

**ANHANGUERA EDUCACIONAL**

**UNIABC**

**MEDICINA VETERINÁRIA**

**LUCIANE FERNANDES CARLIN**

**AVALIAÇÃO DO PRÓPOLIS NO MANEJO DE FERIMENTOS  
DE CÃES NO CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES – SP**

**SANTO ANDRÉ**

**2013**

**LUCIANE FERNANDES CARLIN**

**AVALIAÇÃO DO PRÓPOLIS NO MANEJO DE FERIMENTOS  
DE CÃES NO CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES – SP**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Anhanguera Educacional/UniABC requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

**Orientador:** Rodrigo Casemiro Pinto Monteiro.

**SANTO ANDRÉ**

**2013**

**LUCIANE FERNANDES CARLIN**

**AVALIAÇÃO DO PRÓPOLIS NO MANEJO DE FERIMENTOS  
DE CÃES NO CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES – SP**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado  
ao curso de Medicina Veterinária da  
Anhanguera Educacional/UniABC como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Bacharel em Medicina Veterinária.

Santo André, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2013.

---

Nome do Orientador  
Instituição  
titulação

---

Examinador (banca)  
Instituição  
titulação

---

Examinador (banca)  
Instituição  
Titulação

## AGRADECIMENTOS

“Agradeço este trabalho a meus pais e a minha família por terem todo esse tempo acreditado em mim”.

“Ao meu orientador Rodrigo Casemiro Pinto Monteiro por ter me direcionado na elaboração do meu trabalho”.

“A Monica Almeida, veterinária do Centro de Controle de Zoonose, por ter me ajudado com os dados para realização dessa pesquisa e também por ter permitido os registros fotográficos”.

## RESUMO

A pele é fundamental para a defesa e sobrevivência e a perda da sua integridade pode resultar de um desequilíbrio fisiológico substancial. A pele apresenta duas principais camadas unidas entre si: a epiderme mais externa e a derme mais profunda. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sobre as propriedades terapêuticas do própolis no processo cicatricial. A cicatrização dos ferimentos começa imediatamente após uma lesão ou incisão e corresponde a uma combinação de eventos físicos, químicos e celulares, sendo dividido em três fases que se sobrepõem: fase inflamatória, fase de reparação e fase de maturação. Entretanto, a cicatrização pode ser interrompida por fatores patológicos extrínsecos ou intrínsecos, como influência do ambiente e manejo inapropriado. Os ferimentos podem ser classificados de diferentes formas, em termos simples, as lesões podem ser abertas ou fechadas, e as feridas abertas podem ser ainda classificadas pela duração e grau de contaminação, profundidade e etiologia. O principal produto tópico usado para cicatrização de feridas na Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose é a pomada saturada de própolis. O própolis é uma mistura complexa, formada por material resinoso e balsâmico. Sua composição química é complexa e variada, estando relacionada com a flora de cada região visitada pelas abelhas e com o período de coleta da resina. É responsável por várias propriedades farmacológicas, sendo as principais, antibacteriana, antiinflamatória, antifúngica e cicatrizante. Ainda são necessários estudos correlacionando a composição química com a atividade biológica, definindo cada tipo de própolis com a sua aplicação terapêutica.

**Palavras-chave:** Própolis, Cicatrização, Feridas, Centro de Controle de Zoonose.

## ABSTRACT

The skin is essential for defence and survival, and its loss of integrity may result in a substantial physiological imbalance. The skin has two main layers united on each other: the epidermis is more external, and derm is deeper. The goal of this work is to review about therapeutically property of propolis in the healing process. The wounds' healing starts immediately after a lesion or an incision, and corresponds a combination of physics, chemicals and cell events, dividing in three overlapping stages: inflammatory stage, repairing stage and maturation stage. However, the healing may be interrupted by extrinsic or intrinsic pathological factors. The wounds may qualified by different shapes, in simple terms, the lesions may be open or close, and the open wounds still may be qualified by duration and contamination, depth and ethology grade. The main topical used product for wounds healing in *Seção de Cães of Centro de Controle de Zoonose* is a propolis saturated ointment. The propolis is a complex mixture, made by resinous and balsamic material. Its chemical composition is complex and varied, related with the flora of each visited region by bees and with the period of resin collects. It is responsible for several pharmacological properties, the main ones are antibacterial, anti-inflammatory, antifungal and healing. Studies are yet necessary correlating the chemical composition with the biological activity, defining each kind of propolis and its therapeutical application.

**Keywords:** Propolis, Healing, Wounds, *Centro de Controle de Zoonose*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - Classificação das feridas quanto a sua apresentação .....	18
QUADRO 2 – Atividade antimicrobiana de tinturas de própolis em diferentes alcooolaturas, frente à cepa de <i>S. aureus multirresistente</i> . ....	25
FIGURA 1 – Cão, boxer, macho.....	32
FIGURA 2 – Cão, SRD, fêmea .....	33
FIGURA 3 – Cão, SRD, fêmea .....	34

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>08</b>
<b>2 OBJETIVO</b>	
2.1 Objetivo Geral .....	10
2.2 Objetivo Específico .....	10
<b>3 DESENVOLVIMENTO</b>	
3.1 Etapas da cicatrização .....	11
3.1.1 Fase inflamatória .....	11
3.1.2 Fase de reparação (ou proliferativa) .....	12
3.1.3 Fase de maturação (ou remodelamento) .....	16
3.2 Tipos de cicatrização .....	17
3.3 Classificações das feridas .....	17
3.4 Fatores que interferem no processo cicatricial .....	19
3.4.1 Fatores locais .....	19
3.4.2 Fatores sistêmicos .....	20
3.5 Própolis .....	20
3.5.1 Composição química .....	22
3.5.2 Propriedades farmacológicas .....	23
3.5.3 Ação do própolis na cicatrização de feridas .....	30
3.5.4 Própolis no Centro de Controle de Zoonose .....	31
3.5.5 Perspectivas e Legislação .....	34
<b>4 METODOLOGIA .....</b>	<b>36</b>
<b>5 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>40</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pele, o maior órgão dos vertebrados é fundamental para a defesa e sobrevivência. Recobre a superfície do corpo e atua como uma barreira seletiva entre este e o meio externo. Também age inibindo a entrada de microrganismos e toxinas, enquanto previne a perda de fluidos, eletrólitos e calor (WENDT, 2005). A pele apresenta duas camadas principais: epiderme e derme, que são unidas entre si. Uma terceira camada, hipoderme, é constituída por tecido conjuntivo subcutâneo, ficando abaixo das duas camadas (BLANCK, 2008). A epiderme é a camada mais externa, composta por três diferentes linhagens celulares: os queratinócitos, os melanócitos e as células de Langerhans. A derme é a camada mais profunda e é formada por tecido conjuntivo (BLANES, 2004). Assim, quando a barreira protetora é aberta temos o que chamamos de feridas (BLANCK, 2008).

Ferida pode ser definida como qualquer alteração da integridade anatômica da pele, resultante de qualquer tipo de trauma (PEREIRA & BACHION, 2005). Pode ser produzida por fatores extrínsecos, como as incisões cirúrgicas e as lesões acidentais, ou por fatores intrínsecos, como aquelas produzidas por infecção, alterações vasculares, defeitos metabólicos e neoplasias (WENDT, 2005).

A cicatrização da ferida começa imediatamente após uma lesão ou incisão e corresponde a uma combinação de eventos físicos, químicos e celulares que restaura um tecido ferido ou o substitui por colágeno (HEDLUND, 2007). A reparação consiste na substituição das células e tecidos alterados por um tecido neoformado derivado do parênquima e/ou estroma do local injuriado. Se a reparação for feita principalmente pelos elementos parenquimatosos, uma reconstrução igual a original pode ocorrer (regeneração), mas, se for feita em grande parte pelo estroma, um tecido fibrosado não especializado será formado (cicatriz) (DYSON, 1997).

O tratamento de feridas envolve aspectos sistêmicos e locais. O tratamento local é denominado curativo, que constitui do procedimento de limpeza e cobertura de uma lesão, com o objetivo de auxiliar o restabelecimento da integridade do tecido ou prevenir a colonização de dispositivos invasivos diagnósticos ou terapêuticos no local da ferida (por exemplo, cateteres, drenos) (PEREIRA & BACHION, 2005).

O uso indiscriminado e prolongado de antimicrobianos químicos sintéticos tem levado à seleção de microrganismos patogênicos mutantes resistentes a esses

compostos, tornando o uso de antimicrobianos de origem natural uma alternativa eficaz e econômica (VARGAS et.al., 2004).

O própolis, também conhecido como "cola de abelhas" possui atividade antimicrobiana, antiinflamatória, anestésica e imunoestimulante (DOS SANTOS et.al., 2003). Citada desde a antiguidade, o própolis já era utilizado e considerado por alguns povos como medicamento para moléstias cutâneas (PEREIRA et.al., 2002).

Amostras de diferentes origens geográficas podem apresentar composição química bem diferente, porém continuam sendo responsáveis por atividade antibacteriana (DOS SANTOS et.al., 2003). No Brasil a colheita de própolis pode se dar durante todo o ano, não são raras as possíveis variações sazonais em sua composição e atividade, considerando-se a região e o local de colheita onde o própolis foi produzido (SILVA et.al., 2006).

Na Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose de São Paulo, o própolis é utilizado como principal pomada tópica para a cicatrização por segunda intenção das feridas traumática e não traumáticas dos animais que chegam ao centro.

Sabendo-se do grande interesse por tratamentos naturais, este trabalho tem a finalidade de realizar uma revisão bibliográfica sobre as etapas do processo de cicatrização e classificação de feridas, assim como de descrever as propriedades farmacológicas do própolis e ilustrar seu uso e ação nas feridas dos animais do Centro de Controle de Zoonose.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O presente trabalho tem como objetivo descrever todas as etapas do processo de cicatrização das feridas e sua classificação, bem como, as propriedades farmacológicas do própolis e seu emprego como pomada tópica no processo cicatricial da ferida.

### **2.2 Objetivo Específico**

Ilustrar com registros fotográficos, a ação do própolis usado no tratamento das feridas traumáticas e não traumáticas dos animais que chegam à Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose de São Paulo.

### 3 DESENVOLVIMENTO

#### 3.1 Etapas da cicatrização

A cicatrização é dividida em fases baseadas nas características microscópicas apresentadas, sendo estas iniciadas, mediadas e sustentadas por eventos bioquímicos complexos que tem como mediadores citocinas e fatores de crescimento (HOSGOOD, 2006).

Segundo Blanes (2004), Balbino et.al. (2005), Mendonça & Netto (2009) e Pavletic (2010) o processo de cicatrização de feridas pode ser dividido em três estágios: inflamação, reparação (ou proliferativa) e maturação (ou remodelamento).

##### 3.1.1 Fase Inflamatória

Após a ocorrência do ferimento, inicia-se o extravasamento sanguíneo que preenche a área lesada com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas (MENDONÇA & NETTO, 2009). Os eventos iniciais do processo de reparo estão, nos primeiros momentos, voltados para o tamponamento desses vasos. Quase concomitante ao estímulo lesivo, e devido à influência nervosa (descargas adrenérgicas) e ação de mediadores oriundos da degranulação de mastócitos, ocorre vasoconstrição como primeira resposta (BALBINO et.al., 2005). Agregados de plaquetas e consequente formação de trombos diminuem a hemorragia. Depois de 5 a 10 minutos, ocorre o aumento da permeabilidade vascular e há vasodilatação, com o extravasamento do plasma de pequenos vasos (STEVEN & RALPH, 1997).

O plasma contém fibrinogênio, enzimas, proteínas e anticorpos. Histamina, serotonina e metabólitos de ácido aracdônico (prostaglandinas e leucotrienos), rodeiam as células do endotélio vascular criando uma barreira entre as células. O resultado dessa sequência é a formação de um trombo rico em plaquetas, que provisoriamente tampona a lesão endotelial (STEVEN & RALPH, 1997).

Esse trombo rico em plaquetas (trombo branco) é rapidamente infiltrado pela fibrina, transformando-se em um trombo fibrinoso. Logo após, os eritrócitos são capturados por essa rede fibrinosa e forma-se então o trombo vermelho, principal responsável pela oclusão do vaso sanguíneo rompido (DAVIES, 1990).

As plaquetas são as primeiras a aparecerem na ferida para reparar as células (STEVEN & RALPH, 1997). Além de ser essencial à formação desse tampão hemostático, também secretam múltiplos mediadores na área lesada, incluindo fatores de crescimento, glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondina, que são importantes constituintes da matriz extracelular provisória (MENDONÇA & NETTO, 2009). A adesão inicial das plaquetas à superfície lesada ocorre pelas proteínas de adesão presentes na sua membrana (BALBINO et.al., 2005).

Além disso, a ativação da cascata de coagulação e do complemento, juntamente com a liberação dos fatores de crescimento, produz numerosos mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos que auxiliam o recrutamento das células inflamatórias no local da ferida (MENDONÇA & NETTO, 2009). Neutrófilos e monócitos migram para a ferida na mesma proporção em que são encontrados no sangue (HOSGOOD, 2006). Uma vez que os neutrófilos são as células mais abundantes no sangue, um número significativo deles é passivamente coletado pelo trombo provisório durante o rompimento dos vasos. O influxo de neutrófilos e macrófagos ativados para esta região aumenta a demanda por oxigênio com consequente elevação das concentrações de ácido láctico e queda do pH. Esta combinação, hipóxia, pH baixo e alta concentração de ácido láctico, ativa o macrófago para a produção de fatores de crescimento tais como, o derivado de plaquetas (PDGF); o de crescimento transformante (TGF- $\beta$ ), o fator de crescimento de células endoteliais (VEGF) e o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) (BALBINO et.al., 2005). Além desse papel, os macrófagos participam da fagocitose de fragmentos celulares, também secretam fatores quimiotáticos que atraem outras células inflamatórias ao local da ferida e produzem prostaglandinas, que funcionam como potentes vasodilatadores, afetando a permeabilidade dos microvasos (MENDONÇA & NETTO, 2009).

Os sinais da inflamação são vermelhidão, edema, calor e dor no local da ferida e resulta da vasodilatação, saída de fluido e obstrução dos vasos linfáticos. A fase inflamatória tem início logo após a lesão e dura cerca de cinco dias (PAVLETIC, 2010).

### **3.1.2 Fase de reparação (ou proliferativa)**

A cicatrização do estágio de reparação é composta de três processos: proliferação de fibroblasto, infiltração capilar e proliferação epitelial. Os dois primeiros processos ocorrem na forma de tecido de granulação da ferida (STEVEN & RALPH, 1997). Durante esta fase que corresponde ao período entre 5 e 20 dias após a lesão, ocorrem os processos de angiogênese, fibroplasia, contração da ferida e epitelização (HOSGOOD, 2006; PAVLETIC, 2010).

### Angiogênese e Fibroplasia

A angiogênese é a etapa fundamental do processo de cicatrização, na qual novos vasos sanguíneos são formados a partir de vasos preexistentes. Os novos vasos participam da formação do tecido de granulação provisório e supre de nutrientes e de oxigênio o tecido em crescimento (MENDONÇA & NETTO, 2009).

A fase inicial desse processo envolve a liberação de colagenase pelas células endoteliais dos capilares lesados, esta enzima é liberada em resposta aos fatores angiogênicos e degrada o colágeno da membrana basal dos capilares. Após essa degradação, células endoteliais migram para o espaço perivascular da ferida, formando brotamento que crescem rapidamente, se ramificam e se unem formando canais que correspondem ao plexo capilar superficial (DYSON, 1997). Os estímulos mais prováveis para a angiogênese são os fatores produzidos pelos macrófagos, como o fator de crescimento endotelial (VEGF) e o fator de crescimento de fibroblasto (FGF). A baixa tensão de oxigênio e o aumento de ácido láctico na ferida também são estímulos para a angiogênese (HOSGOOD, 2006).

Fibroplasia é o componente do tecido de granulação que inclui os fibroblastos e a matriz extracelular associados (PAVLETIC, 2010). Os fibroblastos são os principais componentes do tecido de granulação e após a influência dos fatores de crescimento derivados principalmente dos macrófagos, são ativados e migram das margens da ferida para o seu centro. Isto se dá pela orientação química de substâncias quimioatraentes (BALBINO et.al., 2005). Em adição, fibroblastos também secretam fatores de crescimento (TGF) e fator de crescimento de queratina (KGF) (STEVEN & RALPH, 1997). Com o aumento do número de fibroblastos ativados para a produção de colágeno no local, a matriz extracelular começa a ser substituída por um tecido conjuntivo mais forte e mais elástico (BALBINO et.al., 2005).

Concomitante a esta fibroplasia, ocorre intensa proliferação vascular. Este tecido formado por fibroblastos e vasos sanguíneos é denominado tecido de granulação, clinicamente apresentando-se com aspecto granuloso e avermelhado (BLANES, 2004).

O tecido de granulação é um tecido macio e bem vascularizado (DYSON, 1997) que preenche o ferimento abaixo da crosta ou da bandagem e é formado pela combinação de novos capilares, fibroblastos e tecido conjuntivo fibroso (HOSGOOD, 2006). Este tecido é edematoso e caracterizado pela presença de muitos espaços vazios, devido à imaturidade dos vasos, os quais são extremamente exudativos e sangram com facilidade. A neovascularização é essencial neste estágio porque permite a troca de gases e a nutrição das células metabolicamente ativas (BALBINO et.al., 2005). A utilização de curativos corretos durante esta fase mantém a superfície da ferida úmida e facilita a formação do tecido de granulação e a epitelização (HOSGOOD, 2006).

O termo tecido de granulação se deve a aparência granular do novo tecido (PAVLETIC, 2010). Este é importante para a cicatrização da ferida. É fortemente resistente a penetração de microrganismo, e serve como barreira contra infecção sistêmica, fornece uma superfície epitelial capaz de desempenhar um papel na contração da ferida, e contém fibroblastos que produzem colágeno para cicatrização da ferida (STEVEN & RALPH, 1997). O colágeno tipo III, que é relativamente abundante em vasos e associado aos capilares do tecido de granulação, é substituído pelo colágeno tipo I, produzido pelos fibroblastos (HOSGOOD, 2006). O tecido de granulação também apresentam macrófagos que debridam a ferida e fornecem citocinas necessárias para estimular a atividade dos fibroblastos e a angiogênese (DYSON, 1997).

A deposição do colágeno é influenciada por fatores de crescimento transformante- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), de crescimento epidérmico (EGF), derivado de plaquetas (PDGF) e fator de necrose tumoral (TNF). A diminuição do número de fibroblastos que produzem colágeno tipo I ocorre por volta do décimo quinto dia (BLANES, 2004) e marca o fim da cicatrização do estágio de reparação e o começo do estágio de maturação (STEVEN & RALPH, 1997). Conforme a cicatrização da ferida progride, os novos capilares entram em apoptose e a coloração da ferida, anteriormente caracterizada pelo vermelho - vivo do tecido de granulação, torna-se mais pálida (HOSGOOD, 2006).

### Contração da ferida

A contração da ferida é o processo no qual a pele periférica à lesão avança de forma centrípeta em direção ao centro da lesão (PAVLETIC, 2010).

Os fibroblastos presentes nas feridas desenvolvem propriedades contráteis ao longo da membrana basal, estes fibroblastos são chamados de miofibroblastos (PAVLETIC, 2010). A contração da ferida é influenciada por citocinas, o fator de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) tem sido estudado por promover a diferenciação do fibroblasto em miofibroblasto (STEVEN & RALPH, 1997). Os miofibroblastos ligam-se as fibras de colágeno na matriz extracelular. Esta ligação possibilita ao miofibroblasto aplicar uma força de tração na ferida (PAVLETIC, 2010). A ferida continua contraindo-se até que as bordas se encontrem e ocorra um feedback negativo devido ao contato entre as células das extremidades opostas resultando no encerramento do processo. A contração também cessa quando a tensão do tecido ao redor da ferida iguala ou excede a força de contração (HOSGOOD, 2006).

As possíveis desvantagens da contração da ferida é a formação de uma pele apertada sobre a superfície flexora, limitando o movimento principalmente dos membros; estenose nas proximidades das aberturas corporais como o ânus; insuficiente contração, resultando na epitelização recente da ferida (STEVEN & RALPH, 1997; SLATTER, 1998).

### Epitelização

O processo de epitelização ocorre na epiderme poucas horas após a lesão (DYSON, 1997; BALBINO et.al., 2005). A atividade inicial predominante é a mobilização e migração das células epiteliais na margem da ferida, seguida pela proliferação de células epiteliais subsequentes (DYSON, 1997). As células epidérmicas da margem da ferida sofrem alterações fenotípicas que proporcionam conexões físicas entre as células, e a formação de filamentos de actina que lhes permite o movimento (HOSGOOD, 2006).

A migração epitelial é guiada pelas fibras de colágeno (PAVLETIC, 2010). A superfície da ferida umedecida e oxigenada é um fator que acelera o processo de migração. Quando estas células encontram uma crosta recobrendo a região lesada,

promovem uma dissecação entre esta e a matriz, e um retardo de velocidade de migração (BALBINO et.al., 2005).

Os estímulos para proliferação e migração das células epidérmicas incluem fator de crescimento transformante- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) e o fator de crescimento do queratinócito produzido pelas células epitéliais, fibroblastos e macrófagos (HOSGOOD, 2006). À medida que a região da lesão vai sendo coberta pelas células epidérmicas é acionado o mecanismo de "inibição por contato". As células voltam a apresentar o fenótipo original e a membrana basal é refeita (BALBINO et.al., 2005).

### 3.1.3 Fase de maturação (ou remodelamento)

Nessa fase do processo de cicatrização ocorre uma tentativa de recuperação da estrutura tecidual normal (MENDONÇA & NETTO, 2009). Compreende dois eventos importantes: deposição, agrupamento e remodelação do colágeno e regressão endotelial (BLANES, 2004).

Por volta do décimo dia, o leito da ferida está totalmente preenchido pelo tecido de granulação, com uma rede capilar atravessando-o e, a rede linfática em franca regeneração. O tecido de granulação vai sendo enriquecido com mais fibras de colágeno e começa a adquirir a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz (BALBINO et.al., 2005). Nesta etapa, ocorre o remodelamento do colágeno, com um equilíbrio entre a deposição e o catabolismo deste, e a substituição do colágeno tipo III, que gradualmente se reduz, pelo colágeno tipo I que aumenta. A deposição do colágeno está diretamente ligada à resistência à tração exercida pela ferida (PAVLETIC, 2010). Há diminuição de todos os elementos celulares, inclusive fibroblastos, bem como dos elementos do tecido conjuntivo. A regressão endotelial ocorre através da diminuição progressiva de vasos neoformados, clinicamente a cicatriz se torna menos espessa, passando de uma coloração rosada para esbranquiçada (BLANES, 2004).

As principais citocinas envolvidas nessa fase são: fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL-1), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) produzidas pelos fibroblastos, além das produzidas pelas células epitéliais como o de crescimento epidérmico (EGF) e de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (MENDONÇA & NETTO, 2009).

De acordo com Hosgood (2006) e Pavletic (2010), nas três semanas iniciais após a lesão a cicatriz apresenta 20% da sua força final e nas semanas seguintes este ganho na resistência à tração ocorre em uma velocidade muito mais lenta e a cicatriz alcançará somente 70-80% da resistência à tração que teria a pele normal.

A fase de maturação e remodelamento inicia-se na fase proliferativa, após 20 dias da lesão, e continua por aproximadamente um ano (DYSON, 1997; HOSGOOD, 2006; PAVLETIC, 2010).

### 3.2 Tipos de cicatrização

Segundo Slatter (1998), Blanes (2004) e Blanck (2008), o processo de cicatrização pode ocorrer de três formas, devido aos agentes causadores, a quantidade de tecido perdido e o conteúdo microbiano. O fechamento pode ocorrer por:

1ª intenção – está associada à ferida limpa, portanto com perda mínima de tecido, reduzido potencial de infecção e possibilidade de aproximação dos bordos da lesão por suturas. O processo cicatricial ocorre no tempo fisiológico esperado e a cicatriz é mínima.

2ª intenção – está relacionada a ferimentos infectados e a lesões com perda acentuada de tecido, não é possível juntar os bordos da pele, ficam distantes uns dos outros. Este processo envolve uma produção de tecido de granulação, maior tempo para a contração e epitelização da ferida.

3ª intenção – quando há fatores que retardam a cicatrização da lesão, em que a ferida é deixada aberta por um determinado período, funcionando como cicatrização por segunda intenção, sendo suturada posteriormente, como cicatrização por primeira intenção.

### 3.3 Classificações das feridas

Os ferimentos podem ser classificados de diferentes formas de acordo com sua apresentação. Em termos simples, são classificados por sua etiologia e integridade do tecido (abertos ou fechados). As abertas podem ainda ser classificadas pela duração e grau de contaminação, profundidade e/ou etiologia da ferida (SLATTER, 1998).

A classificação da ferida utilizando a duração da contaminação é arbitrária; contudo, demonstra a importante relação entre o tempo de exposição e a infecção bacteriana. De acordo com o tempo de contaminação as feridas seriam classificadas como classe I, classe II e classe III (SLATTER, 1998). De acordo com as informações coletadas no histórico e exame físico do animal, um ferimento pode ainda ser classificado em: limpa, limpo-contaminada, contaminada e suja/infectada (PAVLETIC, 2010).

**Quadro 1 – Classificação das feridas quanto a sua apresentação.**

<b>Classificação</b>	<b>Característica</b>
<b>Integridade do tecido</b>	
Aberto	Laceração ou perda de pele
Fechado	Lesão de esmagamento ou contusão
<b>Etiologia</b>	
Abrasão	Perda da epiderme e parte da derme. Normalmente devido ao cisalhamento entre duas superfícies compressivas.
Avulsão	Rasgo do tecido de sua inserção devido a forças similares das que causam a abrasão, mas de maior magnitude.
Incisão	Criado por um objeto cortante. Bordas da ferida são lisas e o trauma do tecido é mínimo.
Laceração	Ferida irregular causada por rasgo do tecido com variação de dano para a superfície e tecido subjacente.
Perfuração	Penetração da pele por projétil ou objeto cortante. O dano superficial é mínimo. O dano para estruturas são mais importantes. Contaminação por bactéria é comum.
Equimose e Hematoma	Na equimose há rompimento dos capilares, porém sem perda da continuidade da pele, sendo que o hematoma, o sangue extravazado forma uma cavidade.
<b>Grau de contaminação e duração</b>	
Classe I	Zero a 6 horas de duração com mínimo de contaminação.
Classe II	6 a 12 horas de duração com significativa contaminação.
Classe III	12 horas ou mais com muita contaminação.

Grau de contaminação	
Ferida limpa	Criada cirurgicamente em condições assépticas. Não invade trato respiratório, alimentar, geniturinário, ou cavidade orofaríngea.
Ferida limpa contaminada	Contaminação mínima, e a contaminação podem ser facilmente removidas. Incluindo feridas operatórias envolvendo o trato respiratório, gastrointestinal e geniturinário.
Ferida contaminada	Ferida traumática aberta com grave contaminação e possíveis resíduos estranhos. Incluindo feridas com maior quebra nas técnicas assépticas, e incisão em áreas de inflamação não purulenta ou contaminação de pele.
Ferida suja / infectada	Feridas traumáticas antigas e feridas com infecção clínica ou perfuração de vísceras.

Fonte: Steven & Ralph, 1997

### 3.4 Fatores que interferem no processo cicatricial

Existem vários fatores locais e sistêmicos que podem influenciar prejudicialmente o processo cicatricial (MANDELBAUM et al., 2003; BLANES, 2004 e BLANCK, 2008).

#### 3.4.1 Fatores locais

A presença de materiais estranhos em ferimentos, tais como sujeiras, resíduos, fios de sutura e implantes cirúrgicos podem causar uma intensa reação inflamatória que interfere na cicatrização normal. A liberação de enzimas destinadas a degradar corpos estranhos destrói a matriz do ferimento, prolonga a fase inflamatória e retarda a fase fibroblástica do reparo tecidual, atrasando a produção de colágeno (HEDLUND, 2007). A inflamação agravada pela infecção bacteriana compromete a vasculatura, causando necrose adicional (HEDLUND, 2007). As bactérias também alteram o pH da ferida e esta ação pode afetar os mediadores locais da cicatrização. Além da baixa tensão de oxigênio e da presença de infecções, um tecido de granulação excessivo acima da margem da ferida também pode causar atraso na cicatrização, pois pode retardar a contração e a epitelização (SLATTER, 1998).

Uso de drogas sistêmicas em especial, anticoagulantes, corticosteróides, antineoplásicos podem retardar a cicatrização. Alguns agentes tópicos também atrapalham a migração epidérmica, tais como, acetonido de triancinolona 0,1% diminui 34% a taxa relativa de cura; nitrofurazona diminui 30% (MANDELBAUM et.al., 2003).

De acordo com Blanck (2008), fatores ligados diretamente à ferida como tipo de trauma, tamanho da lesão, presença de dor, edema ou hematoma também podem atrasar o processo cicatricial.

### **3.4.2 Fatores sistêmicos**

A desnutrição causada por defeitos congênitos, doença ou negligência dos proprietários pode ter efeitos adversos sérios na cicatrização, além de restringir o crescimento e desenvolvimento do paciente (PAVLETIC, 2010). Níveis diminuídos de proteínas plasmáticas reduzem a fibroplasia (SLATTER, 1998).

Em casos de anemia, devem ser relativamente severa antes de ter efeito significativo na cicatrização, enquanto que a hipovolemia pode prejudicá-la através da redução da circulação sanguínea na ferida (PAVLETIC, 2010).

O envelhecimento é outro fator que pode afetar o potencial de cicatrização, pois com o aumento da idade a densidade de colágeno é reduzida, a vascularização da derme é comprometida, a derme atrofia, a taxa de epitelização torna-se mais lenta e ocorre redução da resistência à tração no tecido remodelado (HEDLUND, 2007). Além disso, a idade avançada está associada a uma série de alterações nutricionais, metabólicas, vasculares e imunológicas e, muitas vezes, as doenças crônicas, que tornam o indivíduo mais suscetível ao trauma e à infecção (BLANES, 2004).

Segundo Slatter (1998) e Hedlund (2007), doenças sistêmicas como hepatopatia, hiperadrenocorticism, diabetes mellitus, hipotireoidismo afetam de forma negativa a cicatrização.

## **3.5 Própolis**

Própolis é uma palavra de origem grega: “pro” = em favor de; “polis” = cidade (SALATINO et.al., 2005). O uso do própolis é muito antigo, os primeiros relatos de

sua utilização datam do Egito antigo e da Mesopotâmia e foi muito utilizada pelos assírios, gregos, romanos, incas e egípcios. Seu emprego foi relatado no papiro de Ebers, escrito em 1700 a.C., e no antigo Egito era utilizada para o embalsamamento dos mortos no processo de mumificação (PINTO et.al., 2011).

Nos tempos modernos, o própolis começou a ganhar reconhecimento como um meio para o tratamento de problemas de saúde nos anos de 1950 e 1960 na antiga União Soviética e nos países do Leste da Europa, como a Bulgária, Tchecoslováquia e Polônia. Nos países da Europa Ocidental, América do Norte e Sul e no Japão, o própolis não adquiriu popularidade até os anos 1980. Neste último país, o primeiro anúncio importante do própolis como uma possibilidade promissora em farmacologia ocorreu em 1985 no 30º Congresso Internacional de Apicultura de Nagoya. Em meados da década de 80, o própolis acabou como um produto importante em complementar à medicina alternativa (SALATINO et.al., 2005). No Brasil a primeira publicação sobre o própolis foi em 1984 e apresentou um estudo comparativo do efeito da própolis e antibióticos na inibição de *Staphylococcus aureus*. Hoje o Brasil é a terceira maior produção mundial, perdendo apenas para a Rússia e a China (PEREIRA et.al., 2002).

As características do própolis brasileiro tornaram esta a principal fonte de sustentação do mercado japonês, representando 80% da demanda do país. Além das propriedades farmacológicas, existem duas razões pelas quais os japoneses têm preferência pelo própolis brasileiro: a primeira é devido as suas características organolépticas e a segunda é pelo seu menor teor de metais pesados (PEREIRA et.al., 2002).

O própolis é uma resina de coloração e consistência variada coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae) de diversas partes das plantas como brotos, botões florais e exsudatos resinosos (PARK et.al., 1998; VARGAS et.al., 2004; SILVA et.al., 2006). A resina contida no própolis é coletada na vegetação das cercanias da colméia. O espectro de voo de uma abelha *A. mellifera* abrange um raio de cerca de 4-5 km em torno da colméia, de onde abelhas campeiras coletam pólen e néctar para alimentação, bem como resina para o própolis (MENEZES, 2005). Durante a coleta do própolis, as abelhas misturam a cera e o própolis coletado juntamente com a enzima 13-glicosidase presente na sua saliva, acarretando a hidrólise dos flavonóides glicosilados em flavonoides agliconas (PARK et.al., 1998).

As abelhas utilizam o própolis para vedar frestas e diminuir o tamanho da entrada da colméia, reduzindo o ataque de intrusos e protegendo as abelhas e suas crias do frio. Serve ainda como material antisséptico, sendo depositada no interior dos alvéolos onde a abelha rainha realiza a postura dos ovos e também é utilizada para envolver inimigos abatidos no interior da colméia, evitando que apodreçam e contaminem o ninho (PINTO et.al., 2011).

Vários estudos indicam que o própolis apresenta baixa toxicidade inata, o que já era de se esperar, pois os flavonóides, seus principais constituintes, apresentam uma toxicidade muito baixa. Análises de TGP, TGO (duas transaminases responsáveis por processar os aminoácidos do fígado), além de uréia e creatinina, no plasma de camundongos tratados com própolis, não indicaram toxicidade dos extratos etanólicos de própolis. Geralmente as pessoas alérgicas a picadas de abelhas também são alérgicas ao uso ou à aplicação de própolis, mel, geleia real e pólen. Talvez isso possa ser explicado devido ao fato de secreções glandulares das abelhas, assim como algumas enzimas, fazerem parte dos produtos apícolas (PINTO et.al., 2011).

### 3.5.1 Composição química

A composição do própolis varia de acordo com a região onde é coletado (MARCUCCI, 1995; SILVA et.al., 2006). Dessa maneira o própolis pode apresentar diversos aspectos e variações em sua textura, cheiro e coloração, sendo essas características atribuídas a sua composição química (PINTO et.al., 2011).

Segundo Wagner Rodrigues Santos presidente da Sociedade Brasileira de Apiterapia, o tipo mais comum é o própolis verde, originado do alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*), temos também o própolis de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) que apresenta uma coloração marrom escura, quase negra. Por volta de 2005, foi descoberta, no litoral da Paraíba, o própolis vermelho, originado do marmeleiro da praia (*Dalbergia ecastophyllum*), que tem despertado o interesse de diversos pesquisadores (MARCUCCI, 1995; PINTO et.al., 2011).

De uma maneira geral, a composição do própolis inclui 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de pólen e metabólitos secundários, incluindo flavonóides, ácidos fenólicos, além de minerais (SILVA, et.al., 2006; PINTO et.al., 2011). Os flavonóides são compostos fenólicos que compreendem um amplo grupo

de substâncias naturais não sintetizadas pelos animais. A ingestão de flavonóides interfere em diversos processos fisiológicos, auxiliando na absorção e na ação de vitaminas, atuando nos processos de cicatrização como antioxidantes, além de apresentarem atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune (MENEZES, 2005). São reconhecidos por suas atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais e com isso, caracterizados por serem responsáveis por grande parte dos efeitos benéficos do própolis (MARCUCCI, 1995).

Para entender o que causa as diferenças na composição química do própolis é necessário ter em mente a enorme diversidade biológica brasileira, bem como, a habilidade bioquímica das abelhas em modificar a composição natural e/ou adicionar outros componentes ao própolis (PINTO et.al., 2011). Somente no Brasil são descritas propriedades biológicas e composição química distintas para diferentes amostras coletadas em diferentes partes do país. Uma menor variação da composição química do própolis é observada nas regiões temperadas do planeta, como por exemplo, na Europa, onde seus principais compostos bioativos são os flavonóides (PEREIRA et.al., 2002).

Segundo Pereira (2002) e Pinto (2011), hoje mais de 300 constituintes já foram identificados e/ou caracterizados em diferentes amostras de própolis, dentre eles: flavonóides, ácidos aromáticos, ácidos graxos, fenóis, aminoácidos, vitaminas (A, B1, B2, B6, C, E e PP), minerais (sódio, potássio, magnésio, bário, estrôncio, cádmio, chumbo, cobre, manganês, ferro, cálcio, vanádio, silício, alumínio, níquel, zinco, cromo, titânio, prata, molibdênio e cobalto).

### **3.5.2 Propriedades farmacológicas**

#### Ação Antimicrobiana

Certamente a capacidade do própolis em inibir o crescimento de microorganismos é a atividade farmacológica mais popularmente conhecida e comprovada cientificamente. Apesar de suas distintas composições, amostras de própolis da Europa são muito similares em relação à atividade antimicrobiana quando comparadas com as amostras de própolis provenientes do Brasil (MENEZES, 2005).

Um estudo realizado por Castro et.al. (2007), avaliou a influência do efeito sazonal sobre o extrato de própolis de duas regiões brasileiras (nordeste e sudeste), ao longo dos períodos de safra apícola (abril a outubro). A sazonalidade influenciou a atividade antimicrobiana do própolis de ambas as regiões, devido, provavelmente, à alteração na concentração de compostos bioativos oriundos das fontes vegetais, durante o período de inverno. Isto demonstra que a atividade antibacteriana do própolis pode variar em função do período de coleta e da sazonalidade local.

O própolis apresenta uma grande variedade de substâncias e suas propriedades antibacterianas são atribuídas principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletil do ácido caféico, com um mecanismo de ação baseado provavelmente na inibição da RNA-polimerase bacteriana. Outros componentes como os flavonóides, o ácido caféico, ácido benzóico e ácido cinâmico, devem agir na membrana ou parede celular dos microorganismos, causando danos funcionais e estruturais (LUSTOSA et.al., 2008; PINTO et.al., 2011).

O própolis apresenta uma atividade antibacteriana mais pronunciada contra linhagens de bactérias Gram-positivas e sua ação é mais limitada contra bactérias Gram-negativas (LUSTOSA et.al., 2008; PINTO et.al., 2011). Ainda não se pode dizer claramente qual o motivo da menor atividade biológica do própolis contra bactérias Gram-negativas, no entanto, suspeita-se que essa maior resistência se deva ao fato dessas bactérias possuírem uma parede celular quimicamente mais complexa e um teor lipídico maior, que de algum modo dificultaria a ação dos componentes ativos da própolis (PINTO et.al., 2011).

De acordo com estudo realizado por Vargas et.al. (2004), foram utilizados 161 isolados bacterianos liofilizados (81 Gram-positivos e 80 Gram-negativos), com três tipos diferentes de meio de cultura, tendo como base o extrato de própolis a uma concentração de 50%. Dentre as 161 amostras bacterianas avaliadas, 109 foram sensíveis ao extrato de própolis, o que representou 67,70% do total pesquisado. Apresentaram sensibilidade ao extrato de própolis, 75 (92,60%) dos 81 isolados Gram-positivos e 34 (42,50%) dos 80 Gram-negativos avaliados. Segundo Marcucci et.al. (2001), a atividade antibacteriana do própolis é maior contra as bactérias Gram-positivas, devido aos flavonóides, ácidos e ésteres aromáticos presentes na resina, os quais atuam sobre a estrutura da parede celular desses microorganismos através de um mecanismo de ação ainda não elucidado.

Por outro lado, Fierro (2000) demonstrou que pacientes com feridas superinfectadas, quando tratados localmente com própolis e um antibiótico sistêmico, apresentavam melhor evolução que os pacientes tratados apenas com o antibiótico. Além disso, como citado no trabalho de Dos Santos et.al. (2003), o uso de própolis em solução alcoólica também vem demonstrando a sua alta atividade contra bactérias Gram-positivas e ação considerável contra bactérias Gram-negativas e fungos em forma de leveduras. Ainda, no trabalho de Dos Santos et.al. (2003), os resultados obtidos para determinar a melhor alcoolatura para a obtenção de tinturas de própolis com maior atividade antimicrobiana estão demonstrados no quadro 2. As melhores atividades encontradas para o própolis foram para as alcoolaturas entre 50 e 90%. Sendo assim sugere-se proceder à extração do própolis utilizando-se alcoolatura de 70%, pois além de ser um valor intermediário da faixa encontrada, pode potencializar o seu efeito antimicrobiano, visto que, muito embora ainda não se saiba o exato mecanismo pelo qual o álcool destrói os microrganismos, há muito tempo é conhecido que a eficácia antimicrobiana do álcool na presença da água é aumentada nas concentrações próximas a 70%.

**Quadro 2** - Atividade antimicrobiana de tinturas de própolis em diferentes alcoolaturas, frente à cepa de *S. aureus* multirresistente.

Alcoolatura	Halo de inibição (mm) ( <i>S. aureus</i> multirresistente)
96%	9
90%	10
80%	10
70%	10
60%	10
50%	10
40%	9
30%	8
20%	0
10%	0
Álcool puro	0
Água pura	0

Fonte: Dos Santos et.al., 2003

### Ação Antiinflamatória

Desde muito tempo estuda-se a atividade antiinflamatória do própolis. Em estudo realizado com ratos e coelhos, Sutta et.al. (1974) mostraram que soluções hidroalcoólicas de própolis possuem atividade antiinflamatória após a administração tópica, injetável, ou mesmo por via oral.

A atividade antiinflamatória observada no própolis parece ser devida à presença de flavonóides, especialmente galangina. Este flavonóide apresenta atividade inibitória contra a ciclooxigenase (COX) e lipooxigenase, responsáveis pela formação de importantes mediadores biológicos que caracterizam a inflamação. Tem sido relatado também que o ácido fenil éster caféico (CAPE), possui atividade antiinflamatória por inibir a liberação de ácido aracdônico da membrana celular, suprimindo as atividades das enzimas COX-1 e COX-2. O própolis tem demonstrado ação antiinflamatória também por inibir a síntese das prostaglandinas, ativar a glândula timo, auxiliando o sistema imune pela promoção da atividade fagocítica e estimulando a imunidade celular (LUSTOSA et.al., 2008; PINTO et.al., 2011). Além destes compostos, outros 15 compostos apresentam esta atividade antiinflamatória, entre eles o ácido salicílico, a apigenina e o ácido felúrico (MENEZES, 2005).

Sabe-se que os macrófagos estão envolvidos em vários processos fisiológicos do corpo, tais como fagocitose, liberação de enzima, geração de radicais livres e inflamação. A atividade imunoestimulante do própolis pode estar associada com a ativação de macrófagos e aumento da sua capacidade fagocitária (RAMOS & MIRANDA, 2007).

O óxido nitroso é outro mediador inflamatório potente produzido por células endoteliais e inflamatória que pode induzir o dano tecidual se sintetizada em grandes quantidades (RAMOS & MIRANDA, 2007). A inibição na geração de óxido nítrico por macrófagos é também apontada como um dos fatores responsáveis pela atividade antiinflamatória do própolis (MENEZES, 2005).

A ação antiinflamatória do própolis também ocorre através da inibição do sistema complemento. Desta forma, a ação anticomplemento do própolis pode ser altamente benéfica, pois, através da inibição de importantes mediadores da inflamação derivados do sistema complemento, os efeitos adversos de determinados processos inflamatórios poderiam ser reduzidos (FISCHER et.al., 2008).

### Ação Antifúngica

A avaliação antifúngica do extrato de própolis mostrou importante atividade contra isolados de pele e unhas (KOC et.al., 2005).

Um estudo realizado por Longhini et.al. (2007), teve por objetivo avaliar eficiência das diferentes concentrações de própolis, assim, selecionando o extrato que apresente melhor atividade *in vitro* frente a uma coleção de leveduras isoladas de onicomicoses. A onicomicose é uma infecção fúngica ungueal que pode ser causada por fungos filamentosos ou leveduras. Representa de 20 a 50% das onicopatias e 30% de todas as infecções micóticas superficiais. Os resultados obtidos foram promissores, mostrando que o própolis apresenta atividade antifúngica mesmo em quantidades muito pequenas. A atividade antifúngica foi proporcional à concentração de própolis, além disto, o teste mostrou que a quantidade de flavanóides no própolis influência na atividade antifúngica.

Outro estudo realizado por Lozina et.al. (2006), observou quatro cepas de *Malassezia pachydermatis* isolada de ouvido de cães com sintomas de otite. *Malassezia pachydermatis* foi sensível a concentrações muito baixas de própolis, o que significa um teor elevado de princípios ativos responsáveis pela sua ação farmacológica, como a existência de flavonóides na sua composição. O efeito do própolis demonstrado neste trabalho é tanto fungicida como fungistático. O autor sugere a existência de novos trabalhos, a fim de usar o própolis em fórmulas farmacêuticas para as otites crônicas resistentes a outros tratamentos.

O própolis possui ação sinérgica relevante, podendo se constituir como uma alternativa terapêutica para a resistência microbiana, porém dependente da sua composição e da concentração dos componentes ativos (PINTO et.al., 2011). Comparou-se as amostras de própolis com fármacos antifúngicos cetoconazol, itraconazol, fluconazol e terbinafina. O crescimento de fungo foi mínimo, sendo considerado um bom inibidor e um potente agente para o tratamento de dermatofitoses (KOC et.al., 2005).

### Ação Antioxidante

Diariamente o nosso organismo, devido ao metabolismo aeróbico normal, produz várias espécies químicas reativas capazes de causar danos às células. Estas

espécies podem ser chamadas de agentes oxidantes ou radicais livres que normalmente são eliminados por nosso corpo com auxílio de enzimas endógenas. Se as ações dos radicais não forem eliminadas eles podem causar vários danos às células envolvidas, tais como inativação de enzimas, ligações cruzadas em proteínas, oxidação de lipídeos da membrana celular e quebra do DNA (PINTO et.al., 2011).

Uma tendência que nos últimos anos vêm crescendo é a possibilidade do emprego de plantas contendo conhecidos polifenóis com propriedades antioxidantes. Além dos polifenóis, o própolis contém uma extensa gama de outros compostos com a propriedade de remover esses radicais livres em excesso de nosso organismo (MENEZES, 2005). Entre eles destacam-se os flavonóides que são relatados como os mais abundantes e efetivos antioxidantes do própolis (LUSTOSA et.al., 2008).

Muitos trabalhos demonstram que o poder antioxidante do própolis está relacionado às concentrações e/ou tipos de compostos fenólicos, principalmente flavonóides e ácidos fenólicos, encontrados nas amostras, como citados nos trabalhos de Russo et.al. (2002) e Kalogeropoulos et.al. (2009).

#### Ação Antineoplásica

O câncer pode ser considerado uma doença genética causada pela aquisição sequencial de mutações em genes implicados na proliferação e morte celular. O dano causado ao DNA pode resultar de processos endógenos como erros na duplicação do DNA e instabilidade química em certas bases do DNA ou de interações com agentes exógenos como radiação ionizante e ultravioleta, agentes químicos e biológicos como os vírus (BEHLING et.al., 2004).

Diversos compostos isolados do própolis apresentaram atividade inibitória no crescimento de diversos tumores (MENEZES et.al., 2005). Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e majoritários são os compostos fenólicos, tais como os flavonóides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar radicais livres (BEHLING et.al., 2004).

Diferentes flavonóides podem atuar em vários níveis do processo cancerígeno. Se o dano ao DNA causa a mutação dos genes implicados na morte e proliferação celular, que é a causa do câncer, a sua prevenção é possível quando

esta mutação é prevenida. Assim, os flavonóides poderiam inibir a carcinogênese química, diminuindo a geração de radicais livres endógenos, e a biológica no combate a bactéria *Helicobacter pylori* causadora da úlcera estomacal, e associada ao desenvolvimento de câncer no estômago (BEHLING et.al., 2004).

Similares aos macrófagos, os linfócitos *Natural Killer* (NK), que apresentam atividade citotóxica sobre várias células tumorais ou células infectadas por vírus, são considerados o primeiro mecanismo de defesa do organismo (VIVIER et.al., 2004). O própolis, portanto, pode ser considerado uma importante substância com atividade antitumoral. Desta forma, os dados obtidos têm resultado em uma forte indicação do uso do própolis como uma nova opção para o tratamento de doenças tumorais (FISCHER et.al., 2008).

#### Ação Antiviral

Pode-se dizer que há poucos estudos da atividade antiviral do própolis relatados na literatura, entretanto desde muito tempo a atividade antiviral do própolis já é relatada (PINTO et.al., 2011). Em estudos realizados foram observados que os extratos apresentam atividade antiviral na reprodução do vírus da influenza A e B, do vírus da vaccinia, do vírus da doença de Newcastle, devido aos seus constituintes, especialmente os flavonóides (MARCUCCI, 1995).

Estudos *in vitro* sugerem que o própolis tem uma potente atividade antiviral contra as variantes X4 e R5 do HIV-1 (LUSTOSA et.al., 2008) e apresenta atividade similar com linfócitos CD4<sup>+</sup> que operam, parcialmente, como inibidores da entrada viral (PINTO et.al., 2011).

#### Ação Imunomodulatória

A imunomodulação pode ser exercida mediante a potencialização ou através de supressão de elementos do sistema imunológico (FISCHER et.al., 2008). Tem sido descritos muitos estudos que demonstram a atividade do própolis no sistema imunológico, como aumentando a atividade lítica contra células tumorais e estimulando anticorpos, entre outras (PINTO et.al., 2011).

Uma das formas de imunomodulação pelo própolis ocorre através da ativação de macrófagos. A ação do própolis sobre os macrófagos resulta em aumento da

capacidade fagocítica, estimulação da secreção de citocinas, tais como o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), e outras substâncias como o óxido nítrico (NO) e espécies reativas do oxigênio. Em altas concentrações, o NO é responsável pela indução de apoptose em linfócitos T auxiliares e os resultados obtidos são semelhantes à capacidade antitumoral do própolis (FISCHER et.al., 2008).

Estudo realizado por Orsi et.al. (2000), observou que o própolis induz a uma discreta elevação na produção de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e uma inibição na produção de óxido nítrico. Estes dados sugerem que o própolis tem um papel importante na ação do sistema imunológico do hospedeiro pela ativação dos macrófagos.

Apesar do mecanismo detalhado da sua ação sobre células do sistema imune ser desconhecido, a estimulação de macrófagos à produção de citocinas capazes de amplificar a resposta imune humoral pode ser um dos mecanismos envolvidos (FISCHER et.al., 2008).

Algumas das substâncias bioativas do própolis como os flavonóides, podem ser utilizadas como drogas imunossupressoras em associação ou substituição de outros imunossupressores, como os corticosteróides. O mecanismo de ação do própolis, neste caso, é semelhante ao destas substâncias, inibindo os fatores de transcrição, como o NF $\kappa$ B, que regula a expressão de genes envolvidos na resposta imune, estimulando a expressão de citocinas inflamatórias, moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) e a adesão de moléculas envolvidas na metástase de tumores, estimulando a produção de óxido nítrico ou alterando a expressão de genes de citocinas sem, no entanto, haver relato de efeitos adversos (FISCHER et.al., 2008).

### **3.5.3 Ação do própolis na cicatrização de feridas**

O mel é descrito como detentor de atividade antiflogística (antiinflamatória) no tratamento de feridas cutâneas humanas e animais. Segundo estudos, o mel estimula a expressão de citocinas quimiotáticas para fibroblastos e fatores de crescimento, que abreviam a fase inflamatória da reparação tecidual (CASTRO et.al., 2009). Os flavonóides são os principais compostos com atividade farmacológica encontrados no própolis, agem como antioxidantes, combatendo os radicais livres, possuem atividade antimicrobiana e moduladora do sistema imune,

apresentam ação antiinflamatória, analgésica, regenerativa de cartilagens, ossos e produzem vasodilatação (VIEIRA et.al., 2008). A vaselina usada para dar a textura de pomada ao extrato de própolis não possui atividade antiflogística descrita na literatura (CASTRO et.al., 2009).

A limpeza diária das lesões reduz a população bacteriana local, os tecidos são macerados e ocorre debridação das bordas da lesão, favorecendo a aeração da ferida, migração fibroblástica e desenvolvimento de novos capilares (CASTRO et.al., 2009).

Como citado por Dos Santos et.al. (2007), no seu estudo sobre o efeito do própolis nas feridas crônicas houve resultados positivos em relação ao seu efeito analgésico, as pessoas referiram melhora da dor e do calor local, diminuição do odor, do edema, das secreções e da coceira. Gradativamente o tecido de granulação surgiu no leito da maioria das feridas.

#### **3.5.4 Própolis no Centro de Controle de Zoonose**

O manejo de feridas dos animais que chegam à Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose de São Paulo (CCZ) é realizado da seguinte maneira: primeiramente limpeza com gaze e solução fisiológica para retirar as células mortas e debridar a ferida. Após, uma camada de própolis (extrato de própolis 50% e vaselina para dar a consistência de pomada) é aplicada o suficiente para cobrir a ferida que cicatrizará por segunda intenção.

O tratamento sistêmico é feito concomitantemente ao tratamento tópico. Para o tratamento sistêmico é utilizado o seguinte protocolo: analgesia (Dipirona 25mg/kg e Tramadol 2-3mg/kg em associação), antibioticoterapia por pelo menos 21 dias (Cefalexina 30mg/kg com ou sem a associação de Metronidazol 25mg/kg), antiinflamatório por 5-7 dias (Meloxicam 0,2mg/kg ou Carprofeno 4,4mg/kg ou Cetoprofeno 1mg/kg).

**Figura 1: Cão, boxer, macho.**

Animal de aproximadamente 8 anos, chegou ao CCZ atropelado com avulsão da epiderme e parte da musculatura em membro pélvico direito e presença de miíase.

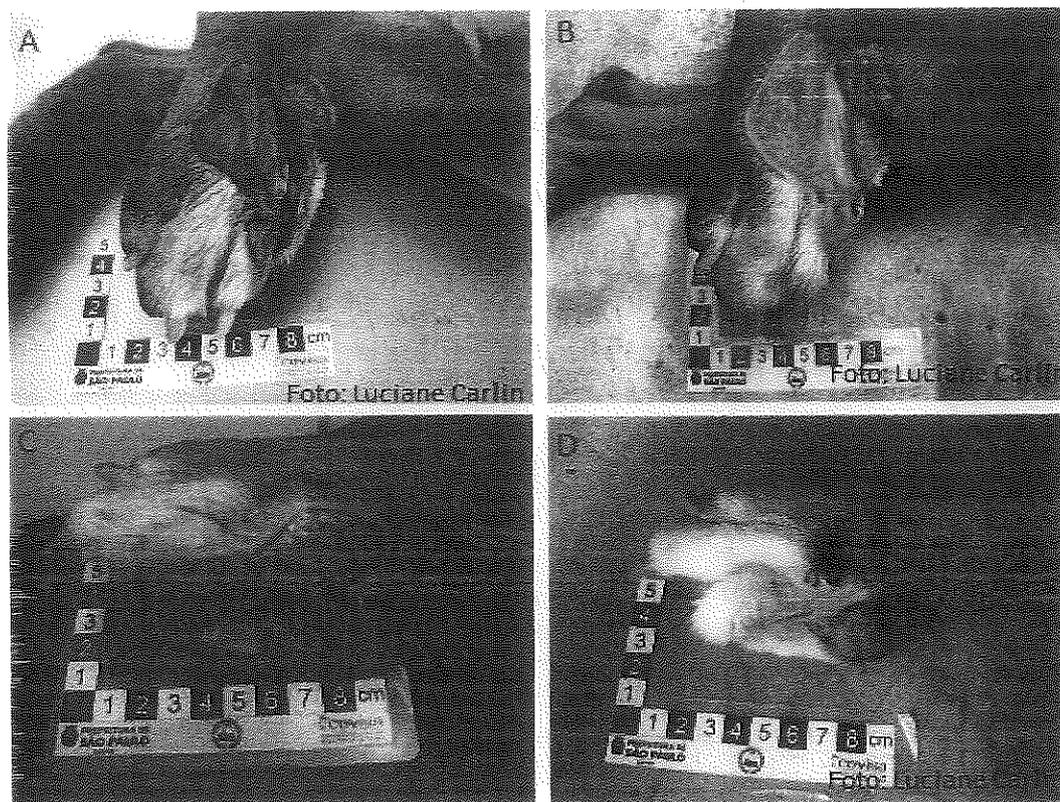


Fig. 1: (A) 1º dia da ferida, notar áreas necrosadas e exposição óssea, ferida contaminada; (B) 7º dia da ferida já com formação do tecido de granulação; (C) 26º dia da ferida, começa a contração das bordas e tecido bem vascularizado; (D) 50º dia da ferida, notar o fechamento das bordas e a formação da cicatriz.

**Figura 2: Cão, SRD, fêmea.**

Animal de aproximadamente 3 meses, chegou ao CCZ atropelada com amputação de dígitos do membro pélvico direito e presença de miíase.

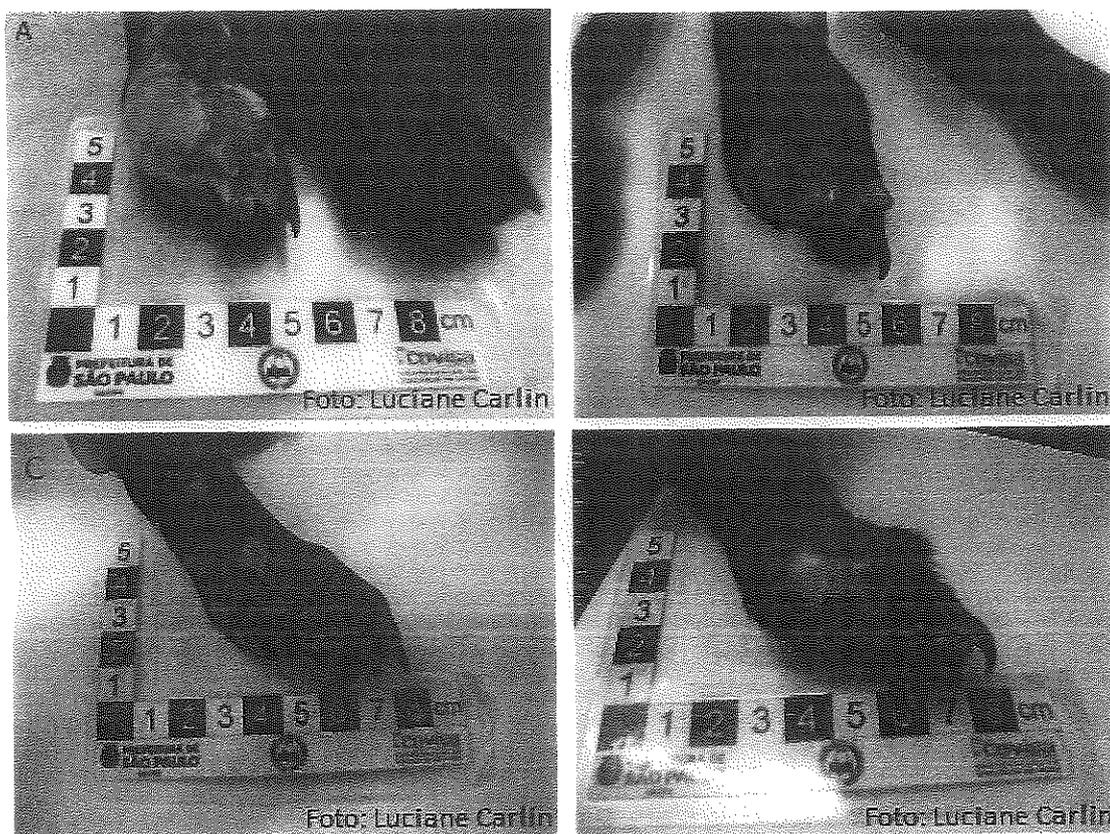


Fig. 2: (A) 1° dia da ferida, há presença de apenas um dígito, apesar de não ter área necrosada o tecido se encontra contaminado; (B) 6° dia da ferida, já se nota a formação do tecido de granulação; (C) 13° dia da ferida, área já bem vascularizada com contração das bordas; (D) 28° da ferida, cicatrização completa com formação da cicatriz.

**Figura 3: Cão, SRD, fêmea.**

Animal de aproximadamente 1 ano, teve seqüela de cinomose e ficou tetraplégica. As escaras de decúbito são frequentes e tratadas com própolis.

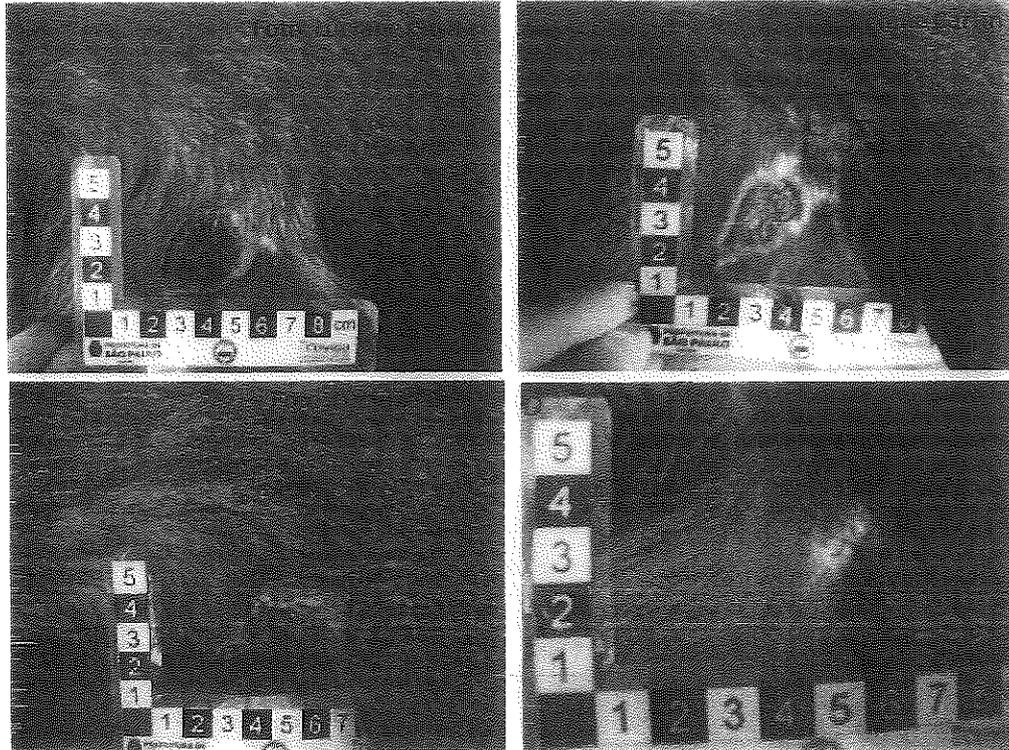


Fig 3: (A) 1º dia da ferida, escara de decúbito aberta e contaminada; (B) 6º dia da ferida, já com formação do tecido de granulação; (C) 13º dia da ferida, as bordas aproximadas e algumas áreas já fechadas; (D) 20º dia da ferida, cicatrização completa e formação de cicatriz.

### 3.5.5 Perspectivas e Legislação

A grande questão para o futuro é responder a uma pergunta antiga: qual própolis serve para qual ação terapêutica? E para isso é necessário definir quais parâmetros terapêuticos mínimos os diferentes tipos de própolis devem possuir, ou idealmente qual composição química mínima deveria ser exigida para que apresentem as propriedades farmacológicas desejadas. No caso do própolis europeu a padronização de seu uso como “fitoterápico” é mais simples já que o principal parâmetro que rege sua atividade é o teor de flavonóides. Portanto, determinando o teor de flavonóides e contaminantes (como metais pesados) seria

possível classificar a qualidade do própolis (PEREIRA et.al., 2002). O própolis pode ser classificado em teor de flavonóides, como baixo teor (até 1,0% m/m), médio teor (> 1,0% - 2,0% m/m) ou alto teor (> 2,0% m/m) (BRASIL, 2001).

A maioria dos produtos à base de própolis comercializada no Brasil possui registro no Ministério da Agricultura Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001). O consumo de própolis no mundo é estimado em cerca de 700-800 toneladas / ano. Faltam estatísticas oficiais sobre o volume de própolis produzido anualmente no Brasil, o que é exportado e o que é consumido pelo mercado interno. Existem apenas avaliações de produtores e exportadores que situam a produção brasileira entre 49 e 150 toneladas anuais (LUSTOSA et. al., 2008).

#### 4 METODOLOGIA

Esta pesquisa percorreu as postulações apresentadas por Steven & Ralph (1997) e Pavletic (2010) que abordaram assuntos relacionados às etapas de cicatrização das feridas, como inflamação, debridação, reparação, contração, epitelização e maturação. Também seguiu alguns artigos da base de dados Scielo ([www.scielo.br](http://www.scielo.br)) e biblioteca virtual da USP ([www.bireme.br](http://www.bireme.br)) relacionados aos tipos de cicatrização, como primeira, segunda e terceira intenção, e a classificação das feridas quanto aberta e fechada. Em relação ao uso do própolis, foi realizado um levantamento bibliográfico também na base de dados Scielo ([www.scielo.br](http://www.scielo.br)), biblioteca virtual da USP ([www.bireme.br](http://www.bireme.br)) e PubMed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), onde foram descritos as propriedades farmacológicas e suas diferentes composições, seu uso como pomada tópica no processo cicatricial da ferida e as perspectivas futuras do uso do própolis. Após um levantamento desses artigos foram selecionados os mais importantes, os artigos encontrados foram buscados no campo índice de assuntos e digitados os temas cicatrização de ferida, manejo de ferida, feridas em pequenos animais, propriedades do própolis e uso do própolis. As citações encontradas no texto mostram os trabalhos do qual foram retirados.

Em relação ao uso do própolis na Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose de São Paulo, as informações coletadas foram realizadas por meio de fotos tiradas em dias alternados para o controle do processo de cicatrização das feridas traumáticas e não traumáticas. Uma régua com medida de 5 cm de altura e 8 cm de comprimento foi usada para mensurar o tamanho da ferida com o passar dos dias. A avaliação fotográfica feita no período de abril de 2012 a abril de 2013 permitiu registrar a ação do própolis no fechamento das feridas. Para a realização das fotos as feridas foram limpas com gaze e solução fisiológica (NaCl 0,9%), após, aplicada uma quantidade de própolis suficiente para cobrir a ferida. Para a preparação do própolis usa-se vaselina sólida farmacêutica e extrato de própolis líquido na alcoolatura de 50%, em uma proporção de 1 de vaselina para 3 de própolis até a saturação; dessa mistura forma-se então a pomada de própolis saturada.

As fotos foram trabalhadas no programa photoshop para ser colocado o nome do fotógrafo impedindo possíveis cópias. Foram selecionadas para o trabalho, fotos de três animais com as principais feridas que dão entrada ao Centro de Controle de Zoonoses, entre elas, avulsão e amputação de membro, miíase e escaras de

decúbito. Essas fotos serão usadas apenas como uma ilustração da principal pomada tópica usada no Centro de Controle de Zoonoses.

## 5 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS

O processo cicatricial da ferida envolve várias fases e demora normalmente vinte dias para que se forme a cicatriz. Por volta de décimo dia, o tecido de granulação está totalmente formado.

Os animais que chegam lesionados ao Centro de Controle de Zoonose recebem tratamento tópico com a pomada a base de própolis. Nos três animais avaliados e registrados no CCZ, notou-se que o tecido de granulação se formou entre o sexto e sétimo dia da lesão, ou seja, a ferida estava totalmente descontaminada. Por volta do décimo terceiro dia nas duas fêmeas apresentadas e do vigésimo sexto dia no macho, iniciou-se a contração da ferida e a aproximação de suas bordas. A cicatrização completa com formação de cicatriz ocorreu em torno do vigésimo dia nas fêmeas e quinquagésimo dia no macho.

Essa diferença de tempo no processo cicatricial não tem relação com a predisposição sexual ou por idade. Isso ocorre devido à gravidade da lesão e a quantidade de perda muscular. A quantidade de flavonóides presentes no própolis usado também interfere no processo cicatricial. Independente destes fatores, o trabalho pode demonstrar que as propriedades farmacológicas do própolis foram eficazes para a descontaminação da ferida e formação da cicatriz no tempo citado pela literatura.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, inúmeros trabalhos demonstram as atividades biológicas do própolis bem como suas aplicações terapêuticas.

Este trabalho procurou demonstrar a eficiência do própolis no manejo das feridas dos animais que chegam à Seção de Cães do Centro de Controle de Zoonose de São Paulo. Todo esse processo cicatricial confirma a ação antibacteriana e antiinflamatória do própolis. Suas ações farmacológicas irão depender da flora de cada região e da quantidade de flavonóides presentes, sendo necessários mais estudos para estabelecer uma concentração ideal de flavonóides a fim de atingir as características farmacológicas ideais.

O uso de produtos naturais para aplicações terapêuticas vem crescendo em todo o mundo. Entretanto, apesar de existir uma considerável quantidade de informações disponíveis sobre sua aplicação terapêutica, ainda pode ser considerada insuficiente. É necessário haver mais estudos sobre as ações farmacológicas do própolis para que este, em um futuro próximo, possa ser uma opção mais acessível de tratamento.

## REFERÊNCIAS

- BALBINO, C. A.; PEREIRA L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, p. 27-51, 2005.
- BEHLING, E. B.; SENDÃO, M. C.; FRANCESCATO, H. D. C.; ANTUNES, L. M. G.; BIANCHI, M. L. P. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alimentos e Nutrição**, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BLANCK, M. Enfermagem e Úlceras por Pressão: Da Reflexão sobre a Disciplina às Evidências nos Cuidados. *In*: Grupo ICE – Investigação Científica em Enfermagem. **Fisiopatologia das Feridas**. Rio de Janeiro: 2008. Disponível em: <<http://ice-mac.org/pdf/colectanea/14.pdf>>. Acesso em: 23 mai. 2013.
- BLANES, L. Tratamento de feridas. *In*: Baptista-Silva J. C. C. **Cirurgia vascular: guia ilustrado**. São Paulo: 2004. Disponível em: <<http://www.bapbaptista.com>>. Acesso em: 26 abr. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº3, Anexo VI, Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de própolis. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 19 Jan. 2001.
- CASTRO, M. L.; CURY, J. A.; ROSALEN, P. L. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**, v. 30, n. 7, p. 1512-1516, 2007.
- CASTRO, A. U.; NETO, N. M. A.; VIANA, J. A. Uso tópico do mel de abelha, oxitetraciclina e hidrocortisona, na reparação de feridas cutâneas, por segunda intenção, em coelhos. **Revista Ceres**, v. 56, n. 1, p. 38-44, 2009.
- DAVIES, M. J. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. **Circulation**, v. 82, p. II-38 - II-46, 1990.
- DOS SANTOS, C. R.; ARCENIO, F.; CARVALHO, E. S.; LÚCIO, E. M. R. A.; ARAÚJO, G. L.; TEIXEIRA, L. A.; SHARAPIN, N.; ROCHA, L. Otimização do processo de extração de própolis através da verificação da atividade antimicrobiana. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 71-74, 2003.
- DOS SANTOS, M. J.; VIANNA, L. A. C.; GAMBA, M. A. Avaliação da eficácia da pomada de própolis em portadores de feridas crônicas. **Acta Paul Enfermagem**, v. 20, n. 2, p. 199-204, 2007.
- DYSON, M. Advances in wound healing physiology: the comparative perspective. **Veterinary Dermatology**, v. 8, n. 4, p. 227-233, 1997.
- FIERRO, W. M. Evidencia científica del propóleos desde el punto de vista médico. **Anais do Congresso Internacional de propóleos**, Buenos Aires, Argentina, p. 21-31, 2000.

- FISCHER, G.; HÜBNER, S. O.; VARGAS, G. D.; VIDOR, T. Artigo de revisão: Imunomodulação pelo própolis. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 247-253, 2008.
- HEDLUND, C. S. Surgery of the Integumentary System. *In*: Fossum, T. H. **Small animal surgery**. Missouri: Mosby Elsevier, 3 ed., 2007. cap. 15, p. 161-259.
- HOSGOOD, G. Stages of wound healing and their clinical relevance. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practic**, v. 36, n. 4, p. 667-685, 2006.
- KALOGEROPOULOS, N.; KONTELES, S. J.; TROULLIDOU, E.; MOURTZINOS, I.; KARATHANOS, V. T. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. **Food Chemical**, v. 116, n. 2, p. 452-461, 2009.
- KOC, A. N.; SILICI, S.; AYANGIL, D.; FERRAHBAS, A.; CANKAYA, S. C. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a microdilution assay. **Blackwell Publishing Ltd. Mycoses**, v. 48, p. 205-210, 2005.
- LONGHINI, R.; RAKSA, S. M.; OLIVEIRA, A. C. P.; SVIDZINSKI, T. I. E.; FRANCO, S. L. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 388-395, 2007.
- LOZINA, L.; BOEHRINGER, S.; D'AQUINO, M.; ACOSTA, O. Eficacia del Propóleos sobre *Malassezia pachydermatis*. Correlación de distintas Técnicas *in Vitro*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 25, n. 4, p. 560-563, 2006.
- LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; NETO, P. J. R. Própolis: atualização sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008.
- MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização: conceitos atuais e recurso auxiliares – parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 78, n. 4, p. 393-410, 2003.
- MARCUCCI, M. C. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, n. 26, p. 83-99, 1995.
- MARCUCCI, M. C.; FERRES F.; GARCIA-VIQUERA, C.; BANKOVA, V. S.; DE CASTRO, S. L.; DANTAS, A. P.; VALENTE, P. H.; PAULINO, N. Phenolic compounds from Brazilian própolis with pharmacological activities. **Journal Ethnopharmacol**, v. 74, n. 2, p. 105-112, 2001.
- MENDONÇA, R. J.; NETTO, J. C. Aspectos Celulares da Cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257-262, 2009.
- MENEZES, H. Própolis: uma revisão dos recentes estudos de suas propriedades farmacológicas. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 405-411, 2005.

ORSI, R. O.; FUNARI, S. R. C.; SOARES, A. M. V. C.; CALVI, S. A.; OLIVEIRA, S. L.; SFORCIN, J. M.; BANKOVA, V. Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v. 6, n. 2, 2000.

PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ABREU, J. A. S.; ALCIC, N. M. F. Estudo da preparação do extrato de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n. 3, 1998.

PAVLETIC, M. M. **Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery**. Iowa: Wiley-Blackwell, 3 ed., 2010.

PEREIRA, A. S.; SEIXAS, F. R. M. S.; NETO, F. R. A. Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 321-326, 2002.

PEREIRA, A. L.; BACHION, M. M. Tratamento de feridas: análise da produção científica publicada na Revista Brasileira de Enfermagem de 1970-2003. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 58, n. 2, p. 208-213, 2005.

PINTO, L. M. A.; PRADO, N. R. T.; CARVALHO, L. B. Propriedades, uso e aplicações do própolis. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 8, n. 3, p. 76-100, 2011.

RAMOS, A. F. N.; MIRANDA, J. L. Propolis: a review of its anti-inflammatory and healing actions. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 13, n. 4, p. 697-710, 2007.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. 21-29, 2002.

SALATINO, A.; TEIXEIRA, E. W.; NEGRI, G.; MESSAGE, D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. **Advance Access Publication**, v. 2, n. 1, p. 33-38, 2005.

SILVA, R. A.; RODRIGUES, A. E.; RIBEIRO, M. C. M.; CUSTÓDIO, A. R.; ANDRADE, N. D. E.; PEREIRA, W. E. Características físico – químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.

SLATTER, D. **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. São Paulo: Manole, 2 ed., v. 1, 1998.

SOUSA, D. L. S.; SILVA, V. C. L.; SOUZA, M.; COELHO, M. C. O. C.; RIOS, T. M. M.; RODRIGUES, U. V. Atividade cicatrizante da colagenase e cloranfenicol em ferida cutânea em cão: relato de caso. 2009. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1146-1.pdf>>. Acesso em: 25 jun. 2013.

STEVEN, F. S.; RALPH, A. H. **Small Animal Wound Management**. Baltimore: Williams & Wilkins, 2 ed, 1997.

SUTTA, J.; HANKO, J.; JANDA, J.; TKAC, J. Experimental and clinical experiences in the treatment of wounds in domestic animals by local application of an alcoholic solution of propolis. **Folia Veterinaria**, v. 18, p. 143-147, 1974.

VARGAS, A. C.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; COSTA, M. M.; SILVA, M. S.; VIANA, L. R. Atividade antimicrobiana "in vitro" de extrato alcoólico de própolis. **Ciência Rural**, v. 34, n. 1, p. 159-163, 2004.

VIEIRA, A. P.; DOS SANTOS, N. R.; BORGES, J. H. S.; VINCENZI, M. P. A.; SCHMITZ, W. O. Ação dos flavonóides na cicatrização por segunda intenção em feridas limpas induzidas cirurgicamente em ratos Wistar. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 29, n. 1, p. 65-74, 2008.

VIVIER, E.; NUNES, J. A.; VÉLY, F. Natural killer cell signaling pathways. **Science**, v. 306, p.1517-1519, 2004.

WENDT, S. B. T. Comparação da eficácia da calêndula e do óleo de girassol na cicatrização por segunda intenção de feridas em pequenos animais. **Universidade Federal do Paraná**, Curitiba, 2005.