator quimiotático para os polimorfonucleares, além de ser angiogênica e estimular ou inibir a síntese de colágeno.^{14,7,36,6}

Uma outra fase do processo de cicatrização é a fibroplasia ou reparação que se caracteriza pelo aparecimento de uma população celular específica, que são os fibroblastos.¹⁸ Com a presença local de macrófagos derivados de monócitos e a produção e liberação de mediadores químicos produzidos por eles, a migração e a ativação de fibroblastos é intensificada. Essas células são os principais componentes do tecido de granulação e após a influência dos fatores de crescimento e demais mediadores, derivados principalmente dos macrófagos, mas não exclusivamente são ativadas e migram das margens da ferida para o seu centro.¹⁰

Também na fase proliferativa ocorre a angiogênese, que é o processo pelo qual as células endoteliais secretam proteases que degradam a matriz extracelular, depois migram nos espaços perivasculares, proliferam e se alinham para formar novos vasos.¹⁶ Este processo pode ser creditado aos macrófagos que migram ao interior da ferida tornando-se anóxicos, o que estimula o crescimento dos capilares.²⁰

O processo de reepitelização da ferida se inicia imediatamente após a lesão¹⁶ e a quantidade de colágeno aumenta com o tempo, pois por volta de duas semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. As células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situado logo

abaixo da epiderme já regenerada. Os fibroblastos sintetizam actina e tornam-se contráteis (miofibroblastos), produzindo contração da cicatriz e aproximando mais ainda as bordas da ferida.¹⁵

As fases finais do processo cicatricial são constituídas pela contração e aumento da resistência da cicatriz. A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida aberta, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão,⁴² sendo provocada pelos filamentos de actina dos miofibroblastos e pelo rearranjo das moléculas de colágeno.¹

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. Mel, pólen e geléia real são valiosos complementos nutricionais e por sua vez possuem propriedades terapêuticas.²⁴

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.¹⁹ Já a própolis é elaborada a partir de exsudatos de resinas que as abelhas recolhem de determinadas plantas.²⁵ 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.²⁴

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.³³ Segundo Breyer⁴ (1991), a geléia real apresenta a consistência fluida, cor branca gelatinosa, às vezes amarela, sabor ácido, semelhante à geléia de pêssego, odor azêdo 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%.^{9,28,2,31,3} De acordo com Lengler²¹ (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 al³⁹. (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 para avaliar a morfologia e a constituição do tecido regenerado.

Verificando-se a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas limpas por segunda intenção, induzidos cirurgicamente, 60 ratos foram submetidos ao tratamento com própolis, mel e solução fisiológica a 0,9% em que as feridas foram mensuradas e analisadas histologicamente. A análise estatística das áreas não revelou diferenças significativas entre efeito de cada tratamento e número de dias após o tratamento. Histologicamente, os tratamentos com mel e própolis induziram melhor cicatrização pela redução a resposta inflamatória, havendo reepitelização mais rápida com própolis.³⁵

Oryan e Zaker²⁷ (2002) utilizaram 40 coelhos da raça Nova Zelândia para observar a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas induzidas. Um grupo foi tratado com mel puro e no outro, as feridas não receberam nenhum produto. Após 21 dias de tratamento, os animais foram necropsiados e as lesões de todos os grupos foram coletadas para estudo histopatológico e imunohistoquímico. Os resultados revelaram que em todas as lesões ocorreram edemas, polimorfonucleares e mononucleares, células infiltrativas, epitelização e completa cicatrização. Sugerindo-se que mel puro aplicado em feridas cutâneas em ratos acelera o processo de cicatrização.

Paraventi²⁹ (2004) avaliou o uso de geléia real e da própolis no tratamento de doença periodontal da atividade antimicrobiana da geléia real *in vitro* em linhagens de: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas gengivalis*, e *Actinobacillus actinomycescomitans*. A partir dos resultados obtidos isoladamente, também foi avaliada a atividade antimicrobiana da geléia real e da Própolis em placas supra e subgengival, coletadas de indivíduos com periodontite crônica para as linhagens de *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gengivalis* e linhagens de *Actinobacillus actinomycescomitans*. A geléia real bruta utilizada não apresentou efeito antimicrobiano em todos os experimentos realizados, e também não se mostrou eficaz como agente antimicrobiano nas placas supra e subgengivais de pacientes com periodontite crônica.

Considerando-se 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 experimentalmente em caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente estudo foi utilizada geléia real *in natura* produzida pelo apiário Wenzel em São Carlos - SP. Apresenta uma composição média padrão referente à 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 pantatênico 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, provenientes da Fazenda Ipê no município de Humberto de Campos- Ma. Estes animais foram mantidos por 45 dias no setor de caprinocultura do Curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram vermifugados e submetidos a exame clínico. Alimentados com Capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) e mistura múltipla contendo 20% de Farelo de Soja, 15% de Uréia, 19% de Milho Moído, 30% de Sal (NaCl) e 15% de Sal Mineral.

Distribuiu-se em três grupos experimentais de cinco animais, assim denominados:

Grupo Controle (GC) – animais tratados com solução salina a 0,9%.

Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com 0,1cm³ de geléia real *in natura*.

Grupo Pomada cicatrizante (GP) – animais tratados com 0,1 cm³ 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, obteve-se uma área da ferida de 5cm². 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 física com gaze estéril. Em seguida foi iniciado o tratamento tópico dos grupos experimentais por 10 dias a cada 24 horas.

As feridas da fossa paralombar direita foram avaliadas macroscopicamente e mensuradas a cada 24 horas até a reepitelização, perfazendo um total de 150 observações. Para tanto, avaliou-se no 2º dia p.o, 6º dia p.o e 10º dia p.o os seguintes aspectos: hemorragia (presente ou ausente), crosta (parcial ou total, exuberante ou não exuberante, seca ou com secreção, e cor); tecido de granulação (presente ou ausente, e cor), tumefação, cor e crescimento de pêlos na área adjacente à ferida e epitelização.

As áreas das feridas foram mensuradas diariamente e calculadas utilizando-se a fórmula $A=rr.R.r$, onde $rr = 3,14$; R = raio maior da lesão; r =raio menor da lesão^{34,13,22} para quantificação da contração da área.

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% ($p < 0,05$).

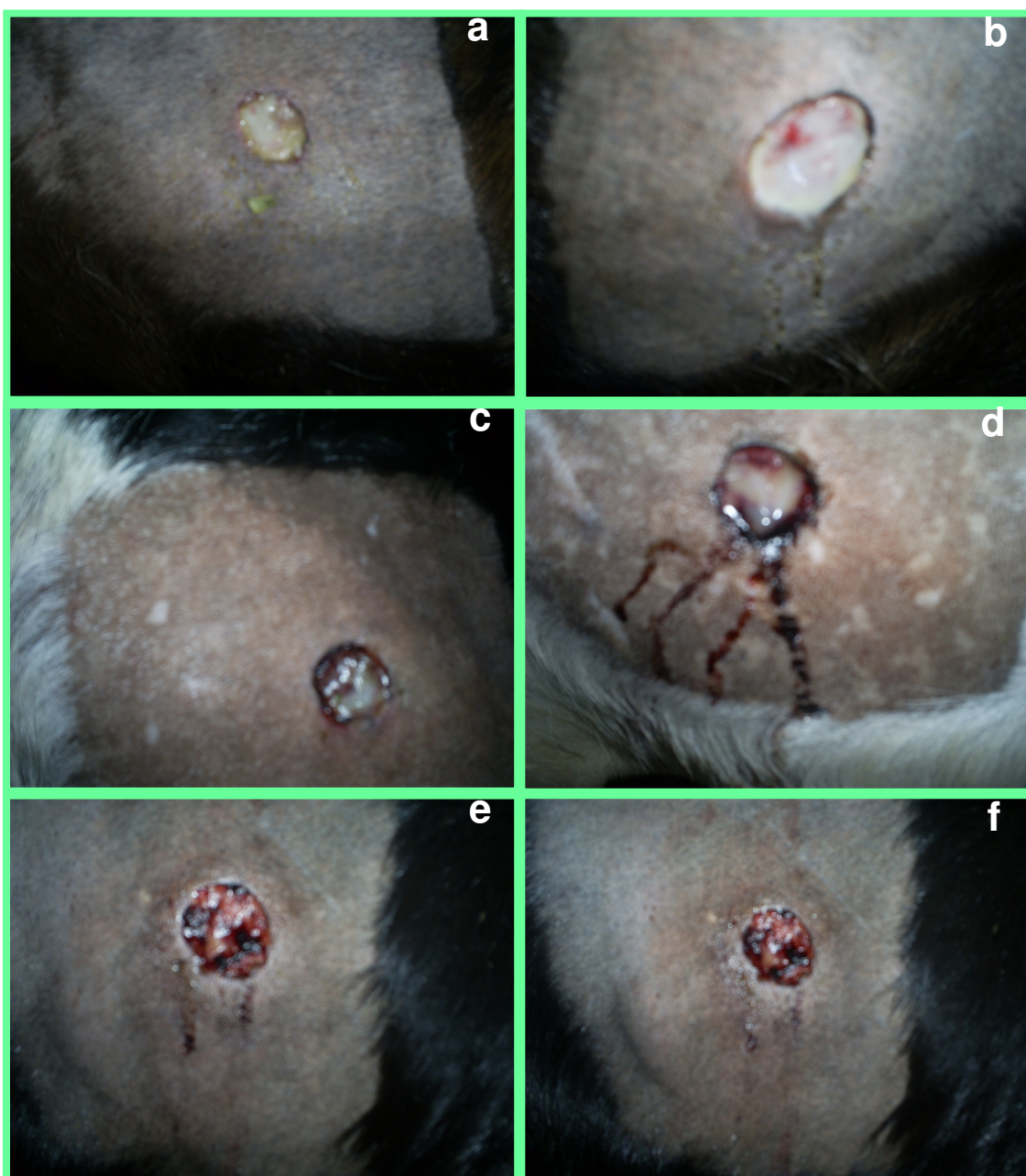
RESULTADOS

O procedimento cirúrgico de indução das feridas e retirada da pele transcorreu sem complicações em todos os animais dos três grupos experimentais. Não ocorreram óbitos durante o ato cirúrgico e não foram detectadas sinais de infecção nas feridas durante o período experimental. Os animais mantiveram seu estado geral bom, com presença de atividade física e disposição para se alimentar. Após a indução das feridas, estas apresentaram hemorragia inicial, com bordas irregulares e necrosada, coágulo no local e exsudato.

A evolução macroscópica do processo de cicatrização no 2º dia apresentou características semelhantes entre os grupos experimentais. Os animais do grupo controle (GC) apresentaram feridas sem coloração, bordas regulares, e evidenciava-se uma grande quantidade de exsudato em sua superfície (Fig. 1 A e B). O mesmo tendo sido observado nos animais do grupo tratados com a geléia real (GG), porém as bordas destas feridas se mostravam irregulares (Fig. 1 C e D). Já nas feridas dos animais tratados com a pomada (GP) apresentaram feridas com coloração avermelhada, sem exsudato e bordas regulares com necrose (Fig. 1 E e F). Os animais de todos os grupos não apresentaram tumefação, edema ou alteração na cor da pele adjacente às feridas.

Quanto à formação de crostas, estas se apresentavam em geral secas, de coloração marrom, não exuberantes aderidas à pele e preenchiam a superfície das feridas parcialmente ou totalmente. No GC e no GG as crostas apresentavam-se, com exsudato e bastante exuberante. No 2º dia p.o dois animais do GC apresentavam crosta parcial e três apresentaram crosta completa (Tab. 1). No entanto, no grupo GG três animais apresentavam crosta parcial e dois crosta completa (Tab. 2). Já no GP quatro animais apresentavam crosta completa e somente um animal apresentou crosta parcial (Tab. 3). Os animais de todos os grupos somente apresentaram crosta completa do 5º ao 6º dia pós- operatório.

À partir do 6º dia p.o observou-se em todos os grupos crescimento de pêlos na área adjacente à ferida, sem tumefação ou alteração de cor na região, e a remoção das crostas contribuindo para o processo de epitelização das feridas. Logo, no GC todos os animais ainda apresentavam crostas completa (Fig. 2) (Tab. 1). No grupo GG três animais apresentavam crosta completa e dois animais já haviam removido suas crostas enquanto que no GP somente um animal apresentou remoção da crosta (Fig. 2) (Tab. 3).



(A e B) e grupo da geleia real (C e D) evidenciam feridas sem coloração e exsudato nas superfícies. As feridas cutâneas do grupo da pomada (E e F) apresentam feridas avermelhadas, sem exsudato e bordas regulares com necrose.

O processo de reepitelização iniciou-se a partir do 7º dia p.o sempre de forma centrípeta, ou seja, das bordas para o centro da ferida, de forma plana e delineada. No início desse processo, evidenciou-se a presença do tecido de granulação, que se apresentava em geral avermelhado e quase sempre sem secreção nos animais de ambos os grupos.

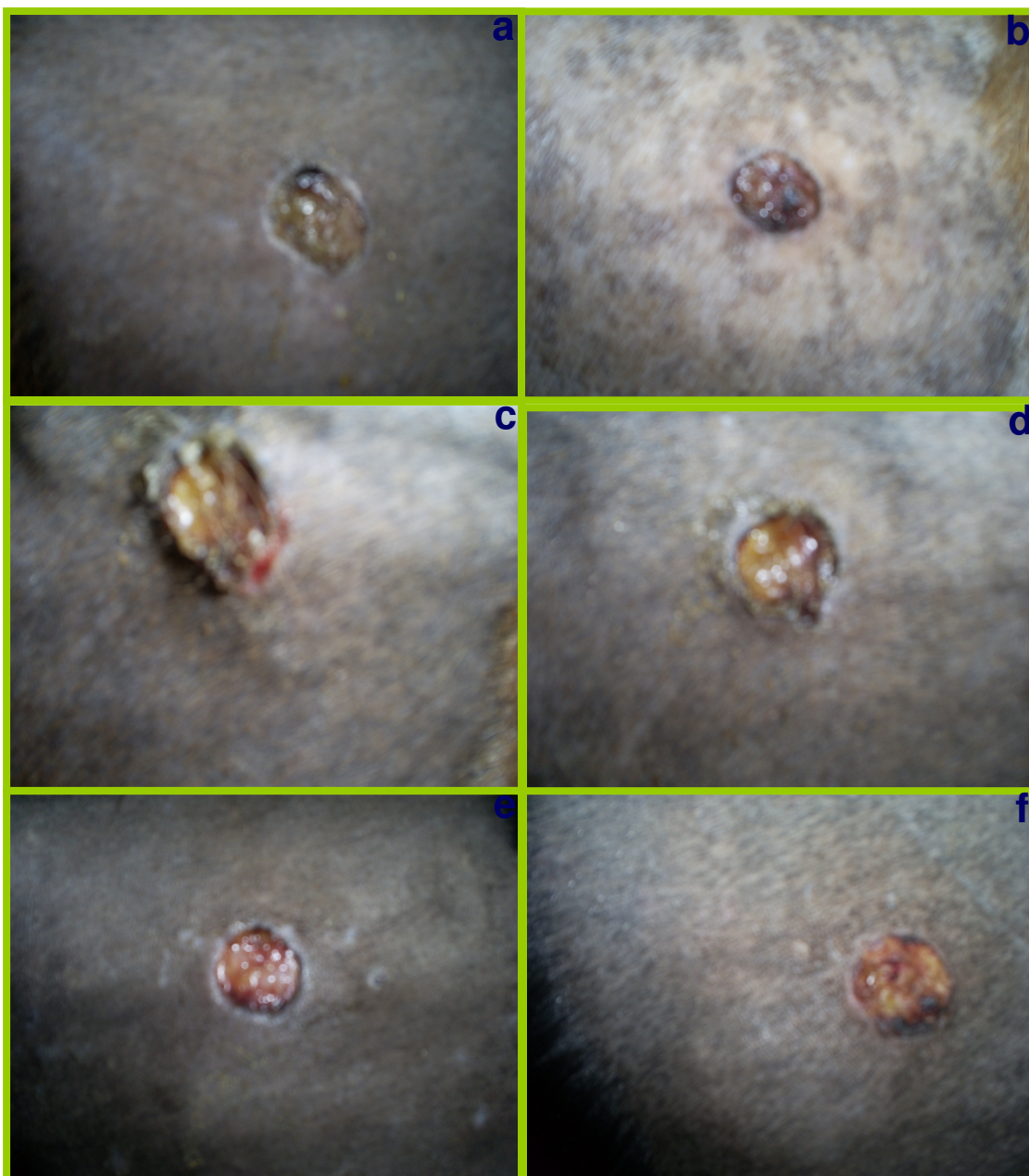


Figura 2 – Fotografia da pele de caprino no 6º dia p.o- Formação de crosta total feridas cutâneas de caprinos evidenciando-se crostas secas, coloração marrom, exuberantes, com exsudato e aderidas à pele nos grupos GC (A e B) e GG (C e D). No grupo GP as crostas apresentavam-se secas, coloração marrom, não exuberantes e aderidas à pele (E e F).

No 10º dia p.o observou-se reepitelização completa das feridas em praticamente todos os animais dos grupos experimentais (Fig. 3) (Tab. 1,2,3). Portanto, macroscopicamente não houve diferença entre os grupos, pois a remoção das crostas e o início da reepitelização ocorreram no mesmo dia nos grupos experimentais e não apresentaram diferença no aspecto da evolução da ferida.

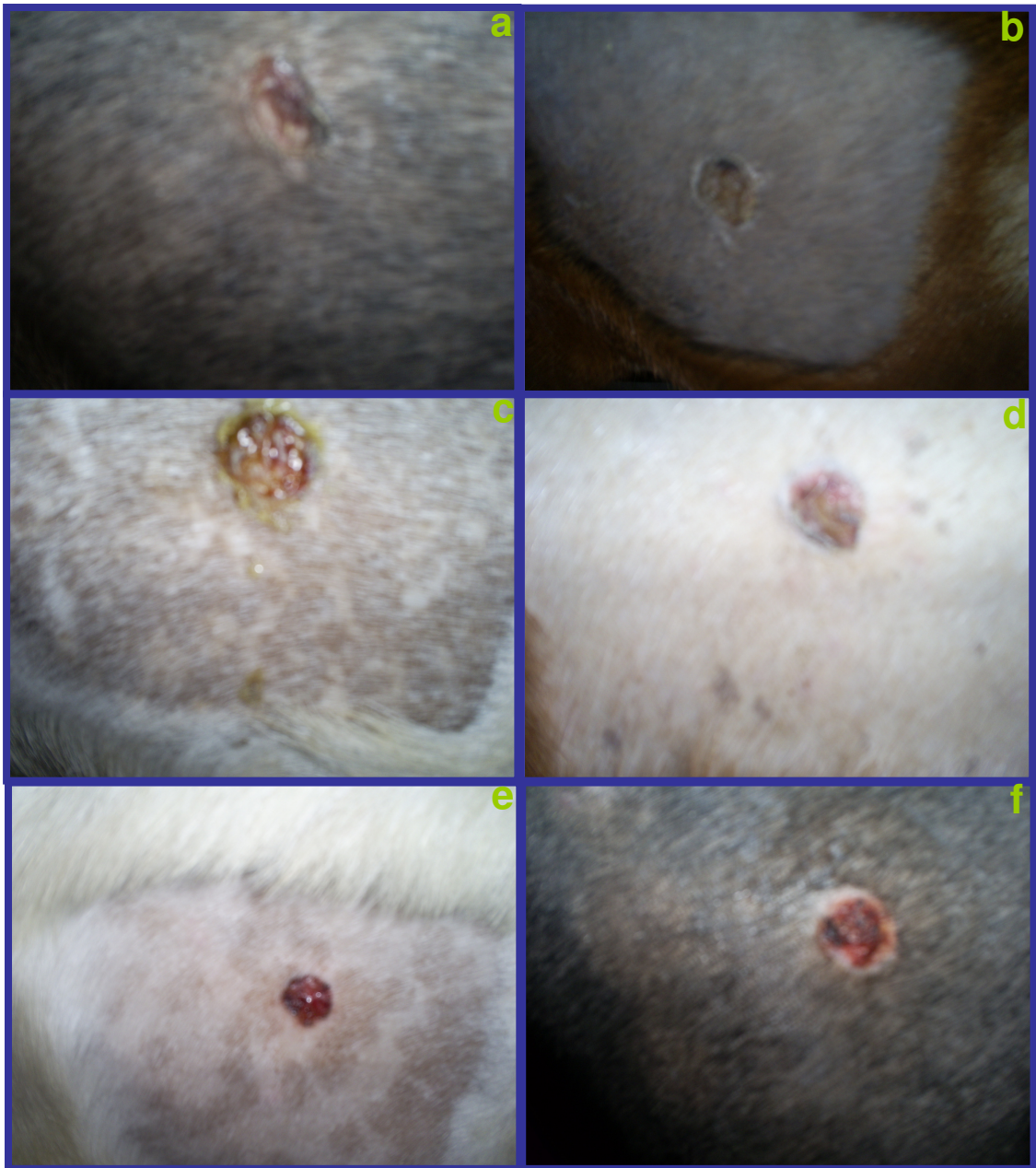


Figura 3 – Fotografia da pele de caprino no 10º dia p.o. Reepitelização das feridas cutâneas em caprinos com reepitelização completa de forma plana e delineada no grupo GC (A e B), GG (C e D) e GP (E e F).

Tabela 1 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo controle (GC) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dias do processo de cicatrização

GRUPO/DIAS	ANIMAIS	FORMAÇÃO DE CROSTA	REEPITELIZAÇÃO
GC/2º	1	+++	+
	2	++	+
	3	+++	+
	4	++	+
	5	+++	+
GC/6º	1	+++	+
	2	+++	+
	3	+++	+
	4	+++	+
	5	+++	+
GC/10º	1	+	+++
	2	+	+++
	3	+	+++
	4	+	+++
	5	+++	+

+ = sem crosta/sem reepitelização; ++ = crosta parcial (1/3 da ferida) / reepitelização (1/3 da ferida); +++ = crosta completa / reepitelização completa

Tabela 2 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo geléia (GG) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dia do processo de cicatrização

GRUPO/DIAS	ANIMAIS	FORMAÇÃO DE CROSTA	REEPITELIZAÇÃO
GG/2º	1	+++	+
	2	+++	+
	3	++	+
	4	++	+
	5	++	+
GG/6º	1	+++	+
	2	+++	+
	3	+	++
	4	+++	+
	5	+	++
GG/10º	1	+++	+
	2	+	+++
	3	+	+++
	4	+	+++
	5	+	+++

+ = sem crosta /sem epitelização; ++ = crosta parcial (1/3 da ferida) / reepitelização (1/3 da ferida); +++ = crosta completa / reepitelização completa.

Tabela 3 – Avaliação macroscópica de feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos em animais do grupo pomada (GP) levando-se em consideração a formação de crosta e reepitelização no 2º, 6º e 10º dia de processo de cicatrização.

GRUPO/DIAS	ANIMAIS	FORMAÇÃO DE CROSTA	REEPITELIZAÇÃO
GP/2º	1	+++	+
	2	+++	+
	3	++	+
	4	+++	+
	5	+++	+
GP/6º	1	+++	+
	2	+++	+
	3	+	++
	4	+++	+
	5	+++	+
GP/10º	1	+	+++
	2	+	+++
	3	+	+++
	4	+	+++
	5	+	+++

+ = sem crosta /sem epitelização; ++ = crosta parcial (1/3 da ferida) / reepitelização (1/3 da ferida); +++ = crosta completa / reepitelização completa.

Quanto à área da ferida, não houve diferença estatística entre as médias dos grupos experimentais no 2º dia de evolução, sendo a média do grupo GC 13,69 cm², GG 10,54 cm² e do GP 13,06 cm². Porém no 6º dia observou-se diferença significativa entre as médias da área dos grupos GG (6,15 cm²) e GP (6,50 cm²) quando comparados ao grupo GC (9,12 cm²) (Tab. 4). O mesmo tendo sido observado no 10º dia de tratamento (Tab. 4). De um modo geral, todas as feridas reduziram sua área nos animais dos grupos experimentais, porém esta redução foi mais significativa nos grupos tratados com geléia real e pomada cicatrizante (Fig 1).

Tabela 4 – Média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos controle (GC), tratados com geléia real (GG) e com pomada cicatrizante (GP) no 2º, 6º e 10º dia de evolução.

Grupos	Dias		
	2º	6º	10º
Controle	13,06 ^a (2,80)	9,12 ^b (2,36)	5,25 ^b (0,38)
Geléia real	10,54 ^a (1,35)	6,15 ^a (0,91)	2,78 ^a (1,42)
Pomada	13,69 ^a (1,30)	6,50 ^a (0,63)	3,93 ^a (0,95)
Valor de p<0,05	0,0582	0,0177	0,0079

Média seguidas de letras diferentes entre colunas diferem estatisticamente com intervalo de confiança de 95 (p<0,05).

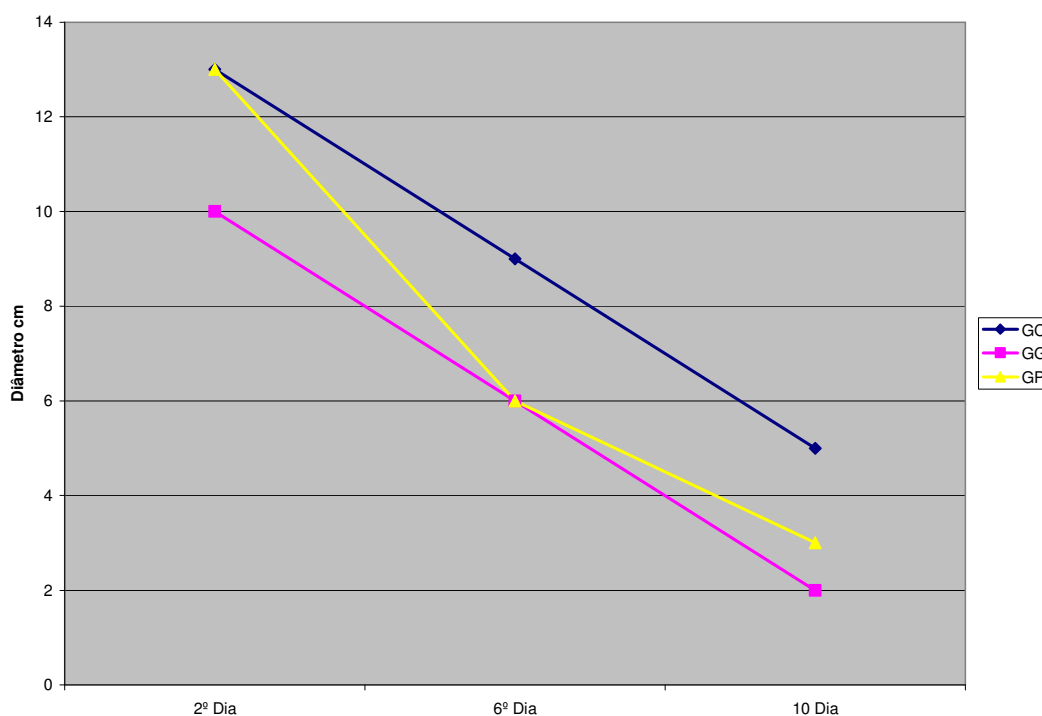


Figura 1. Gráfico da média e desvio padrão da área das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, dos grupos controle (GC), tratados com geléia real (GG) e com pomada cicatrizante (GP) no 2º, 6º e 10º dia de evolução.

Com relação à contração média das feridas, observou-se que o grupo tratado com geléia real apresentou uma contração média de 84 %, o grupo controle 75 % e da pomada cicatrizante 77 %

(Tab. 5). Logo, o grupo da geléia real apresentou uma maior contração da ferida corroborando com os resultados da redução da área da ferida, apresentando uma melhor evolução durante o processo de reepitelização (Fig. 2).

Tabela 5 - Percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos, após 10 dias de evolução na pele de acordo com o grupo experimental.

	POMADA			GELÉIA REAL			CONTROLE		
	AI	AF	TOTAL	AI	AF	TOTAL	AI	AF	TOTAL
Percentagem	20,38	4,53	0,77	19,75	2,98	0,84	21,87	5,25	0,75
Média	77%			84%			75%		

Área inicial – área final / área inicial x 100

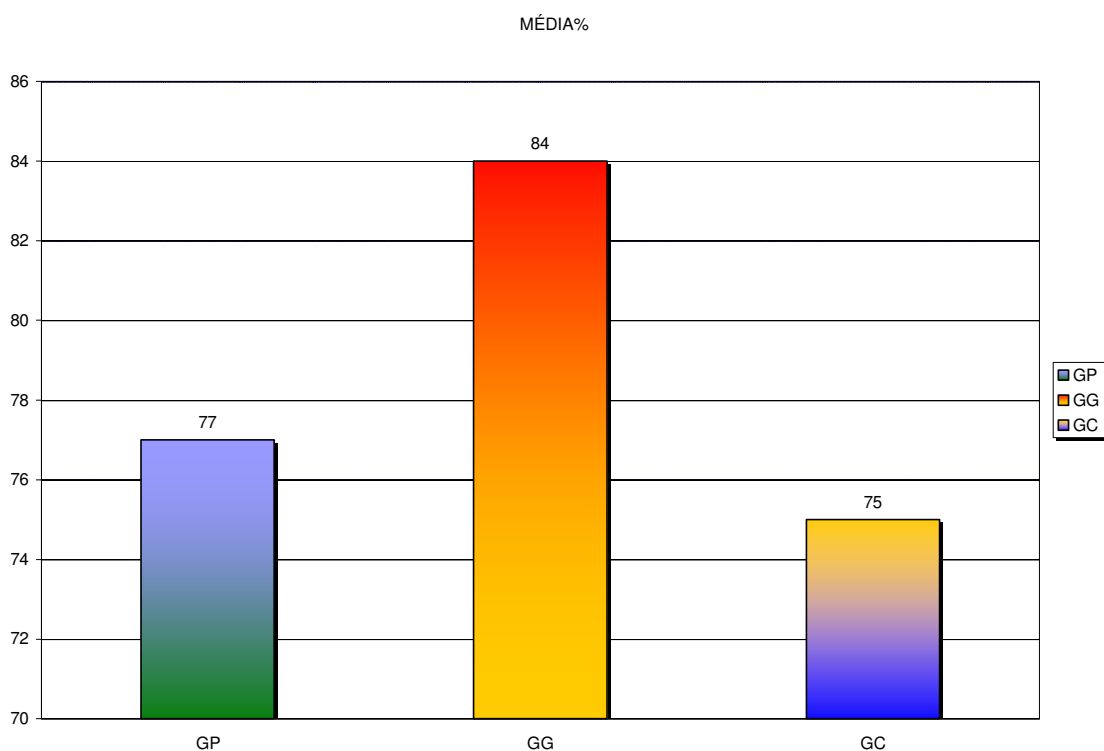


Figura 2 – Gráfico do percentual da contração média das feridas induzidas experimentalmente após 10 dias de evolução na pele de caprinos, de acordo com o grupo experimental.

DISCUSSÃO

Vários autores já avaliaram o emprego de produtos naturais oriundos das abelhas como mel, própolis e geléia real com o objetivo de influenciar o processo cicatricial e obtiveram resultados variados. Rahal et al.³⁵ (2003), estudaram a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas por segunda intenção em ratos. Oryan e Zaker²⁷ (2002) observaram a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas em coelhos. Teixeira et al.³⁹ (2000) estudaram o potencial cicatrizante do uso tópico da própolis verde e da geléia real em camundongos.

Apesar da geléia real ser citada como um apiterápico que possui ação cicatrizante^{4,21} não foram encontrados nas bases de dados pesquisadas trabalhos sobre o efeito cicatrizante da geléia real em feridas cutâneas em caprinos. Desta forma, pareceu justificável a realização da presente pesquisa, pois o processo de cicatrização é um processo uniforme e ocorre de maneira similar em todas as espécies.

O animal de escolha foi o caprino, S.R.D para testar o efeito cicatrizante da geléia real levando-se em consideração que são animais que podem lesionar a pele e adquirirem feridas abertas. Segundo Tenório et al.⁴¹ (1999) a pele está exposta freqüentemente a traumatismo que desencadeiam soluções de continuidade com perdas extensas de tecidos, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional. Além do mais, esses animais cuja cirurgia se dá a campo podem ser utilizados como modelos experimentais, pois oferecem melhor resistência a processos cirúrgicos e infecciosos, melhor adaptação e manuseio.

As feridas induzidas e tratadas foram analisadas macroscopicamente com base nos eventos presentes nas fases de cicatrização, ou seja, inflamação, proliferação e remodelação.^{32,30,23}

Os resultados avaliados macroscopicamente em todos os grupos do experimento demonstraram que no 2º dia p.o, o grupo da geléia real (GG) e o grupo controle (GP) apresentaram crostas com a presença de exsudato, de forma exuberante, coloração marrom e aderidas à pele nos animais. Já Teixeira et al.³⁹ (2000) em um estudo sobre o potencial cicatrizante do uso tópico da geléia real constatou que em feridas tratadas com creme de geléia real, houve a formação de uma crosta fina de coloração rósea, sem contração da pele, aspecto seco e sem purulência. Logo, os resultados desses autores divergem com os desta pesquisa, pois as feridas apresentam características marcantes em cada experimento.

A formação das crostas nos grupos pode ser explicada pela deposição de fibrina e restos leucocitários apresentando aspectos mais espessos. No grupo da geléia real e no grupo controle estas

crostas apresentaram-se exuberantes sugerindo que a formação de fibrina nestes grupos possam ter formados matrizes de maior densidade que contribui para atrair polimorfonucleares principalmente neutrófilos para a área da lesão, sendo que o mesmo tem sido descrito por Maldebaum et al.²³ (2003).

No experimento observou-se que não houve diferença significativa com relação ao tempo de cicatrização das feridas, ocorrendo reepitelização completa das feridas ao 10º dia p.o em praticamente todos os animais dos grupos experimentais e não apresentaram diferenças no aspecto da evolução da ferida. Esses resultados concordam com Teixeira et al.³⁹ (2000), pois conforme estes autores as feridas dos animais pertencentes ao grupo controle, geléia creme e geléia suspensão apresentaram cicatrização aos 14, 19 e 20 dias de tratamentos respectivamente. Porém, esses autores concluíram que não houve diferença significativa em relação ao tempo de cicatrização, entretanto, observaram-se diferenças no aspecto da evolução da ferida. Já Rahal et al.³⁵ (2003) verificando a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas constataram que não houve diferença significativa entre o efeito de cada tratamento em cada grupo e não apresentou diferença no tempo de evolução das feridas.

O processo de reepitelização que se iniciou nos grupos de forma centrípeta, ou seja, das bordas para o centro concordam com o descrito por Van Wickle Júnior⁴² (1967) e Corsi et al.⁸ (1994), pois segundo esses autores a contração da ferida na fase de maturação é caracterizada por um movimento centrípeta das suas bordas para o centro contribuindo para seu fechamento efetivo.

Com relação à redução da área da ferida, observaram-se resultados mais significativos em animais tratados com geléia real (GG) e pomada cicatrizante (GP). No grupo GG observou-se um maior percentual médio de contração (84%) estes resultados podem ter ocorrido devido ao mecanismo de contração que juntamente com a epitelização, caracteriza a cicatrização, conforme descrito por Corsi et al.⁸ (1994) e Anderson¹ (1996), as fases finais do processo cicatricial são constituídas pela contração e aumento da resistência da cicatriz sendo provocada pelos filamentos de actina dos miofibroblastos e pelo arranjo das suas moléculas. Além do mais, esses resultados concordam com a presença macroscópica de reepitelização completa dos grupos da GG e GP no 10º dia, caracterizando o processo de cicatrização. Esses resultados são similares aos encontrados por Oryan e Zaker²⁷(2002) observando a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas induzidas em coelhos, constataram que mel puro aplicado em feridas cutâneas em coelhos acelera o processo de cicatrização e Santos et al.³⁷ (2007) avaliando a eficácia da pomada de

própolis em feridas crônicas de humanos concluíram que a utilização da pomada de própolis foi eficiente na cicatrização de feridas.

Também esses resultados referentes à geléia podem estar associados a sua composição, pois segundo Couto⁹ (1991), Palma²⁸ (1992), Azevedo² (1996), Pereira³¹ (1996) e Benitez³ (2000) a geléia real é constituída por vitaminas do complexo B, minerais, lipídios, carboidratos e açúcares. Para tanto, por ser constituída por açúcares é possível que a ação deste composto tenha sido importante na fase inflamatória do processo de cicatrização dos animais que receberam tratamento com geléia. Prata et al.³⁴ (1998) estudando o uso tópico do açúcar em ferida cutânea em ratos constataram que o açúcar foi capaz de estimular o processo de reparação cicatricial em ratos. Já Simões et al. (1993)³⁸ em um estudo sobre o uso do açúcar e do ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos constataram que o açúcar é capaz de acelerar o processo de cicatrização em relação ao ácido acexâmico nos primeiros sete dias e que após esse tempo os processos se igualam entre os tratamentos.

Os animais tratados com geléia real *in natura* apresentaram resultados semelhantes aos tratados com a pomada em relação ao processo de cicatrização de feridas cutâneas em caprinos, sendo que a geléia real apresentou melhores resultados na fase de modelação com contração maior das feridas, portanto faz-se necessária a realização de mais pesquisas que possam investigar o efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em relação a outros princípios ativos ou mesmo outros produtos naturais.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados desta pesquisa pode-se concluir que:

A geléia real *in natura* tem efeito, acelerando o processo de cicatrização em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos;

A evolução do processo de cicatrização em relação aos aspectos macroscópicos foram semelhantes nos grupos experimentais. No entanto, os animais tratados com geléia real apresentaram maior contração da área da ferida;

A geléia real é uma alternativa viável para o tratamento de feridas cutâneas em caprinos.

SUMMARY

This research purposed to evaluate the effect of healing of royal jelly in nature in skin wound induced in goats. Used fifty goats, S.R.D, females, with age rangin from eighteen to forty-four months, divided into tree groups of five animals. The skin wounds were performed in pit paralombar right and left and the animals were subjected the following treatments: control group (CG) - animals treated with saline solution to 0.9%, group royal jelly (GG) - animals treated with royal jelly in nature and healing pomade group(GP) – animals treated of pomade consists of desoxirribonuclease to 6.66%, fibrolisina 0.1% and clorafenicol to 1%. The wounds were evaluated for ten consecutive days and measured every forty- four hours. The results revealed that macroscopically there was no difference in how long the healing between groups and showed no difference in the appearance of the evolution of the wound. As the area of the wound there was no significant difference between the averages of groups, and the average of groups GC 5,25 cm², GG 10, 2,78 cm² and the GP 3,93 cm². The group presented a contraction of GG average percentage of 84% better than the GC group (75%) in group GP (77%). Therefore, it is concluded that despite the groups present macroscopic similar results, the group of royal jelly showed greater contraction of the area of the wound, indicating that the royal jelly can be an alternative in the treatment of healing of wounds.

Uniterms: Wound, healing, royal jelly,goats.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. **Practice March**, v.18, p.115-128, 1996.
2. AZEVEDO, A.L.G. **Estudo de parâmetros relacionados com a produção de geléia real em colméias de Apis mellifera mais ou menos produtoras**, 1996. 166 f. Tese (Dissertação de Mestrado em Zootecnia) - FCAV-UNESP, Jaboticabal.
3. 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.
4. BREYER, E.U. **Apicultura**. 6. ed. Paraná, 1991. 347 p.
5. 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.

6. CARVALHO, P.T.C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria:** estudo experimental em ratos diabéticos, 2002. 72f. Tese (Mestrado em Bioengenharia) Pós-graduação de Bioengenharia de São Carlos, Faculdade de São Carlos, São Paulo.
7. COBEN, K.; DIEGEMANN, R.F.; CROSSLAND, M.C. Wound care and wound healing. Principles of surgery. MCGRAW Hill, v.1, p. 279-304, 1994.
8. CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v.84, p.17-24, 1994.
9. COUTO, R.H.N. **Produção de alimento e cria de colméias de Apis mellifera infestadas com varroa jacobsoni, em regiões canavieiras.** Jaboticabal (SP), 1991. 131 f. Tese (Livre Docência em Apicultura) - FCAV-UNESP, São Paulo.
10. 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.
11. CARVALHO, P.T.C de. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria:** estudo experimental em ratos diabéticos, 2002. 72 f. Tese (Mestrado em Bioengenharia) - Programa Inter-unidades de Bioengenharia. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2002.
12. DI PIETRO, L.A. Wound healing: the role of macrophage and other immune cells. **Shock**, v. 4, p. 233-40, 1995.
13. EURIDES, D. Morfologia e Morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas em camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman martius*). **Fac. Zoot. Vet. Agro. Urug.**, v. 2/3, n. 1, p. 37-42, 1998.
14. FILDES, J.; BANNON, M.P.; BARRET, J. Infecções dos tecidos moles após o traumatismo. **Clin. Cir. Am. Nor.**, n. 2, p. 405-418, 1991.
15. FILHO, G.B. **Patologia Geral. 2 ed, Guanabara Koogan, 1998.** p. 62-65.
16. FRANCO, P.R.M. **Patologia:** processos gerais. 4. ed. São Paulo: Athenas, 2003. 1089p.
17. 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.
18. GRINNEL, F.; BILLIGHAM, R.E.; BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **J. invest. Dermatol**, v.76, p.181-189, 1981.
19. JEFFREY, A.E.; ECHAZARRETA, C.M. Medical uses of honey. **Biomed**, v. 7, p. 43-49, 1996.
20. KNIGHTON, D.R.; SILVER, I.A.; HUNT, T.K. Regulation of wound - healing angiogenesis - effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Surgery**, v. 90, p. 262-270, 1981.

21. LENGLER, C.B. Produtos: a geléia real. **Revista Brasileira Agropecuária**, ano II, n.15, p. 54-62, 2003.
22. MACIEL, M.C.G. **Efeito do tratamento com Dersani (óleo de girassol) sobre a cicatrização de lesões cutâneas em camundongos**, 2004. 20f. Tese (Monografia em ciências Biológicas) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís.
23. MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Brás Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-415, 2003.
24. 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.
25. MENEZES, H. Própolis: artigo de revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arq. Inst. Bio.**, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.
26. MORALES, F.W. **Evidencia científica del própoleos desde el punto de vista médico**. Médico Internista y Apiterapeuta. Disponível em: <[http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/ htm](http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/htm)>. Acesso em: 10 set. 2006.
27. ORYAN A.; ZAKER S.R. Effects of tropical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. **Zentralbl Veterinarmed**, v. 45, p. 28-40, 2002.
28. PALMA, M.S. Composition of freshly harvested Brazilian royal jelly: identification of carbohydrates from the sugar fraction. **J.apic.Res.**, v. 31, n. 1, p. 42-44, 1992.
29. PARAVENTII, V.R. **Estudo comparativo da atividade da própolis e da geléia real como agentes antimicrobianos na terapêutica periodontal**. 2004. 88 f. Tese (Mestrado em Biotecnologia) – Faculdade de Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes.
30. PEREIRA, F.E.L. Alterações do intertúscio. In: BRASILEIRO, F.B.G. **Patologia Geral**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 62-65.
31. PEREIRA, F.M. **Estudo de fatores relacionados à produção de geléia real em colméias de Apis mellifera, selecionadas para a produção de mel.**, 1996. 1968 f. Tese (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.
32. PHILIPS, L.G. Cicatrização de feridas. In: SABISTON, D.C. **Tratado de cirurgia**: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna. Brasil: Guanabara Koogan, 2002. p. 139-153.
33. PIERRE, J.P. Apicultura: **Conocimiento de la abeja manejo de lê comeira**. México: Mundi-prensa, 1981. 289p.
34. PRATA, M. B.; HADDADA, M.C.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; OURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas. Estudo experimental em rato. **Acta. Cirurgica. Brasileira.**, n.3, p. 43-48, 1998.
35. 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.

36. ROBSON, M.C. Disturbances of wound healing. **An. Emerg. Med.**, n.17, p. 274-278, 1998.
37. SANTOS, J.M.; VIANNA, C.A.L.; GAMBA, M.A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 20, n. 2, 2007.
38. SIMÕES, M.L.P.; LIMA, E.J.B.; ROSÁRIO, M.A.K.; MARQUES, L.O.; ADUR, R. C.; CAVAZANA, W.C.; COLAÇO, L.M. Açúcar e ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos / Sugar and acexamic acid on cutaneous wound healing in rats. **Acta cirurgica brasileira**, v. 2, p. 83-86, 1993.
39. 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.
40. TERKELTUB, R.A.; GINSBERGM, H. Platelets and response to injury. In: RAF, Clark; Henson, P.M. **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York: Plenum Press, 1998.
41. TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 297-303, 1999.
42. VAN WINKLE JR., W. Wound contraction. **Sugery Ginecology Obstrestic.**, v. 125, p. 131-42, 1967.

ARTIGO II

Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos microscópicos. Para ser enviado a Revista Brazilian Journal of Veterinary Reserch and Animal Science

**Efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas
Induzidas experimentalmente em caprinos: aspectos microscópicos**

**Effect healing of Royal Jelly in nature in Skin wound
induced experimentally in goats: microscopic aspect**

Sonália Ferreira da PAIXÃO⁴; Helder de Moraes PEREIRA⁵

RESUMO

Esta pesquisa objetivou-se avaliar o efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas experimentalmente em caprinos. Foram utilizados 15 caprinos, SRD, fêmeas, com idade variando de 18 a 24 meses, divididos em três grupos de cinco animais. As feridas cutâneas foram realizadas na fossa paralombar direita e esquerda e os animais foram submetidos aos seguintes tratamentos: Grupo controle (GC)–animais tratados com solução salina a 0,9%, Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com geléia real *in natura* e Grupo Pomada cicatrizante (GP) – 999animais tratados de pomada alopática constituída de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1%. As feridas foram analisadas histologicamente no 2º, 6º e 10º dia pós-operatório utilizando-se um analisador de imagem computadorizado Leica Qwin D-1000, versão 4.1 (Cambridge, UK). Os resultados revelaram que microscopicamente não houve diferença estatística quanto à quantificação de neutrófilos e macrófagos em ambos os grupos. Na quantificação do colágeno o grupo GC apresentou média de 229, o grupo GG apresentou 236 e p grupo GP 216 no 10º dia p.o. Logo, no grupo da geléia real (GG) e no grupo controle (GC) observou-se maior proliferação de colágeno e epitelização das feridas. Portanto, conclui-se que apesar dos aspectos microscópicos apresentarem resultados semelhantes, o grupo da geléia

⁴ Pós-graduanda em Ciências Veterinárias-UEMA

⁵ Departamento das Clínicas do Curso de Medicina Veterinária-UEMA

real apresentou reepitelização completa com maior proliferação de colágeno indicando ter efeito cicatrizante.

Unitermos: Ferida, cicatrização, geléia real, caprinos.

INTRODUÇÃO

A cicatrização é um fenômeno pela qual o organismo tende a reparar uma porção lesionada. Envolve a integração de um conjunto de respostas químicas, físicas e biológicas que se traduzem por agregação plaquetária, coagulação sanguínea, formação de fibrina, reação inflamatória ao trauma, proliferação vascular e recomposição da cobertura superficial, garantindo assim, homeostasia do organismo.⁴³

Uma maneira clássica de se estudar o processo de cicatrização é observar os eventos ocorrentes após uma ferida na pele, atingindo a epiderme e os tecidos mais profundos, pois ferida é uma interrupção de tecido em maior ou menor extensão, podendo afetar a pele, mucosa ou órgãos.¹⁶

A maioria dos autores classifica este processo em 03 fases: Inflamatória, proliferativa ou fibroplasia, e modelação ou remodelação.^{33,2,35} Outros o classificam de uma forma mais completa dividindo-o em cinco fases principais: Coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação.²⁷

A fase inflamatória se inicia por uma constrição capilar imediata à ferida, objetivando uma coagulação intravascular, sendo sucedida por uma dilatação capilar com o aumento da permeabilidade vascular produzida por mediadores inflamatórios, que permitem a passagem do plasma, eritrócitos e leucócitos do sangue para o local da ferida. As plaquetas se aderem e agregam formando um coágulo que restaura a homeostasia. Coágulo, fibrina e exsudato preenchem a ferida formando uma matriz sobre a qual fibroblastos e células endoteliais neoformadas constituirão o tecido de granulação.¹⁰

Essa fase depende, além de inúmeros mediadores químicos, das células inflamatórias, como os leucócitos polimorfonucleares (PMN), macrófagos e linfócitos. Sendo que, os PMN chegam no momento da injúria tissular e ficam por um período que varia de 3 a 5 dias; são eles os responsáveis pela fagocitose das bactérias. Já os macrófagos são células inflamatórias mais importantes dessa fase, pois permanecem do 3º ao 10º dia fagocitando bactérias, debridando corpos estranhos e direcionando o

desenvolvimento do tecido de granulação.¹⁰ O processo de cicatrização também é controlado por vários fatores de crescimento sintetizados por macrófagos, plaquetas, células endoteliais e linfócito T.¹⁵

Os neutrófilos oriundos da circulação são as primeiras células a alcançarem a região inflamada, sendo os tipos celulares predominantes entre o primeiro e segundo dia e sua função principal neste processo é de eliminação de possíveis microorganismos pela fagocitose.¹²

As próximas células que surgem na região são os macrófagos derivados de monócitos 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, processa-os nos fagossomas e apresenta seus peptídeos pelo Complexo Maior de Histocompatibilidade (MHC) às células T auxiliares.^{13,9}

Outra fase de cicatrização é a proliferativa ou fibroplasia que se caracteriza pelo aparecimento de uma população celular específica que são os fibroblastos.¹⁹ Com a presença local de macrófagos derivados de monócitos e a produção e liberação de mediadores químicos produzidos por eles, a migração e a ativação de fibroblastos é intensificada. Uma das principais funções dos fibroblastos é a síntese de colágeno,⁴⁶ sendo que a resistência da cicatriz é determinada pela velocidade, quantidade e qualidade da deposição do mesmo.⁴⁸ Essas células são os principais componentes do tecido de granulação e após a influência dos fatores de crescimento e demais mediadores, derivados principalmente dos macrófagos, mas não exclusivamente, são ativadas e migram das margens da ferida para o seu centro.¹²

Com a fibroplasia se inicia a formação do tecido de granulação composto por macrófagos, fibroblastos e vasos neoformados que estão suportados por uma matriz frouxa de fibronectina, ácido hialurônico e colágeno tipo I e II.²⁰

Também na fase proliferativa ocorre a angiogênese que é o processo pelo qual as células endoteliais secretam proteases que degradam a matriz extracelular, depois migram nos espaços perivasculares, proliferam e se alinham para formar novos vasos.¹⁷ Este processo pode ser creditado aos macrófagos que migram ao interior da ferida tornando-se anóxicos, o que estimula o crescimento dos capilares.²²

A neovascularização é essencial nesse estágio, porque permite a troca dos gases e a nutrição das células metabolicamente ativas.¹⁴

Os fibroblastos depositam grandes quantidades de fibronectina que desempenha uma série de funções, mas atua especificamente como substrato necessário para fixação. Essas células passam por algumas alterações fenotípicas dramáticas que vão desde as células migratórias, replicativas e imaturas, até verdadeiras fábricas de produção de colágeno. Sendo o colágeno uma proteína mais comumente encontrada em animais, e sua produção envolve diversos eventos pós-translacionais.⁸

A quantidade de colágeno aumenta com o tempo, e por volta de 2 semanas suas fibras passam a predominar na matriz extracelular. Ao mesmo tempo, começa haver a redução da síntese de glicosaminoglicanos, especialmente do ácido hialurônico. O colágeno do tipo I passa a predominar em relação ao tipo III e as fibras colágenas se tornam mais grossas e compactadas, comprimindo os capilares e reduzindo seu número. As células fagocitárias vão desaparecendo e o tecido de granulação passa a ser constituído por um tecido conjuntivo progressivamente mais denso e menos vascularizado, situado logo abaixo da epiderme já regenerada. Os fibroblastos sintetizam actina e tornam-se contráteis (miofibroblastos), produzindo contração da cicatriz e aproximando mais ainda as bordas da ferida.¹⁵

As fases finais do processo cicatricial são constituídas pela contração e aumento da resistência da cicatriz. A contração é a redução de parte ou de toda a área da ferida aberta, ocorrendo de forma centrípeta, a partir das bordas da lesão,⁴⁷ sendo provocada pelos filamentos de actina dos miofibroblastos, pois quando há produção de colágeno e arranjo das suas moléculas, os miofibroblastos diminuem em número, quando se observa a relação do mecanismo de contração com a maturação do colágeno.¹

Atualmente a resolução completa de uma ferida, somente pode ser considerada concluída após a maturação e remodelagem da matriz extracelular, pois este processo ocorre lentamente levando muitos meses ou às vezes anos e, mesmo assim, uma cicatriz cutânea completamente madura possui apenas 70% da resistência da pele normal.¹²

A resistência de uma cicatriz fibrosa pode ser atribuída primeira ao acúmulo da deposição de colágeno e, segundo, a remodelagem das fibrilas de colágeno, de modo que sejam formados feixes maiores dessa proteína, com maior número de ligações covalentes transversais entre as fibrilas.⁸

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. Mel, pólen e geléia real são valiosos complementos nutricionais e por sua vez possuem propriedades terapêuticas.²⁹

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.²¹ Já a própolis é elaborada a partir de exsudatos de resinas que as abelhas recolhem de determinadas plantas.²⁸ 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.²⁶

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.³⁶ Segundo Breyer⁶ (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%^{11,31,3,34,4}. De acordo com Lengler²⁵ (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.,⁴⁴ (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, houveram 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.

Verificando-se a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas limpas por segunda intenção, induzidos cirurgicamente, sessenta ratos foram submetidos ao tratamento com própolis,

mel e solução fisiológica a 0,9% em que as feridas foram mensuradas e analisadas histologicamente. A análise estatística das áreas não revelou diferenças significativas entre efeito de cada tratamento e número de dias após o tratamento. Histologicamente, os tratamentos com mel e própolis induziram melhor cicatrização pela redução a resposta inflamatória, havendo reepitelização mais rápida com própolis.⁴⁰

Oryan e Zaker³⁰ (2002) utilizaram 40 coelhos da raça Nova Zelândia para observar a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas induzidas.. Um grupo foi tratado com mel puro e no outro, as feridas não receberam nenhum produto. Após 21 dias de tratamento, os animais foram necropsiados e as lesões de todos os grupos foram coletadas para estudo histopatológico e imunohistoquímico. Os resultados revelaram que em todas as lesões ocorreram edemas, polimorfonucleares e mononucleares, células infiltrativas, epitelização e completa cicatrização. Sugerindo-se que mel puro aplicado em feridas cutâneas em ratos acelera o processo de cicatrização.

Paraventi³² (2004) avaliou o uso de geléia real e da própolis no tratamento de doença periodontal da atividade antimicrobiana da Geléia Real *in vitro* em linhagens de: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Porphyromonas gengivalis*, e *Actinobacillus actinomycescomitans*. À partir dos resultados obtidos isoladamente, também foi avaliada a atividade antimicrobiana da geléia real e da própolis em placas supra e subgengival, coletadas de indivíduos com periodontite crônica para as linhagens de *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gengivalis* e linhagens de *Actinobacillus actinomycescomitans*. A geléia real bruta utilizada não apresentou efeito antimicrobiano em todos os experimentos realizados, e também não se mostrou eficaz como agente antimicrobiano nas placas supra e subgengivais de pacientes com periodontite crônica.

Considerando-se 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 interferir ou não nessas fases, este estudo teve por objetivo avaliar aspectos microscópicos do efeito cicatrizante da geléia real *in natura* em feridas cutâneas induzidas em caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente estudo foi utilizada geléia real *in natura* produzida pelo apiário Wenzel em São Carlos – SP. Apresenta uma composição média padrão referente à 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 pantatênico 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, provenientes da Fazenda Ipê no município de Humberto de Campos – Ma. Estes animais foram mantidos por 45 dias no setor de caprinocultura do Curso de Zootécnica da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram vermifugados e submetidos a exame clínico geral. Eram alimentados com Capim elefante (*Pennisetum purpureum Schum*) e mistura múltipla contendo 20% de Farelo de Soja, 15% de Uréia, 19% de Milho Moído, 30% de Sal (NaCl) e 15% de Sal Mineral. Posteriormente, distribuiu-se em três grupos experimentais de cinco animais, assim denominados:

Grupo Controle (GC) – animais tratados com solução salina a 0,9%.

Grupo Geléia Real (GG) – animais tratados com 0,1cm³ de geléia real *in natura*.

Grupo Pomada cicatrizante (GP) - animais tratados com 0,1 cm³ 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 cm² de diâmetro com um marcador circular e tinta. Deste modo, obteve-se uma área de 5 cm². Demarcada as áreas, realizou-se uma incisão circular com bisturi, logo após retirou-se o segmento de pele, expondo a fásia muscular. Durante o ato

cirúrgico a hemorragia foi contida por compressão mecânica com gaze estéril. Após indução das feridas operatórias 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 cm² do bordo da ferida, e posteriormente distendido sobre um pedaço de papel filtro de 2 cm². 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 crescente de álcool (70, 80 e 90% e álcool absoluto), diafanizado em xilol e incluído em parafina histológica, conforme protocolo³⁹. 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 µm² /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 quantificação 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 10µm² de área, onde avaliou-se 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 pareados com intervalo de confiança de 95% (p< 0,05).

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). Porém nesse intervalo de tempo houve uma redução do número de células em ambos os grupos não sendo encontrados neutrófilos no 10º dia. As médias de neutrófilos do grupo da geléia e da pomada apresentaram valores maiores que as do grupo controle. Observou-se uma grande quantidade de células no 2º dia p.o nos três grupos e uma diminuição acentuada no número de células do 6º ao 10º dia p.o (Tab 1) (Fig 1)

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 dia pós-operatório.

Dias	Grupos			Valor de p
	GC	GG	GP	
2º DIA	44 ^a (19,7)	52 ^a (17)	48 ^a (13,5)	0,7084
6º DIA	36 ^b (15,4)	43 ^b (14,5)	38 ^b (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% ($p < 0,05$).

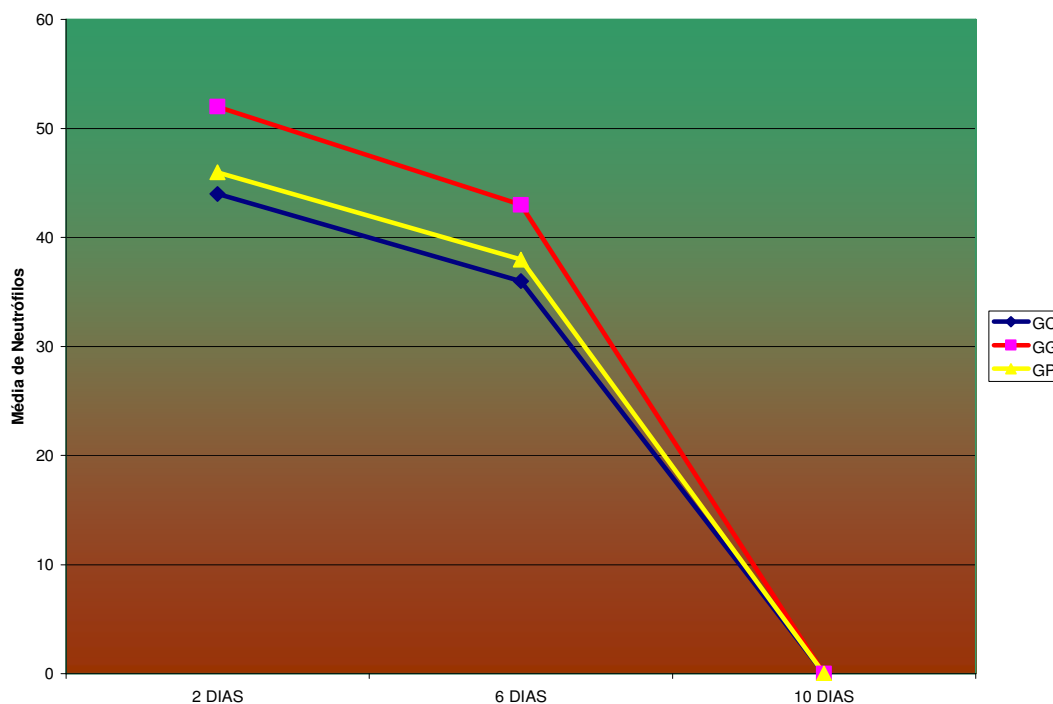


Figura 1 – Gráfico da média e desvio padrão do número de neutrófilos em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos nos grupos controle (GC), grupo da geléia (GG) e grupo da pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dia pós-operatório.

Com 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. Á partir do 6º dia, observou-se que houve uma redução do número de macrófagos até 10º dia p.o. Redução esta que não diferiu estatisticamente quando comprovou-se as médias dos grupos experimentais (Tab.2). De acordo com a figura 2 houve um maior número de células no 6º dia de avaliação, o que demonstra plena atividade dessas células durante as fases do processo de cicatrização.

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 dia pós-operatório.

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

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

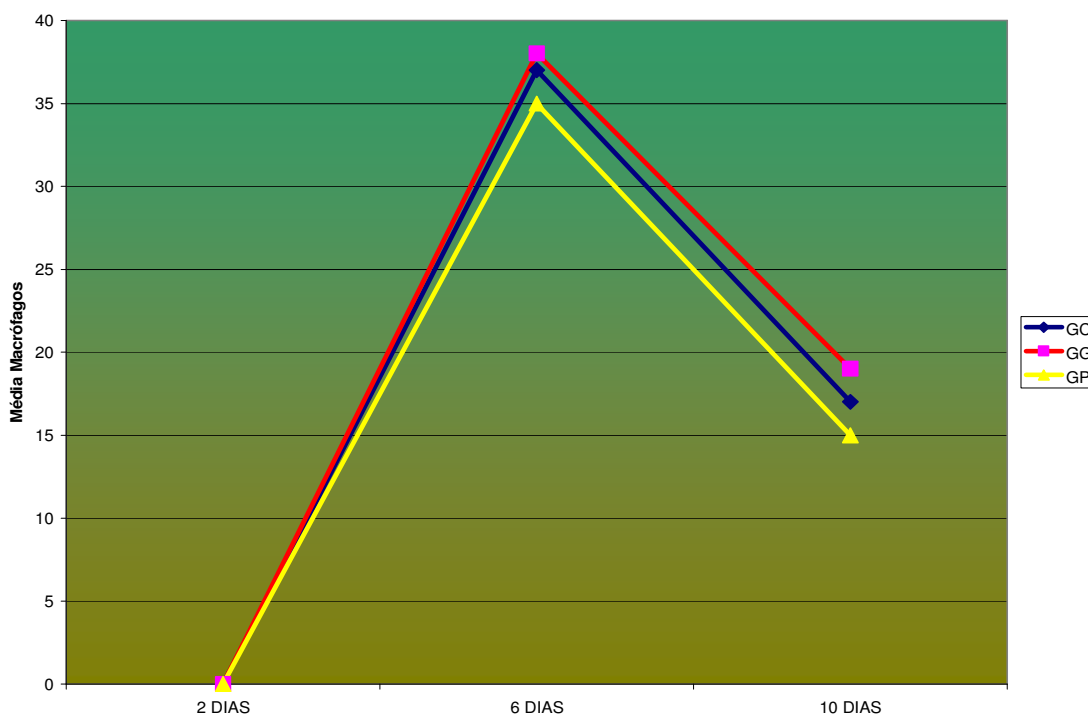


Figura 2 – Gráfico da média e desvio padrão do número de macrófagos em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos nos grupos controle (GC), grupo da geléia (GG) e grupo da pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório.

Quanto 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 (Tab. 3) (Fig. 3)

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 pós-cirúrgico, 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 a presença de feixes de colágeno dispostos na superfície (Tab 3) (Fig 3).

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 1) (Fig 3).

Após avaliação qualitativa não paramétrica não houve diferença estatística entre os grupos sobre todos os eventos avaliados, porém observou-se maior proliferação de colágeno e epitelização nos grupos da geléia (GG) e no grupo da pomada (GP)

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

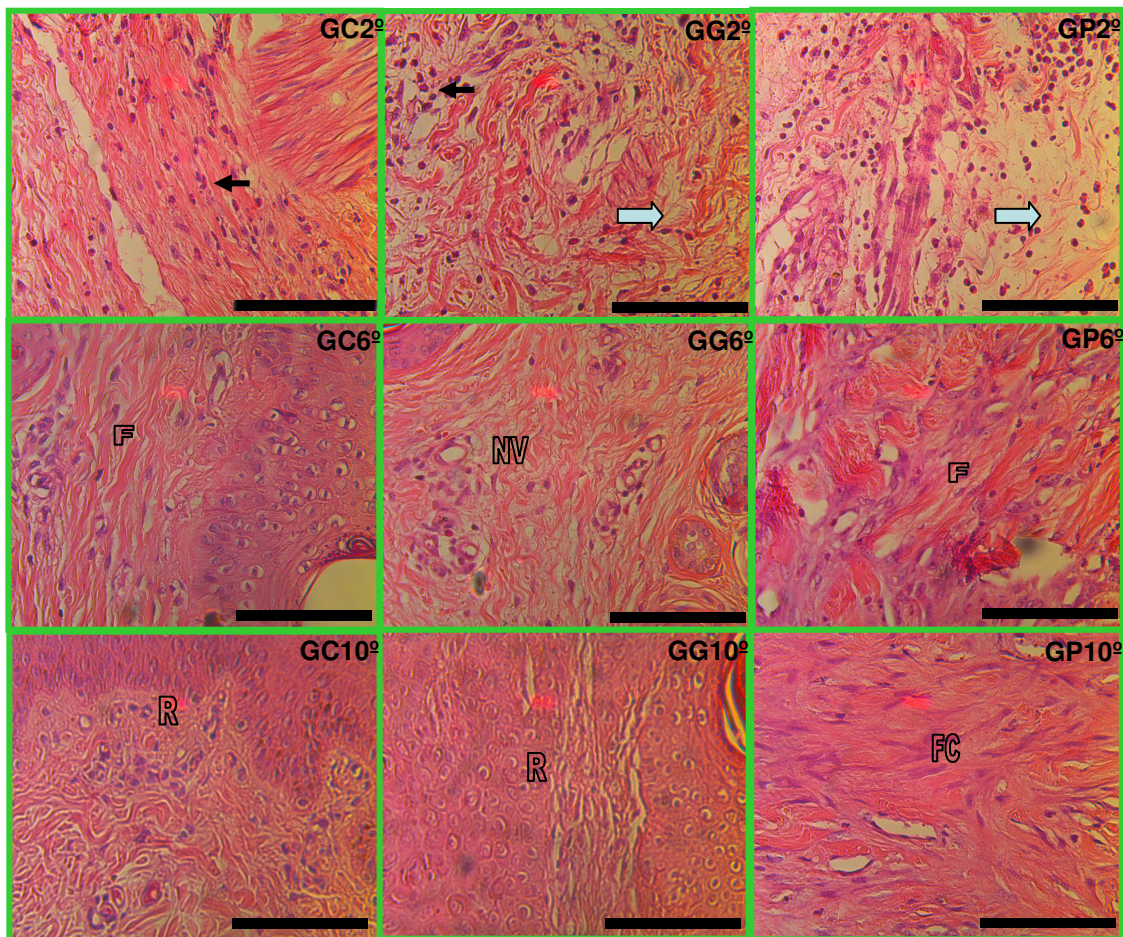


Figura 3 – Fotomicrografia da pele de caprino no 2º, 6º e 10º dia p.o. As lesões cutâneas evidenciam no 2º dia migração de neutrófilos (seta preta) (GC2º; GG2º) e edema (seta branca) (GG2º; GP2º). Proliferação de fibroblastos (F) (GC6º; GP6º) e neof ormación capilar (NV) (GG6º). Reepitelização (R) e intensa fibras de colágeno (FC) nos grupos controle e geléia real (GG10º; GP10º) ($30\mu\text{m}^2$).

Quanto à 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) (Fig. 4).

Observou-se que as médias de colágeno no 10º dia dos três grupos experimentais apresentaram valores maiores que as médias de colágeno no 6º e no 2º dia (Figura 4). E observando-se o gráfico 5 constata-se que as médias de colágeno mantiveram-se maiores nos três dias comparadas ao

grupo da pomada e grupo controle sendo que, este grupo permaneceu com a mesma média do 2º ao 10º p.o.

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 dia pós-operatório.

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

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

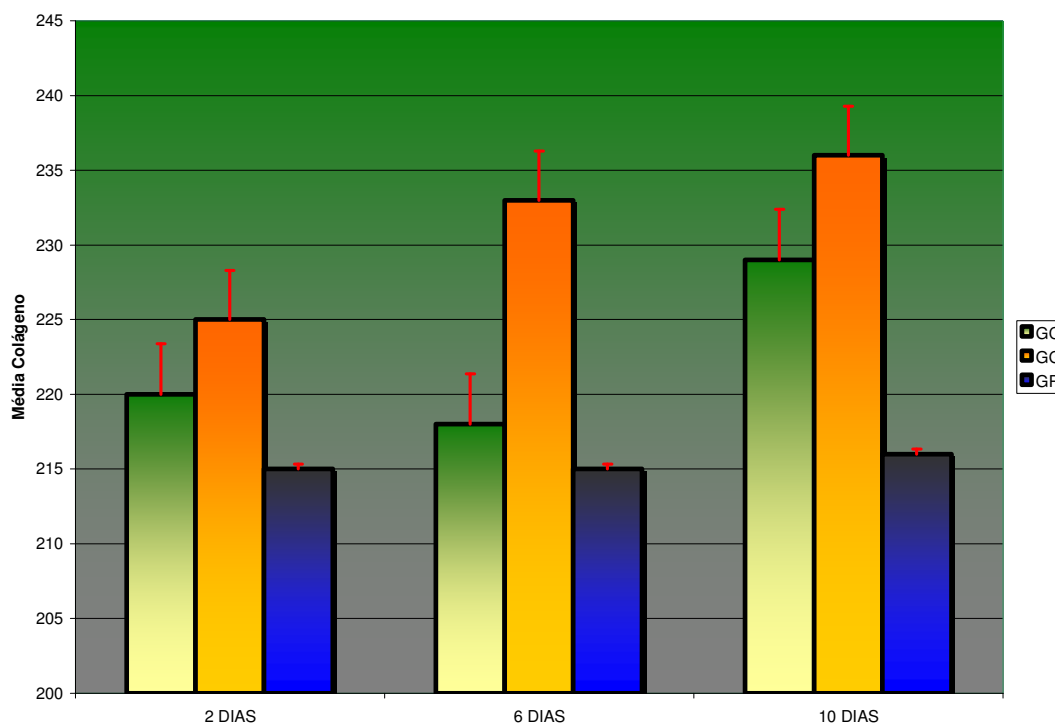


Figura 4 – Gráfico da média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos controle (GC), geléia real (GG) e pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório.

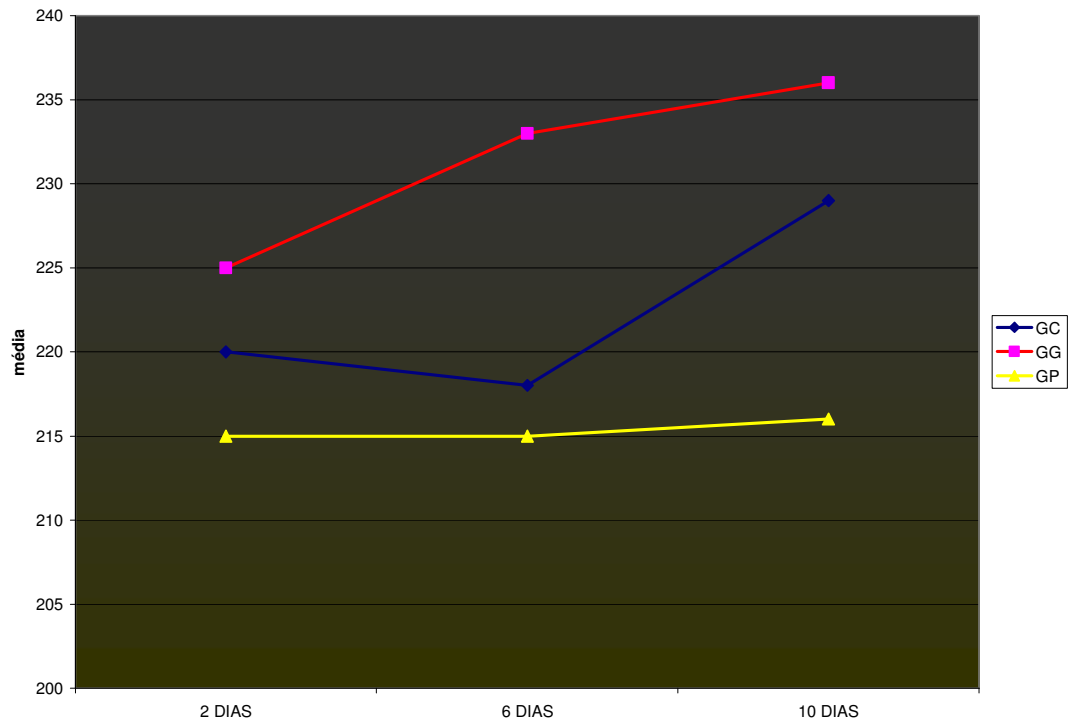


Figura 5 – Gráfico da média e desvio padrão de quantificação de colágeno em feridas induzidas experimentalmente na pele de caprinos dos grupos controle (GC), geléia real (GG) e pomada (GP) no 2º, 6º e 10º dias pós-operatório.

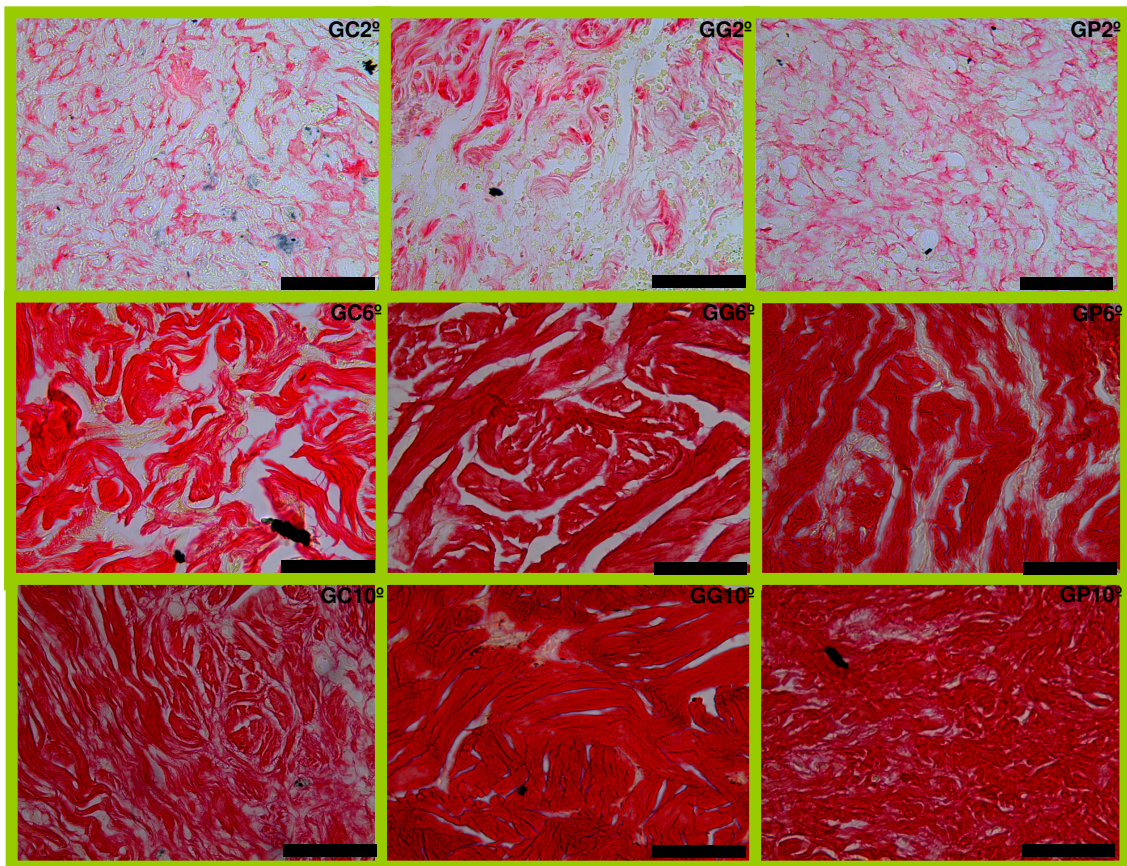


Figura 5 – Fotomicrografia da pele de caprino onde se observa a disposição e quantidade de fibras colágenas quantificadas no 2º, 6º e 10º dias, nos três grupos experimentais (GC; GG e GP) (30 μm^2).

DISCUSSÃO

Vários autores já avaliaram o emprego de produtos naturais oriundos das abelhas como mel, própolis e geléia real com o objetivo de influenciar o processo cicatricial e obtiveram resultados variados. Rahal et al.⁴⁰ (2003), estudaram a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas por segunda intenção em ratos. Oryan e Zaker³⁰ (2002) observaram a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas em coelhos. Teixeira et al.⁴⁴ (2000) estudaram o potencial cicatrizante do uso tópico da própolis verde e da geléia real em camundongos.

Apesar da geléia real ser citada como um apiterápico que possui ação cicatrizante,^{6,25} não foram encontrados nas bases de dados pesquisados trabalhos sobre o efeito cicatrizante da geléia real em feridas cutâneas em caprinos. Desta forma, pareceu justificável a realização da presente pesquisa, pois o processo de cicatrização é um processo uniforme e ocorre de maneira similar em todas as espécies.

O animal de escolha foi o caprino, S.R.D para testar o efeito cicatrizante da geléia real levando-se em consideração que são animais que podem lesionar a pele e adquirirem feridas abertas. Segundo Tenório et al.⁴⁵ (1999) a pele está exposta frequentemente a traumatismo que desencadeiam soluções de continuidade com perdas extensas de tecidos, resultando em cicatrização, na tentativa de restabelecer sua integridade funcional. Além do mais, esses animais cuja cirurgia se dá a campo podem ser utilizados como modelos experimentais, pois oferecem melhor resistência a processos cirúrgicos e infecciosos, melhor adaptação e manuseio.

As feridas induzidas e tratadas foram analisadas microscopicamente com base nos aspectos referentes à quantificação de células inflamatórias, presença de edema, congestão vascular, proliferação fibroblástica, formação de fibras de colágeno, reepitelização, neoformação capilar e quantificação de colágeno.^{40,18,30,5,24,37,7,23}

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 Corsi et al.¹⁰ (1994) e Curi et al.¹² (2005). A função principal dos neutrófilos nesse processo demonstraram uma remoção de células e agentes

infeciosos possivelmente presentes no local da lesão através da fagocitose, contribuindo para a evolução da cicatrização.

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 Clark⁹ (1996) e Di Pietro¹³ (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.

O surgimento de células inflamatórias polimorfonucleares e em seguidas células mononucleares podem indicar que o processo de cicatrização passou da fase inflamatória para a fase proliferativa corroborando com Curi et al.¹² (2005) e Maldebaum et al.²⁷ (2003).

Apesar de que não houve diferença estatística entre os grupos quanto à quantificação de neutrófilos e macrófagos, o grupo da geléia sempre apresentou valores numéricos maiores que os demais grupos, logo esses resultados podem implicar que o grupo da geléia apresentou uma resposta inflamatória maior que o grupo da pomada e o grupo controle. Estes resultados divergem dos encontrados por Rahal et al.⁴⁰ (2003) e Potmes et al.³⁷ (1997) que encontrou uma redução na resposta inflamatória em seus experimentos.

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 Corsi et al.¹⁰ (1994) e Malbebaum et al.²⁷ (2003). As feridas do grupo da geléia e da pomada apresentaram infiltrado inflamatório polimorfonucleares e mononucleares, edema intersticial não acentuado e sem congestão vascular no campo da lesão, reepitelização completa com proliferação de fibroblastos e presença de feixes de colágeno. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Oryan e Zaker³⁰ (2002); Rahal et al.⁴⁰ (2003) e Gregory et al.¹⁸ (2002). Com esses resultados podemos atribuir que histologicamente a geléia real apresentou características microscópicas semelhantes ao da própolis e do mel em coelhos e ratos nos experimentos acima citados indicando seu efeito cicatrizante em feridas cutâneas em caprinos.

Observou-se que no 6º dia houve a presença acentuada de fibroblastos e fibras de colágeno nos três grupos caracterizando que o processo se encontrava na fase proliferativa pois, segundo Grinnel et

al.¹⁹ (1981) Guildli Neto²⁰ (1992); Franco et al.¹⁷, (2003); Eckersley e Dudley¹⁴ (1988) essa fase é caracterizada pela presença de fibroblastos, macrófagos e vasos neoformados constituindo o tecido de granulação. Além do mais, a proliferação de fibroblastos verificadas nos grupos podem terem sido estimuladas pela presença de macrófagos ativos no local da lesão conseqüentemente houve acentuada deposição de fibras de colágeno. Kumar et al.²³ (1993) encontraram resultados similares pois, o grupo das feridas tratadas com mel apresentaram inflamação aguda, proliferação de fibroblastos e formação de tecido de granulação.

O grupo da geléia apresentou microscopicamente reepitelização completa com proliferação de células epiteliais, ao contrário do grupo da pomada e do grupo controle que apresentaram processo de reepitelização parcialmente evidente nas bordas da lesão mas sem união de margens.

Além do mais, 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.^{15,17,2} 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.⁴⁰ (2003) que verificou a influência do mel e da própolis na cicatrização de feridas limpas em ratos. Nesse experimento, os tratamentos com mel e própolis induziram melhor cicatrização pela redução a resposta inflamatória, havendo reepitelização mais rápida com própolis.

Kumar et al.²³ (1993) verificando o efeito do mel e da nitrofurazona em feridas cutâneas em búfalas observou-se uma cicatrização mais rápida nas feridas com mel do que as feridas tratadas com nitrofurazona.

Oryan e Zaker³⁰ (2002) observando a eficácia do mel na cura de feridas cutâneas induzidas em coelhos, constataram que mel puro aplicado em feridas cutâneas em coelhos acelera o processo de cicatrização.

Santos et al.⁴¹ (2007) avaliando a eficácia da pomada de própolis em feridas crônicas de humanos concluíram que a utilização da pomada de própolis foi eficiente na cicatrização de feridas.

Esses resultados referentes à geléia podem estar associados a sua composição, pois segundo Couto¹¹ (1991), Palma³¹ (1992), Azevedo³ (1996), Pereira³⁴ (1996) e Benitez⁴ (2000) a geléia real é

constituída por vitaminas do complexo B, minerais, lipídios, carboidratos e açúcares. Para tanto, por ser constituída por açúcares é possível que a ação deste composto tenha sido importante na fase inflamatória do processo de cicatrização dos animais que receberam tratamento com geléia. Prata et al.³⁸ (1998) estudando o uso tópico do açúcar em ferida cutânea em ratos constataram que o açúcar foi capaz de estimular o processo de reparação cicatricial em ratos. Já Simões et al.⁴² (1993) em um estudo sobre o uso do açúcar e do ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos constataram que o açúcar é capaz de acelerar o processo de cicatrização em relação ao ácido acexâmico nos primeiros sete dias e que após esse tempo os processos se igualam entre os tratamentos.

Contudo, esses resultados apontam de forma favorável para o efeito cicatrizante da geléia real. Para tanto, é necessário mais pesquisas que confirmem tal propriedade farmacêutica e futuramente a fabricação de pomadas cicatrizantes cujo princípio ativo seja a geléia real.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados desta pesquisa podemos concluir que:

A geléia real *in natura* tem efeito, acelerando o processo de cicatrização em feridas cutâneas induzida 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 real é uma alternativa para o tratamento de feridas cutâneas em pele de caprinos.

SUMMARY

This research purposed to evaluate the effect of healing of royal jelly in nature in skin wounds induced experimentally in goats. Used fifty caprinos, S.R.D, females, with age rangin from eighteen to forty-four months, divided into tree groups of five animals. The skin wounds were performed in pit paralombar right and left and the animals were subjected the following treatments: control group (CG) - animals treated with saline solution to 0.9%, group royal jelly (GG) - animals treated with royal jelly in nature and

healing pomade group(GP) – animals treated of pomade consists of desoxirribonuclease to 6.66%, fibrolisina 0.1% and clorafenicol to 1%. The wounds were examined histologically at 2, 6 and 10 postoperative day using a computerized image analyser of Leica Qwin D-1000, version 4.1 (Cambridge, UK). The results revealed that there was statistical difference microscopically as the quantification of neutrophils and macrophages in both groups. At quantify of collagen, the group GC presented average of 229, the group GG presented 236 and group GG presented 215 at 10^o day p.o. While, on the group of royal jelly (GG) and the healing pomade (GP) there was greater proliferation of collagen and epithelization the wounds. Therefore, it is concluded that despite the microscopic aspects of the groups were been similar results, the royal jelly group presented complete reepithelization with greater proliferation of collagen indicating take effect healing.

Uniterms: Wound, healing, royal jelly,goats.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. **Practice March**, v.18, p. 115-128, 1996.
2. 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 ciências da Saúde) - Universidade Federal do Paraná, Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão.
3. AZEVEDO, A.L.G. **Estudo de parâmetros relacionados com a produção de geléia real em colméias de *Apis mellifera* mais ou menos produtoras**, 1996. 166 p. Tese (Dissertação de Mestrado em Zootecnia) - FCAV-UNESP, Jaboticabal.
4. BENITEZ, A.L.G.A. **Dietas protéicas sobre a produção de Geléia**, 2000. 140 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, São Paulo.
5. BERGMAN A.; YANAI J.; WEISS J.; BELL D.; DAVID M.P. Acceleration of wound healing by topical application of honey. An animal model. **Am J Surg**, v. 145, p. 374-6, 1983.
6. BREYER, E.U. **Apicultura**.6. ed. Paraná, 1991. 347 p.
7. BURLANDO, F. Sullazione terapeutica del miele nelle ustioni. **Minerva Dermatol**, v. 113, p. 699-706, 1978.
8. CARVALHO, P.T.C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria:** estudo experimental em ratos diabéticos, 2002. 72f. Tese (Mestrado em Bioengenharia). Pós-graduação de Bioengenharia de São Carlos, Faculdade de São Carlos, São Paulo.
9. CLARK, R. S. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. **Am. J. Méd. Sci.**, v. 306, p. 42-48, 1993.

10. CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v. 84, p. 17-24, 1994.
11. COUTO, R.H.N. **Produção de alimento e cria de colméias de Apis mellifera infestadas com varroa jacobsoni, em regiões canavieiras. Jaboticabal (SP)**, 1991. 131 f. Tese (Livre Docência em Apicultura). FCAV-UNESP, São Paulo.
12. 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.
13. DI PIETRO, L.A. Wound healing: the role of macrophage and other immune cells. **Shock**, v. 4, p. 233-40, 1995.
14. ECHERSLEY, J.R.; DUDLEY, H.A.F. Wound and wound healing. **British Medical Bulletin**, v. 44, n. 2, p. 423-436, 1988.
15. FILHO, G.B. **Patologia Geral**. 2 ed. Estado: Guanabara Koogan, 1998. p. 62-65.
16. FONTANA, C. Fisiologia da cicatrização de feridas. **Patologia clínica**, v.1, n.1, p.3-32, 1996.
17. FRANCO, P.R.M. **Patologia: processos gerais**. 4. ed. São Paulo: Athenas, 2003. 1089p.
18. GREGORY, S.R.; PICCOLO, N.; HEGGERS, J.P. Comparasion of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in tratment of minor burns. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 8, p. 77-83, 2002.
19. GRINNEL, F.; BILLIGHIAM, R.E.; BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **J. invest. Dermatol**, v. 76, p.181-189, 1981.
20. GUIDUGLI NETO, J. The effect of rottgen radition of the capillary sprontsonal professional loops of granulation tissue II: ultrastrustal aspects. **Rev. Odontolog**. v. 6, p. 66-71, 1992.
21. JEFFREY, A.E.; ECHAZARRETA, C.M. Medical uses of honey. **Biomed**, v. 7, p. 43-49, 1996.
22. KNIGHTON, D.R.; SILVER, I.A.; HUNT, T.K. Regulation of wound - healing angiogenesis - effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Sugery**, v. 90, p. 262-270, 1981.
23. KUMAR, A; SHARMA, V.K; SINGH, H.P; PRAKASH, P; SINGH, S.P. Efficacy of some indigenos drugs in tissue repair in buffaloes. **Índia Vet Journal**, v. 70, p. 42-44, 1993.
24. LEMOS, C.A.J. **Análise da cicatrização de lesões traumática em dorso de língua de ratos, frente a três propostas terapêutica: solução de própolis em propilenoglicol, omcilon-a em orobase e orobase**, 2004. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias). - Universidade de São Paulo, São Paulo.
25. LENGLER, C.B. Produtos: a geléia real. **Revista Brasileira Agropecuária**, ano II, n. 15, p. 54-62, 2003.
26. 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.

27. MANDELBAUM, S.H.; DI SANTIS, E.P.; SANTANA, M.H. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares. **Brás Dermatol**, v. 78, n. 4, p. 393-415. 2003.
28. MENEZES, H. Própolis: artigo de revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arq. Inst. Bio.**, v.72, n.3, p.405-411, 2005.
29. MORALES, F.W. **Evidencia científica del própoleos desde el punto de vista médico**. Médico Internista y Apiterapeuta. Disponível em: <<http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/htm>>. Acesso em: 10 set. 2006.
30. ORYAN A.; ZAKER S.R. Effects of tropical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. **Zentralbl Veterinarmed**, v.45, p.28-40, 2002.
31. PALMA, M.S. Composition of freshly harvested Brazilian royal jelly: identification of carbohydrates from the sugar fraction. **J.apic.Res.**, v.31, n.1, p.42-44, 1992.
32. PARAVENTII, V.R. **Estudo comparativo da atividade da própolis e da geléia real como agentes antimicrobianos na terapêutica periodontal**. 2004. 88 f. Tese (Mestrado em Biotecnologia). – Faculdade de Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes.
33. PEREIRA, F.E.L. Alterações do intertúscio. In: BRASILEIRO, F.B.G. **Patologia Geral**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p. 62-65.
34. PEREIRA, F.M. **Estudo de fatores relacionados à produção de geléia real em colméias de *Apis mellifera*, selecionadas para a produção de mel**. 1996. 1968 f. Tese (Mestrado em Agronomia)– Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.
35. PHILIPS, L.G. Cicatrização de feridas. In: SABISTON, D.C. **Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna**. Brasil: Guanabara Koogan, 2002. p.139-153.
36. PIERRE, J.P. **Apicultura: conocimiento de la abeja manejo de lê comeira**. México: Mundi-prensa, 1981. 289p.
37. POTMES, T.J.; BOSCH, M.M.M.; DUTRIEX, R.; VAN BEARE J.; HOEKSTRA, M.J. Speeding up the healing of burns with honey. Na experimental study with histological assessment of wound biopsies. **Bee Products: Properties, Applications and Aphiterapy**. New York, 1997, p.27-37.
38. PRATA, M. B.; HADDADA, M.C.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; OURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas. Estudo experimental em rato. **Acta Cirurgica. Brasileira**, n.3, p.43-48, 1998.
39. PROPEHET, E.B.; MILLS, B.; ARRIGTON, J.B.; SOBIN, D.C. **Laboratory methods in histotechnology**. Whashington: Arm. Forc. Inst. of Pathol. 1992. 274 p.
40. 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.
41. SANTOS, J.M.; VIANNA, C.A.L.; GAMBA, M.A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.20, n.2, 2007.

42. SIMÕES, M.L.P.; LIMA, E.J.B.; ROSÁRIO, M.A.K.; MARQUES, L.O.; ADUR, R. C.; CAVAZANA, W.C.; COLAÇO, L.M. Açúcar e ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos / Sugar and acexamic acid on cutaneous wound healing in rats. **Acta cirurgica brasileira**, v.2, p.83-86, 1993.
43. SINGER, A.J.; CLARCK, R.A.F. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. **N. Eng. J. Med.**, 341 p.738-46, 1999.
44. 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.
45. TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v. 29, n.2, p.297-303, 1999.
46. TIAGO, F. **Feridas, Etiologia e tratamento**. 2 ed. Ribeirão Preto: FAEPA, 1995. 161p.
47. VAN WINKLE JR., W. Wound contraction. **Sug Ginecol Obst.**, v.125, p.131-42, 1967.
48. WITTE, M.B.; BARBUL, A. Princípios gerais de cicatrização das feridas. In: BARBUL, A. **Clínicas Cirúrgicas da América do Norte**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. p. 509-527. v. 3.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi constatado que as feridas tratadas com geléia real apresentaram o mesmo tempo de cicatrização que as feridas tratadas com solução salina a 0,9% e das tratadas com pomada cicatrizante à base de desoxirribonuclease a 6,66%, fibrolisina 0,1% e clorafenicol a 1%. Mesmo com esse resultado, a geléia real apresentou maior contração da ferida parecendo ser uma alternativa no tratamento de cicatrização de feridas.

O grupo da geléia real assim como o grupo controle e o grupo da pomada obtiveram características macroscópicas semelhantes, culminando em ambos os grupos para cicatrização das feridas.

Apesar dos grupos não apresentarem uma diferença estatística na quantificação de células inflamatórias, o grupo da geléia e da pomada apresentaram maior quantidade de fibras de colágeno e epitelização das feridas. Com esse resultado, a geléia real demonstrou eficiência na fase de maturação das feridas parecendo ter efeito cicatrizante.

Portanto, a geléia real *in natura* pode ser uma alternativa no tratamento de feridas. Logo, com a continuação destas pesquisas nos permitirá a produção de pomada cicatrizante cujo princípio ativo seja a geléia real.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ANDERSON, D. Wound management in small animal practice. **Practice March**, v.18, p.115-128, 1996.

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 em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Paraná, Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão.

AZEVEDO, A.L.G. **Estudo de parâmetros relacionados com a produção de geléia real em colméias de *Apis mellifera* mais ou menos produtoras**, 1996. 166 p. Tese (Dissertação de Mestrado em Zootecnia) - FCAV-UNESP, Jaboticabal.

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

BERGMAN A.; YANAI J.; WEISS J.; BELL D.; DAVID M.P. Acceleration of wound healing by topical application of honey. An animal model. **Am J Surg**, v.145, p.374-6, 1983.

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

BURLANDO, F. Sullazione terapeutica del miele nelle ustioni. **Minerva Dermatol**, v. 113, p.699-706. 1978.

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.

CARVALHO, P.T.C. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria**: estudo experimental em ratos diabéticos, 2002. 72f. Tese (Mestrado em Bioengenharia). Pós-graduação de Bioengenharia de São Carlos, Faculdade de São Carlos, São Paulo.

CLARK, R. S. Regulation of fibroplasia in cutaneous wound repair. **Am. J. Méd. Sci.**, v. 306, p. 42-48, 1996.

- COBEN, K.; DIEGEMANN, R.F.; CROSSLAND, M.C. Wound care and wound healing. Principles of surgery. **MCgRAW Hill**, v.1, p.279-304, 1994.
- CORSI, R.C.C.; CORSI, P.R.; PIRANA, S.; MURACO, F.A.E.; JORGE, D. Cicatrização das feridas. Revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cirurgia**, v.84, p.17-24, 1994.
- COUTO, R.H.N. **Produção de alimento e cria de colméias de Apis mellifera infestadas com varroa jacobsoni, em regiões canavieiras. Jaboticabal (SP)**, 1991. 131 f. Tese (Livre Docência em Apicultura). FCAV-UNESP, São Paulo.
- 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.
- CARVALHO, P.T.C. de. **Análise da cicatrização de lesões cutâneas através da espectrofotometria**: estudo experimental em ratos diabéticos, 72 f. 2002,. Tese (Mestrado em Bioengenharia) - Programa Inter-unidades de Bioengenharia. Universidade de São Paulo, São Paulo. 2002.
- DI PIETRO, L.A. Wound healing: the role of macrophage and other immune cells. **Shock**, v.4, p.233-40, 1995.
- DUNFORD, C.; COOPER, R.; MOLAN, P.; WHITE, R. The use of honey in Wound management. **NursStand**, v.29, p.63-8, 2000.
- ECHERSLEY, J.R.; DUDLEY, H.A.F. Wound and wound healing. **British Medical Bulletin**, v.44, n.2, p.423-436, 1988.
- EURIDES, D. Morfologia e Morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas em camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman martius*). **Fac. Zoot. Vet. Agro. Urug.**, v.2/3, n.1, p.37-42, 1998.
- FILDES, J.; BANNON, M.P.; BARRET, J. Infecções dos tecidos moles após o traumatismo. **Clin. Cir. Am. Nor.**, n.2, p. 405-418, 1991.
- FILHO, G.B. **Patologia Geral**. 2. ed. Estado: Guanabara Koogan, 1998. p. 62-65.
- FONTANA, C. Fisiologia da cicatrização de feridas. **Patologia clínica**, v.1, n.1, p.3-32, 1996.

FRANCO, P.R.M. **Patologia**: processos gerais. 4. ed. São Paulo: Athenas, 2003. 1089p.

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.

GENTILHOMME, E.; NEUVEUX, Y.; LEBEAU, J.; DESMOULIERE, A.; BERGIER, J. Modulation of a fibrotic process induced by transforming growth factor beta-1 in dermal equivalentes. **Cell Biol Toxicol**, v.5, n.3, p.54-59, 1999.

GREGORY, S.R.; PICCOLO, N.; HEGGERS, J.P. Comparasion of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in tratment of minor burns. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v.8, p.77-83, 2002.

GRINNEL, F.; BILLIGHIAM, R.E.; BURGESS, L. Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. **J. invest. Dernatol**, v.76, p.181-189, 1981.

GUIDUGLI NETO, J. The effect of rottgen radition of the capillary sprontsonal proffisional loops of granulation tissue II: ultrastrustal aspects. **Rev. Odontolog.**, v.6, p.66-71, 1992.

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

KNIGHTON, D.R.; SILVER, I.A.; HUNT, T.K. Regulation of wound - healing angiogenesis - effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. **Sugery**, v.90, p. 262-270, 1981.

KUMAR, A; SHARMA, V.K; SINGH, H.P; PRAKASH, P; SINGH, S.P. Efficacy of some indigenos drugs in tissue repair in buffaloes. **Índia Vet Journal**, 1993, v.70, p.42-44.

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

MACIEL, M.C.G. **Efeito do tratamento com Dersani (óleo degirassol) sobre a cicatrização de lesões cutâneas em camundongos**, 2004. 20 f. Tese (Monografia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, São Luís.

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

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

MORALES, F.W. **Evidencia científica del própoleos desde el punto de vista médico**. Médico Internista y Apiterapeuta. Disponível em:<<http://www.propoleo.cl/cientificospropolis/> htm. Acesso em: 10 set. 2006.

ORYAN A.; ZAKER S.R. Effects of tropical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. **Zentralbl Veterinarmed**, v.45, p.28-40, 2002.

PALMA, M.S. Composition of freshly harvested Brazilian royal jelly: identification of carbohydrates from the sugar fraction. **J.apic.Res.**, v.31, n.1, p.42-44, 1992.

PARAVENTII, V.R. **Estudo comparativo da atividade da própolis e da geléia real como agentes antimicrobianos na terapêutica periodontal**, 2004. 88 f. Tese (Mestrado em Biotecnologia) – Faculdade de Biotecnologia, Universidade de Mogi das Cruzes, Mogi das Cruzes.

PEREIRA, F.E.L. Alterações do intertício. In: BRASILEIRO, F.B,G. **Patologia Geral**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koognan, 1998. p.62-65.

PEREIRA, F.M. **Estudo de fatores relacionados à produção de geléia real em colméias de Apis mellifera, selecionadas para a produção de mel**. 1996. 1968 f. Tese (Mestrado em Agronomia)– Faculdade de Agronomia e Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo.

PEREIRA, F.M.; LOPES, M.R.T.; CAMARGO, R.C.R.; VILELA, S.R.O. **Produção de mel**. Disponível <<http://www.sistemadeprodução.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 9 ago. 2006.

PHILIPS, L.G. Cicatrização de feridas. In: SABISTON, D.C. **Tratado de cirurgia**: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna. Brasil: Guanabara Koogan, 2002. p.139-153.

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

PRATA, M. B.; HADDADA, M.C.; GOLDENBERG, S.; SIMÕES, M.J.; OURA, L.A.R.; TRABULSI, L.R. Uso tópico do açúcar em feridas cutâneas. Estudo experimental em rato. **Acta. Cirurgica. Brasileira.**, n.3, p.43-48, 1998.

PROPEHET, E.B.; MILLS, B.; ARRIGTON, J.B.; SOBIN, D.C. **Laboratory methods in histotechnology**. Whashington: Arm. Forc. Inst. of Pathol. 1992. 274 p.

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.

ROBSON, M.C. Disturbances of wound healing. **An. Emerg. Med.**, n.17, p.274-278, 1998.

SANTOS, J.M.; VIANNA, C.A.L.; GAMBA, M.A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.20, n.2, 2007.

SIMÕES, M.L.P.; LIMA, E.J.B.; ROSÁRIO, M.A.K.; MARQUES, L.O.; ADUR, R. C.; CAVAZANA, W.C.; COLAÇO, L.M. Açúcar e ácido acexâmico na cicatrização de feridas cutâneas em ratos / Sugar and acexamic acid on cutaneous wound healing in rats. **Acta cirurgical brasileira**, v.2, p.83-86, 1993.

SINGER, A.J.; CLARCK, R.A.F. Mechanisms of disease: cutaneous wound healing. **N. Eng. J. Med.**,v.341 p.738-46, 1999.

STAUNNT, C.J.; HALLIDAY L.C.; GARCIA, K.D. The use of honey as a topical dressing to treat a large, desvitalized wound in a *Stumptail macaque* (macaca arctoides). **Contemp Top Lab Anim Sci**, v.44, p.43-45, 2005.

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.

TENÓRIO, A.P.M.; REZENDE, C.M.F.; COELHO, M.C.O. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. **Ciência Rural**, v.29, n.2, p.297-303, 1999.

TERKELTUB, R.A.; GINSBERGM, H. Platelets and response to injury. In: Clark RAF, Henson PM, editors: **The molecular and cellular biology of wound repair**. New York: Plenum Press, 1998.

TIAGO, F. **Feridas, Etiologia e tratamento**. 2 ed. Ribeirão Preto: FAEPA, 1995. 161p.

TODD, R.; DONOFF, B.R.; CHIANG, T. The eosinophil as a cellular source of transforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds. **Am. J. Pathol.**, v.138, p.1307-1313, 1991.

VAN WINKLE JR., W. Wound contraction. **Sug Ginecol Obst.**, v.125, p.131-42, 1967.

WITTE, M.B.; BARBUL, A. Princípios gerais de cicatrização das feridas. In: BARBUL, A. **Clínicas Cirúrgicas da América do Norte**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1997. p.509-527. v.3

ANEXO A – Normas editoriais da revista Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science

O periódico **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** é publicado sob orientação da Comissão de Publicação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sendo os conceitos emitidos de inteira responsabilidade dos autores.

A publicação de artigos dependerá da observância das Normas Editoriais, dos pareceres do Corpo Editorial, da Comissão de Publicação e/ou de relator ad hoc.

Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e tanto os autores quanto os membros do Corpo Editorial e/ou relatores ad hoc não obtêm informações identificadoras entre si.

Os artigos e toda a correspondência deverão ser enviados para o endereço abaixo.

A revista tem por finalidade publicar artigos completos, notas prévias e artigos de revisão nas áreas de medicina veterinária, zootecnia e ciências afins, elaborados por especialistas nacionais e/ou estrangeiros, desde que se enquadrem nas normas editoriais.

Normas editoriais

Artigo completo

1 - Deverá ser inédito e destinar-se exclusivamente ao periódico **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**.

2 - Limitar-se a um máximo de dez páginas digitadas.

3 - Ser escrito em língua portuguesa, na ortografia oficial, ou em língua inglesa.

4 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo.

5 - Ser estruturado dentro dos seguintes itens:

- a) Página de rosto
- b) Título em português e inglês
- c) Introdução
- d) Material e Método
- e) Resultados
- f) Discussão
- g) Conclusões
- h) Referências Bibliográficas
- i) Resumo/Summary e Unitermos/Uniterms.

Os itens Resultados, Discussão e Conclusões poderão ser colocados em uma única seção, salvo entendimento contrário do Corpo Editorial.

6 - Apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, nos idiomas inglês e português, não devendo ultrapassar 250 (duzentos e cinquenta) palavras, seguidos dos unitermos, limitados a 5 (cinco), que correspondem a palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo. Os resumos não têm

parágrafos e seus unitermos devem estar escritos na forma maiúscula e minúscula.

Nota prévia

1 - Deverá ser inédita e destinar-se exclusivamente ao periódico **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**.

2 - Limitar-se ao máximo de três páginas digitadas.

3 - Ser escrita em língua portuguesa, na ortografia oficial, ou em língua inglesa.

4 - Usar somente as nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas.

5 - Não deverão ser subdivididos em seções separadas (Introdução, Material e Método etc.), mas deverão apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, com Unitermos, à semelhança do que foi descrito para a apresentação de **Artigo completo**, além de Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão

Os artigos de revisão só poderão ser publicados por especialistas de renome a convite da Comissão de Publicação. Entretanto, o esboço de um artigo de revisão poderá ser submetido à Comissão de Publicação sem prévia consulta e, se este for considerado apropriado, o(s) autor(es) será(ão) convidado(s) a preparar o artigo para publicação. Esses artigos deverão seguir as normas de **Artigo completo**, porém sem subdivisão em Introdução, Material e Método, Resultados e Discussão, preservando-se apenas dois resumos, com Unitermos, à semelhança do que foi descrito para a apresentação de **Artigo completo**, além de Referências Bibliográficas.

Apresentação dos trabalhos

1 - **Digitação**: original em disquete 3 1/2" de alta densidade, devidamente identificado com o título do artigo e nome do(s) autor(es) e três cópias impressas, inclusive suas tabelas e referências bibliográficas; deve ser digitado obrigatoriamente em formato A4 (21,0 x 29,7cm), espaço duplo, em uma só face de papel, margens de 2,5cm, fonte Times New Roman tamanho 10 e numeração consecutiva das páginas. Ilustrações e legendas devem ser relacionadas em folhas separadas. Os artigos deverão ser apresentados utilizando-se o editor de texto Microsoft Word.

2 - **Página de rosto**: todo artigo deve ter uma página de rosto com o título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e instituição de origem. O rodapé da página deverá mencionar o endereço completo (inclusive e-mail) do autor a quem deverão ser encaminhadas as correspondências. Observar que unicamente nesta página conste a identificação dos autores, para o devido sigilo e imparcialidade. Se o artigo for subvencionado, mencionar a instituição que o patrocinou, assim como os agradecimentos.

3 - **Tabelas**: devem ser numeradas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, seguido de local e data. Na montagem das tabelas seguir: IBGE. Normas de apresentação tabular. 3.ed. Rio de Janeiro: IBGE, 1993. 61p.. O limite de tabelas por trabalho é de cinco. Em casos excepcionais, conhecida a opinião do Corpo Editorial, este número poderá ser ultrapassado. No texto devem ser indicadas pela abreviatura Tab.

4 - **Ilustrações (fotografias, gráficos, desenhos ou esquemas)**: devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras.

As fotografias deverão ser identificadas com o título do artigo e o nome do autor principal, além de conter no verso a indicação de seu correto posicionamento. Gráficos, desenhos ou esquemas deve ser fornecidos em folha à parte identificada com o título do artigo e o nome do autor principal, além das respectivas legendas. Todas as ilustrações deverão ser fornecidas em três vias. Os gráficos devem trazer sempre os valores numéricos que lhes deram origem. Desenhos e esquemas devem apresentar boa qualidade técnica e artística (caso tenham sido gerados com o auxílio do computador, sempre acompanhados dos originais impressos). Aceitar-se-á um número máximo de nove ilustrações por artigo, distribuídas da seguinte forma: três fotografias, três gráficos e três desenhos/esquemas. Acima deste limite, as despesas com reprodução correrão por conta do autor. Ilustrações coloridas, independentemente do número, serão cobradas. No texto devem ser indicadas pela abreviatura Fig.

5 - **Referências bibliográficas:** devem ser arranjadas em ordem alfabética por sobrenome do autor e numeradas consecutivamente. Os títulos de periódicos devem ser mencionados de maneira uniforme, ou seja, todos por extenso. As referências seguem a normalização da NBR-6023/2000, que deverá ser consultada para outros tipos de documentos não exemplificados nas Instruções aos Autores.

Exemplo de periódico

KOTZEKIDOV, P.; BLOUKAS, J.G. Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf-life of sliced vacuum-pocked cooked ham. **Meat Science**, v.42, n.3, p.333-45, 1996.

Exemplo de livro no todo

HALLIWELL, R.E.W.; GORMAN, N.T. **Veterinary clinical immunology**. London : W.B. Saunders, 1989. 548 p.

Exemplo de autor diferente para o livro e capítulo

FENNER, W.R. Avaliação neurológica dos pacientes. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de medicina interna veterinária. 3.ed. São Paulo : Manole, 1992.** p.577-606.

Exemplo de mesmo autor para o livro e capítulo

THORTON, H. Deleterious changes in meat. In: THORTON, H. **Aspects of meat inspection**. London: Thindall & Cassel, 1973. p. 63-72.

Exemplo de tese

BIRGEL, E. H. **Estudo do quadro eritrocitário de caprinos (Capra hircus, L.) normais criados no Estado de São Paulo:** influências de fatores raciais, sexuais, etários e alimentares, 1973. 92 f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Exemplo de evento

OLIVEIRA, C.A. Hormonoterapia em cadelas e gatas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., Belo Horizonte, 1991. **Anais**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1991. p.100-11.

Exemplo de monografia eletrônica considerada no todo

POORE, M. H. **Alternative feeds for beef cattle**. North Carolina: North Carolina Corporative Extension Service, 1994. Disponível em: <<http://www.ces.ncsu.edu/drought/dro-28.html>>. Acesso em: 23 abr. 1997.

Exemplos de artigos de periódicos eletrônicosMENDONÇA JR., C.X.; MARTINS, A.P.; MORI, A.V.; SILVA, A.B.; MORI, C.S. Efeito da adição de óleo de peixe à dieta sobre o desempenho e níveis de lípides plasmáticos e de colesterol no ovo de galinhas poedeiras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.37, n.1. 2000. Disponível em: <http://cgi_bin/wxis.exe/iach/scielo>. Acesso em: 31 jan. 2001

6 - **Citações no texto**: devem ser feitas por número sobrescrito. Quando indispensável para a compreensão do texto, combinar sobrenome do autor com indicação do número sobrescrito correspondente ao número que aparece nas Referências Bibliográficas. Neste caso, quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados. No caso de mais de dois autores, a citação deve ser acompanhada pelo sobrenome do primeiro autor seguido da expressão et al., em letra maiúscula e minúscula, conforme exemplos abaixo:

Triparthy e Hanson¹¹

Yanaguita et al.⁹

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)