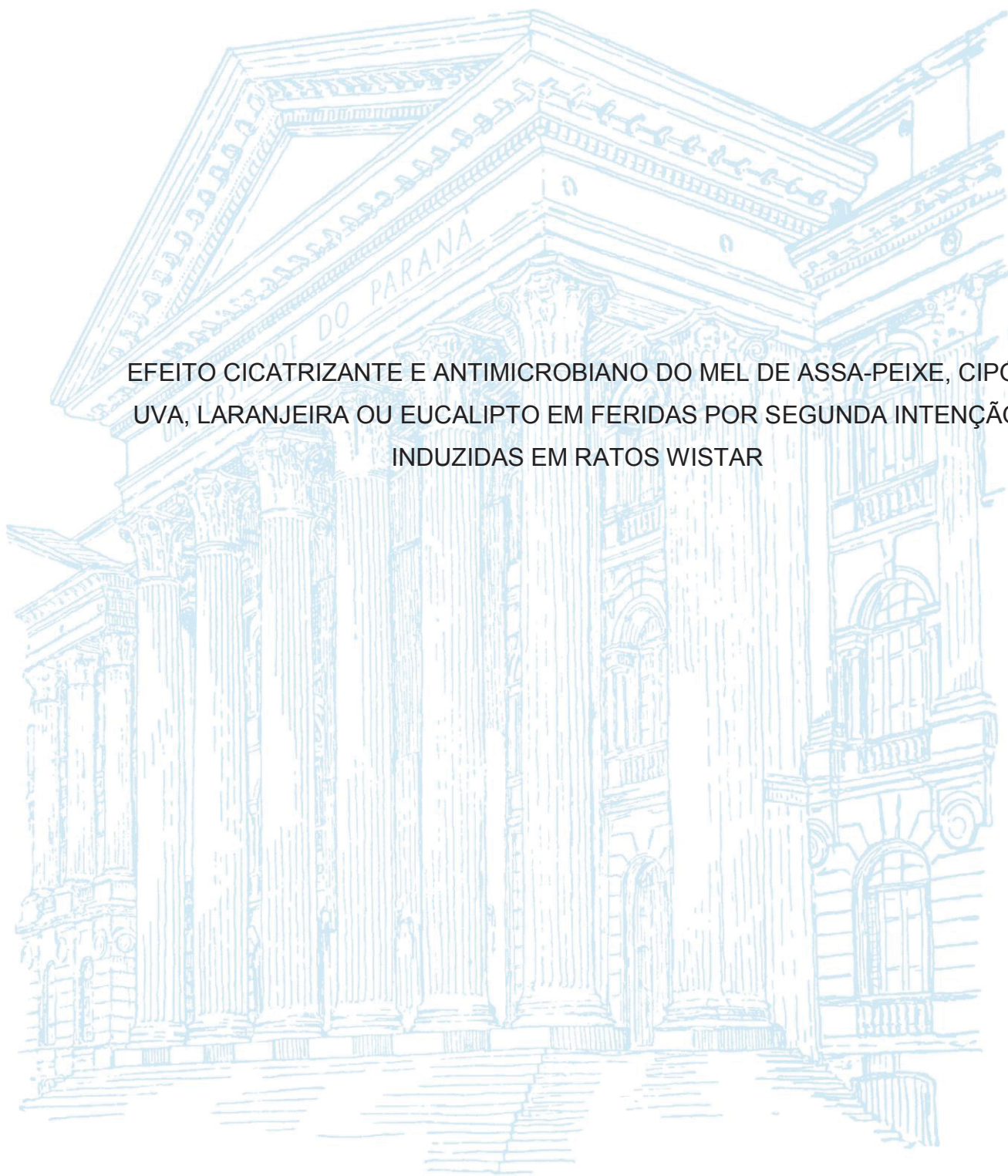


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THAIS CRISTINA LEMOS PAGLIUCA CONTE

EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-
UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO EM FERIDAS POR SEGUNDA INTENÇÃO
INDUZIDAS EM RATOS WISTAR



PALOTINA

2019

THAIS CRISTINA LEMOS PAGLIUCA CONTE

EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-
UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a Erica Cristina Bueno do Prado Guirro

PALOTINA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C761 Conte, Thais Cristina Lemos Pagliuca
Efeito cicatrizante e antimicrobiano do mel de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira ou eucalipto em feridas por segunda intenção induzidas em ratos Wistar / Thais Cristina Lemos Pagliuca
Conte. – Palotina, 2019.
75f.

Orientador: Erica Cristina Bueno do Prado Guirro
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Antibiograma. 2. Cicatrização. 3. Mel. 4. Monofloral.
I. Guirro, Erica Cristina Bueno do Prado. II. Universidade
Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636.9



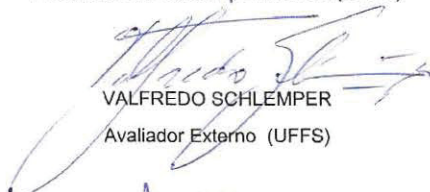
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -
40001016077P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **THAIS CRISTINA LEMOS PAGLIUCA CONTE** intitulada: **EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO EM FERIDAS DE SEGUNDA INTENÇÃO INDUZIDAS EM RATOS WISTAR**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa. A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 20 de Fevereiro de 2019.


ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


VALFREDO SCHLEMPER
Avaliador Externo (UFFS)


ALINÉ DE MARCO VIOTT
Avaliador Interno (UFPR)

Dedico este trabalho a Deus.

AGRADECIMENTOS

Agradeço e louvo a Deus pela força nos momentos de fraqueza, pelos recomeços, pela vida. Simplesmente não há palavras para expressar tudo o que sinto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFPR – Setor Palotina, instituição que carinhosamente tenho orgulho de fazer parte.

A minha querida orientadora Prof^a Dr^a Erica C. B. P. Guirro pela oportunidade, amizade, apoio, empatia e muitas outras virtudes que não caberiam na descrição. Muito obrigada por me proporcionar um Mestrado agradável e por todo conhecimento transmitido! Serei eternamente grata.

Aos meus professores da graduação e mestrado pelas amizades, ensinamentos e exemplos. Também agradeço aos funcionários da UFPR – Setor Palotina pelos auxílios prestados e pelas amizades.

Ao meu amado marido Felipe, amigo e companheiro nas horas boas e ruins. Sem seu apoio, conselhos e incentivo eu jamais teria chegado até aqui. Sua trajetória como médico veterinário e Mestre são um grande exemplo pra mim.

A minha mãe, Ligia Regina, por toda ajuda, apoio e puxões de orelha. Você segura o meu diploma de Médica Veterinária junto comigo. Nós sabemos o quão difícil foi chegar até aqui, mas chegamos! Mesmo com muitas diferenças, somos sempre parceiras! Eu não seria nada sem você ao meu lado.

Aos meus cachorrinhos Bob, Fofa e Pipoca por tornarem os meus dias mais alegres.

Aos meus familiares, que mesmo de longe, me apoiam nesta caminhada. Também agradeço aos meus amigos queridos, que estão sempre presentes; mesmo aqueles que estão longe fisicamente.

Ao Biotério da UFPR – Setor Palotina; Laboratório de Inspeção e Controle de Qualidade de Alimentos e Água – LACOMA, da UFPR - Setor Palotina e ao Laboratório de Patologia Veterinária da UFPR – Setor Palotina e suas equipes pelo apoio neste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio financeiro.

“Come mel, meu filho, porque é bom; o favo de mel é doce ao teu paladar.”
Provérbios 24:13

RESUMO

Após a ocorrência de lesões na pele, o organismo inicia o processo de cicatrização a fim de restabelecer as funções desse tecido. Os medicamentos tópicos são utilizados para otimizar a cicatrização, porém, é crescente a pesquisa por produtos naturais para esta finalidade. O mel é citado como um produto com efeito cicatrizante e antimicrobiano, mas sabe-se que tais efeitos dependem da fonte floral utilizada pelas abelhas. No Brasil, dentre os méis monoflorais mais disponíveis, estão o de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira ou eucalipto. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial cicatrizante e antimicrobiano destes méis. Primeiramente, avaliou-se o potencial cicatrizante em 84 ratos Wistar submetidos à realização de uma ferida cirúrgica com *punch* metálico de 8 mm de diâmetro no dorso do pescoço. Cada grupo de 14 animais recebeu tratamento tópico, sendo: GC-NaCl 0,9%; GP- pomada comercial à base de fibrinolisinase, desoxirribonuclease e cloranfenicol em petrolato base; Gap- mel assa-peixe; GCu- mel cipó-uva; GEu- mel de eucalipto; GLa- mel de laranjeira. Nos 2º, 4º, 7º, 10º, 14º, 21º e 30º dias após a confecção das feridas, dois animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia e avaliação macroscópica das feridas. Além disso, retirou-se um fragmento de pele, subcutâneo e musculatura para avaliação histopatológica e da área da ferida. Verificou-se que os méis inibem a formação de edema e infecção e tornam transitória a presença de crostas. Os méis de laranjeira e de eucalipto reduzem a área da ferida. Os méis de assa-peixe, eucalipto ou laranjeira reduzem a inflamação e a necrose e, otimizam a formação do tecido de granulação, a fibroplasia e a repitelização. No segundo experimento, verificou-se o potencial antimicrobiano *in vitro* desses méis em diferentes diluições através de antibiogramas frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Observou-se que esses méis monoflorais não diluídos impedem o crescimento dos principais agentes bacterianos presentes na pele, com destaque ao mel de laranjeira no controle contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*. Conclui-se que os méis de assa-peixe, laranjeira ou eucalipto possuem potencial cicatrizante e antimicrobiano.

Palavras-chave: antibiograma, cicatrização, mel, monofloral

ABSTRACT

After the occurrence of skin lesions, the body begins the healing process in order to restore the functions of this tissue. Topical medications are used to optimize healing, however, there is increasing research for natural products for this purpose. Honey is cited as a product with healing and antimicrobial effects, but it is known that such effects depend on the floral source used by the bees. In Brazil, among the most available monofloral honeys, are assa-peixe, cipó-uva, orange or eucalyptus. The objective of this study was to evaluate the healing and antimicrobial potential of these honeys. Firstly, the healing potential was evaluated in 84 Wistar rats submitted to a surgical wound with metallic *punch* 8 mm in diameter on the back of the neck. Each group of 14 animals received topical treatment, being: GC- NaCl 0.9%; GP- commercial ointment based on fibrinolysin, deoxyribonuclease and chloramphenicol on base petrolatum; Gap- assa-peixe honey; Gcu- cipó-uva honey; Geu- eucalyptus honey; Gla- orange honey. At the 2nd, 4th, 7th, 10th, 14th, 21st and 30th days after wound dressing, two animals from each group were submitted to euthanasia and macroscopic wound evaluation. In addition, a fragment of skin, subcutaneous and musculature were removed for histopathological evaluation and the area of the wound. It has been found that honeys inhibit the formation of edema and infection and render the presence of crusts transient. Orange and eucalyptus honeys reduce the area of the wound. The assa-peixe, eucalyptus or orange honeys reduce inflammation and necrosis and optimize granulation tissue growth, fibroplasia and re-epithelization. In the second experiment, the *in vitro* antimicrobial potential of these honeys was verified in different dilutions through antibiograms against strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. It was observed that these undiluted monofloral honeys prevent growth of the main bacterial agents present in the skin, with emphasis on orange honey in the control of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. It was concluded that the assa-peixe, orange or eucalyptus honeys have healing and antimicrobial potential.

Keywords: antibiogram, healing, honey.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Ferida cirúrgica experimental confeccionada com punch metálico em ratos Wistar para avaliação da cicatrização com méis de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira..... 48
- FIGURA 2 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-peixe (GAp), cipó-uva (GCu), eucalipto (GEu) ou laranjeira (GLa) sete dias (D7) após a confecção da ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), nota-se descontinuidade da epiderme com presença de restos celulares e hemorragia sobre a superfície da lesão (asterisco). Abaixo da crosta observa-se intensa inflamação aguda (Seta fina) seguida de tecido de granulação jovem e discreta fibroplasia (seta grossa), HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel mel cipó-uva (GCu), na superfície da lesão nota-se moderada deposição de material necrótico (asterisco) acompanhada de infiltrado neutrofilico (inflamação aguda) (seta fina) e tecido de granulação (seta grossa), HE, 20X. C) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), observa-se intensa necrose supercificial (asterisco) associada a inflamação aguda e moderada formação de tecido de granulação (seta grossa), HE, 20X. D) Pele de Rato Wistar tratada com mel laranjeira (GLa), há grande deposição de tecido necrótico na superfície do tecido ulcerado (asterisco), com fibroplasia (cadeça de seta) leve associada ao tecido de granulação acentuado (seta grossa), HE, 20X..... 57
- FIGURA 3 - Fotomicrografia de pele em rato Wistar submetido à confecção de ferida experimental tratados com o mel de cipó-uva (GCu) por 10 dias (D10). Nota-se leve crosta tecidual (asterisco) sobre a área de ulceração. Abaixo, na derme, há moderada produção de tecido de granulação maduro (seta) com fibroplasia leve (cabeça de seta), HE, 4X 58
- FIGURA 4 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-

peixe (GAp), cipó-uva (GCu), eucalipto (GEu) ou laranjeira (GLa) quatro dias (D4) após a confecção da Ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), observa-se uma intensa formação de crosta superficial (asterisco) com necrose e inflamação aguda do tecido adjacente (seta). Nota-se leve proliferação de tecido de granulação jovem (cabeça de seta), HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel cipó-uva (GCu), recobrindo a epiderme lesionada há uma grande crosta (asterisco) com necrose da derme superficial e media adjacente. Associado ao local de lesão observa-se infiltrado inflamatório agudo e hemorragia tecidual (seta), HE, 4X. C) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), nota-se necrose acentuada (asterisco) recobrindo a área da ferida com a derme superficial repleta de infiltrado inflamatório agudo (seta) e produção discreta de tecido de granulação (cabeça da seta), HE, 4X. D) Pele de Rato Wistar tratada com mel laranjeira (GLa), a necrose superficial é moderada (asterisco) assim como a infiltração de células inflamatórias (seta). Nota-se discreta formação de tecido de granulação jovem (cabeça de seta), HE, 4X..... 62

FIGURA 5 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-peixe (GAp) e eucalipto (GEu) 10 dias (D10) após a confecção da ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), Nota-se reepitelização completa da epiderme (seta) com acentuado tecido de granulação da derme (asterisco), HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), observa-se a reepitelização completa da epiderme (seta) e a fibroplasia acentuada na derme (cabeça de seta), HE, 4X..... 64

FIGURA 6 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis de cipó-uva (GCu) e laranjeira (GLa) 14 dias (D14) após a confecção da ferida..... 64

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Avaliação macroscópica da formação de crosta durante o processo de cicatrização por segunda intenção em feridas de ratos Wistar tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada comercial à base de fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel assa-peixe (GAp), mel cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa)..... 53
- TABELA 2 - Avaliação macroscópica em milímetros da área da lesão durante o processo de cicatrização por segunda intenção em feridas de ratos Wistar tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada comercial à base de fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel assa-peixe (GAp), mel cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa) 54
- TABELA 3 - Avaliação histopatológica do escore de inflamação aguda e necrose de feridas de ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental e tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada à base de fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel de assa-peixe (GAp), mel de cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa); dois (D2), quatro (D4), sete (D7), 10 (D10), 14 (D14), 21 (D21) e D30 dias após a confecção da ferida cirúrgica..... 56
- TABELA 4 - Avaliação histopatológica de escore de tecido de granulação, fibroplasia e reepitelização de feridas de ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental e tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada à base de fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel de assa-peixe (GAp), mel de cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa); dois (D2), quatro (D4), sete (D7), 10 (D10), 14 (D14), 21 (D21) E D30 dias após a confecção da ferida cirúrgica..... 60
- TABELA 5 - Diâmetro do halo, em milímetros, observado nos testes de difusão em ágar de méis monoflorais de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira em diferentes concentrações em ágar

Muller-Hinton semeado com cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	67
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ATCC	- <i>American Type Culture Collection</i>
BHI	- <i>Brain Heart Infusion</i>
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais do Campus Palotina
CLSI	- <i>Manual Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
COPE	- Comitê de Pesquisa do Campus Palotina
D0	- Dia zero, dia da confecção da ferida cirúrgica
D2	- Dia dois, ou seja, dois dias após a confecção da ferida cirúrgica
D4	- Dia quatro, ou seja, quatro dias após a confecção da ferida cirúrgica
D7	- Dia sete, ou seja, sete dias após a confecção da ferida cirúrgica
D10	- Dia dez, ou seja, 10 dias após a confecção da ferida cirúrgica
D14	- Dia 14, ou seja, 14 dias após a confecção da ferida cirúrgica
D21	- Dia 21, ou seja, 21 dias após a confecção da ferida cirúrgica
D30	- Dia 30, ou seja, 30 dias após a confecção da ferida cirúrgica
EGF	- Fator de crescimento epidérmico
FGF	- Fator de crescimento de fibroblastos
GAp	- Grupo mel de assa-peixe
GC	- Grupo controle negativo
GCu	- Grupo mel de cipó-uva
GEu	- Grupo mel de eucalipto
GLa	- Grupo mel de laranjeira
GP	- Grupo pomada comercial à base de fibrinolizina, desoxirribonuclease e cloranfenicol em petrolato base
IL	- Interleucina
IP	- Intraperitoneal
LACOMA	- Laboratório de Inspeção e Controle de Qualidade de Alimentos e Água
MEC	- Material extracelular
PDGF	- Fator de crescimento derivado de plaquetas
PVPI	- Polivinilpirrolidona
ROS	- Espécie reativa de oxigênio
SC	- Subcutâneo
SISP/SP	- Serviço de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Estado de São

Paulo

- TNF - Fator de necrose tumoral
- UFPR - Universidade Federal do Paraná
- UV - Radiação ultravioleta
- VEGF - Fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE SÍMBOLOS

α	- Alfa
β	- Beta
©	- <i>Copyright</i>
®	- Marca registrada
™	- <i>Trademark symbols</i>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	16
1 INTRODUÇÃO	18
1.1 JUSTIFICATIVA	18
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 Objetivo geral	18
1.2.2 Objetivos específicos.....	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 PELE	20
2.1.1 EPIDERME	21
2.1.2 DERME	22
2.1.3 HIPODERME.....	22
2.2 CICATRIZAÇÃO.....	22
2.2.1 COAGULAÇÃO E INFLAMAÇÃO.....	23
2.2.2 PROLIFERAÇÃO: RESOLUÇÃO E REPARO.....	25
2.2.3 REMODELAÇÃO E MATURAÇÃO	26
2.3 TIPOS DE CICATRIZAÇÃO	27
2.4 MEL.....	27
2.5 MEL EM FERIDAS	29
2.6 MÉIS MONOFLORAIS BRASILEIROS	32
2.6.1 ASSA-PEIXE	32
2.6.2 CIPÓ-UVA	33
2.6.3 EUCALIPTO	33
2.6.4 LARANJEIRA	34
3 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO 2	42
5 INTRODUÇÃO	44
5.1 JUSTIFICATIVA	46
5.2 OBJETIVOS	46
5.2.1 Objetivo geral	46
5.2.2 Objetivos específicos.....	46
6 MATERIAL E MÉTODOS	47

6.1 EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO EM FERIDAS POR SEGUNDA INTENÇÃO INDUZIDAS EM RATOS WISTAR	47
6.1.1 Animais.....	47
6.1.2 Ferida Cirúrgica e Tratamentos	48
6.1.3 Avaliação Macroscópica	49
6.1.4 Avaliação Microscópica	49
6.2 EFEITO ANTIMICROBIANO DE DIFERENTES TIPOS DE MÉIS NO TRATAMENTO DE FERIDA POR SEGUNDA INTENÇÃO EM RATOS WISTAR / AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	50
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
7.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA.....	52
7.2 ÁREA DA FERIDA.....	54
7.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	56
7.3.1 Inflamação aguda e necrose	56
7.3.2 Tecido de granulação, fibroplasia e reepitelização	59
7.4 AVALIAÇÃO ANITIMICROBIANA	65
8 CONCLUSÃO	68
REFERÊNCIAS.....	69

CAPÍTULO 1

EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO - REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

Após a ocorrência de lesões na pele, o organismo inicia o processo de cicatrização afim de restabelecer as funções do tecido lesado. Diferentes medicamentos tópicos ou sistêmicos podem ser utilizados para otimizar o reparo tecidual, sendo que há uma crescente pesquisa por produtos naturais que apresentem efeitos benéficos neste processo. O mel é utilizado no tratamento de feridas e seu potencial terapêutico por conta de seu efeito cicatrizante e antimicrobiano, sendo que estes potenciais variam principalmente por conta da fonte floral utilizada. Dentre os principais méis monoflorais disponíveis no Brasil estão o de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira ou eucalipto. Assim, o objetivou-se elucidar aspectos atuais sobre a pele, processo de cicatrização e uso do mel no tratamento de feridas. Os efeitos terapêuticos de cada planta são adicionados aos efeitos do mel à cicatrização. O assa-peixe é conhecido pela ação diurética e expectorante. O cipó-uva atua na inflamação, analgesia e infecção e é bastante utilizado em afecções gástricas. O eucalipto é conhecido por suas propriedades cicatrizantes e antissépticas. Já a laranjeira possui altas concentrações de vitamina C, um potente antioxidante fundamental para a síntese de colágeno. Conclui-se que o mel possui ação quando utilizado topicamente no tratamento de feridas e que as particularidades da fonte floral influenciam na propriedade terapêutica do mel. Na literatura, o assa-peixe, eucalipto e a laranjeira apresentam maior destaque para este tipo de tratamento.

Palavras-chave: cicatrização, mel, monofloral, tratamento tópico.

ABSTRACT

After the occurrence of skin lesions, the body initiates the healing process in order to reestablish the functions of the damaged tissue. Different topical or systemic drugs can be used to optimize tissue repair, there is a growing search for natural products that have beneficial effects in this process. Honey is used in the treatment of wounds and its therapeutic potential due to healing and antimicrobial effect, these potentials vary mainly because of the floral source used. Among the main monoflorais honeys available in Brazil are assa-peixe, cipó-uva, orange or eucalyptus. Thus, the objective was to elucidate current aspects about the skin, the healing process and the use of honey in the treatment of wounds. The therapeutic effects of each plant are added to the effects of honey upon healing. The assa-peixe is known for diuretic and expectorant action. The cipó-uva acts on inflammation, analgesia and infection and is widely used in gastric conditions. Eucalyptus is known for its healing and antiseptic properties. The orange tree has high concentrations of vitamin C, a potent antioxidant essential for the synthesis of collagen. It is concluded that honey has an action when used topically in the treatment of wounds and that the particularities of the floral source influence yours therapeutic properties. In the literature, assa-peixe, eucalyptus and orange trees are more metioneal for this type of treatment.

Keywords: healing, honey, topical treatment.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, diversos autores publicaram informações relativas às propriedades do mel no manejo de feridas em animais e em seres humanos, além de outras aplicações médicas (HADAGALI e CHUA, 2014). Sabe-se que essas propriedades são diretamente influenciadas pela fonte floral utilizada pela abelha. No Brasil, os méis monoflorais mais disponíveis são o de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto (PEREIRA e CASTRO, 2010; AHMED et al., 2018).

Assim, o objetivo desta revisão é trazer aspectos atuais sobre a pele, processo de cicatrização e uso do mel de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira no tratamento de feridas.

1.1 JUSTIFICATIVA

A literatura científica mostra que o mel pode beneficiar o tratamento de feridas, mas há carência de informações relativas ao uso terapêutico dos méis de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto, que são méis monoflorais bastante utilizados no Brasil.

Como esses méis tem ampla distribuição no país, a possibilidade de utilizar um produto natural de baixo custo, praticamente isento de efeitos colaterais, capaz de otimizar a cicatrização e reduzir os riscos de resistência bacteriana justificam a importância deste estudo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Verificar o potencial terapêutico dos méis de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto no tratamento de feridas.

1.2.2 Objetivos específicos

- Revisão científica relativa à pele e ao processo cicatricial;
- Revisão bibliográfica sobre o uso do mel em feridas;

- Revisão bibliográfica sobre o potencial cicatrizante e antimicrobiano do mel méis de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto no tratamento de feridas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

No Brasil, a atividade apícola teve início em 1839, quando o padre Antônio Carneiro trouxe de Portugal algumas colônias de abelhas da espécie *Apis mellifera*. Posteriormente, essas espécies foram introduzidas principalmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil por imigrantes Europeus (SEBRAE, 2015).

Os principais exportadores de mel natural no mundo são: China, Argentina, México e Alemanha. O Brasil representa 1,8% da produção mundial de mel, estando na décima quinta posição (PAULA et al., 2015). Praticamente todos os estados do país produzem mel natural, sendo os mais representativos: Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Piauí, Minas Gerais, Ceará, São Paulo e Bahia (PAULA et al., 2015). A região Sul do país é a principal fonte de produção de mel, com 51,15%, seguida da região Nordeste com 26,54% (PAULA NETO e ALMEIDA NETO, 2005).

As abelhas produzem o mel a partir do néctar coletado das flores, sendo este produto constituído principalmente de água, frutose, glicose, sacarose, maltose e outros dissacarídios, sais minerais, vitaminas, enzimas, hormônios, proteínas, ácidos, aminoácidos e fermento. (BACAXIXI et al., 2010).

Tanto na medicina humana quanto na medicina veterinária, diversos autores publicaram informações relativas às propriedades do mel no manejo de feridas em animais e em seres humanos, além de outras aplicações médicas de mel (HADAGALI e CHUA, 2014). As evidências clínicas no tratamento de diferentes tipos de feridas são atribuídas aos efeitos antibacteriano, antiinflamatório e antioxidante deste produto (KOENIG e ROH, 2016). Sabe-se que essas propriedades são diretamente influenciadas pela fonte floral utilizada pela abelha (ALJADY, 2010 et al., 2010).

O processo de cicatrização inicia quando ocorre uma lesão de pele, e é dividido em três fases: inflamatória, proliferativa e remodeladora. A primeira é caracterizada pela hemostasia, a segunda envolve a migração de células (fibroblastos, endoteliais e queratinócitos) e a terceira é caracterizada pela mudança no padrão de organização do colágeno e de seu tipo principal (ISAAC, et al., 2010).

No Brasil, dentre os méis monoflorais mais disponíveis estão o de acácia, aloroba, angico, aroeira, assa-peixe, bracatinga, caju, cambará, cana-de-açúcar, capixingu, cipó-uva, eucalipto, laranjeira, maçã e romã; além do mel silvestre que é considerado como multifloral dentre outros (BARTH, 1989; BARTH et al., 2005; PEREIRA e CASTRO, 2010; BAZONI, 2012). Assim, o objetivo desta revisão é trazer aspectos atuais sobre a pele, processo de cicatrização e o uso de quatro méis monoflorais comumente encontrados no Brasil (mel de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira) no tratamento de feridas.

2.1 PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano e corresponde a aproximadamente 16% do peso corporal (MULLER e KIRK, 1996). Como outros órgãos complexos, a pele é composta de vários tipos celulares e estruturas interdependentes que são funcionalmente cooperativas (KUMAR et al., 2010).

Sua principal função é promover uma barreira física entre o hospedeiro e o ambiente, porém, a pele têm outras funções como: 1) proteção contra fatores mecânicos, químicos, físicos e biológicos 2) sensibilidade através de receptores para a percepção de pressão, dor, calor e frio; 3) resistência às forças de tensão devido a sua elasticidade; 4) produção de estruturas ceratinizadas como pêlos e unhas; 5) armazenamento de água, eletrólitos, vitaminas e gorduras e proteínas; 6) termorregulação 7) prevenção da desidratação e da perda de eletrólitos; 8) defesa imunológica (MULLER e KIRK, 1996; MINATELI, 2015; REESE, et al., 2016; KIERSZENBAUM e TRES, 2016).

As características da pele variam de acordo com as espécies, raças, indivíduos, área do corpo, idade e sexo (JONES et al., 2000). Classicamente é dividida em epiderme e derme, sendo a epiderme de epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, e pela derme, de tecido conjuntivo. Subjacente, unindo-a aos órgãos, há a hipoderme (ou fáscia subcutânea), de tecido conjuntivo frouxo e adiposo (DYCE et al., 2010; MONTANARI, 2016).

2.1.1 EPIDERME

A epiderme é a camada mais superficial da pele e é continuamente renovada, sendo que suas células superficiais se desprendem em camadas ou como pequenas partículas. Esta perda é compensada pela divisão celular na camada mais profunda seguida pela migração de novas células em direção à superfície (DYCE et al., 2010)

A epiderme é composta pelas camadas basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Sobre os tipos celulares, a epiderme constitui-se basicamente por epitélio estratificado pavimentoso, composto por múltiplas camadas de células e diferentes tipos celulares: queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel (MULLER e KIRK, 1996; JONES et al, 2000; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

Os queratinócitos são células epiteliais escamosas que constituem a maior parte da epiderme, sofrem contínua atividade mitótica e produzem a proteína protetora denominada queratina (KUMAR et al., 2010). São os principais sítios para a biossíntese de moléculas solúveis (citocinas) que regulam as células epidérmicas adjacentes, assim como as células da derme (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; KUMAR et al., 2010).

Os melanócitos são células produtoras de um pigmento denominado melanina que protege contra a radiação ultravioleta (UV) potencialmente lesiva presente na luz solar (KUMAR et al., 2010).

Já as células de Langerhans são células apresentadoras de antígenos que fagocitam e processam os antígenos estranhos na pele (MONATANARI, 2016). Os antígenos são apresentados aos linfócitos T pelas células de Langerhans (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Estas células dendríticas dérmicas interagem com o sistema imune sistêmico ao migrarem para os linfonodos regionais (KUMAR et al., 2010).

As células de Merkel residem na camada basal do tecido epitelial e formam junções sinápticas com terminações nervosas sensitivas, são envolvidas na sensação tátil e possivelmente apresentam uma função neuroendócrina na pele (KUMAR et al., 2010; MONTANARI, 2016; KIERSZENBAUM e TRES, 2016).

2.1.2 DERME

A derme é o maior componente da pele, composta basicamente por apêndices epidérmicos, músculo eretor do pelo, vasos sanguíneos e linfáticos, nervos e substância basal dérmica intersticial (MULLER e KIRK, 1996; JONES et al., 2000). É composta em grande parte por fibras colágenas e fibras elásticas, que tornam a pele resistente e flexível e (KUMAR et al., 2010).

Possui as camadas papilar e reticular, sendo a papilar mais superficial e composta de tecido conjuntivo frouxo e a reticular mais profunda, constituída por tecido conjuntivo denso (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Entre estas camadas, há o plexo vascular superficial (JONES, et al., 2000).

As fibras dérmicas são formadas por fibroblastos, e podem ser colágenas, elásticas ou reticulares. As fibras colágenas (colágeno) promovem força tênsil, reparação tecidual, aderência celular, migração celular, quimiotaxia, agregação plaquetária e são envolvidas na remodelação, manutenção e substituição da pele (MULLER e KIRK, 1996; DYCE et al, 2010). Fibras elásticas e matriz extracelular, consistindo de fibronectina, glicosaminoglicanos e glicoproteínas filamentosas são encontradas nos interstícios das fibras de colágeno (JONES, et al, 2000). Dentre os tipos celulares presentes, estão fibroblastos, macrófagos, linfócitos, miócitos, mastócitos e linfócitos (JONES et al., 2000).

2.1.3 HIPODERME

A hipoderme é a camada mais profunda da pele, composta por tecido conjuntivo frouxo entremeado de gordura e pelo plexo vascular profundo (JONES et al., 2000; DYCE et al., 2010). Suas principais funções são de reserva energética, termogênese, isolamento e manutenção dos contornos superficiais (MULLER e KIRK, 1996; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

2.2 CICATRIZAÇÃO

Se a pele sofrer algum dano, o processo de cicatrização assegura que será reparada muito rapidamente (TIZARD, 2009). As feridas afetam a fisiologia da pele, em especial aquelas que acometem a camada dérmica. A cicatrização é um

processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que atuam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM et al., 2003).

Didaticamente, o processo de cicatrização é dividido em inflamação (fase exsudativa), proliferação (reconstrução), remodelação e maturação (epitelização), todavia em determinados períodos tais fases ocorrem simultaneamente e podem se sobrepor (MARTINS et al., 2006; TAZIMA et al., 2008; ISAAC et al., 2010; KUMAR, et al., 2010; KIERSZENBAUM e TRES, 2016). Também pode ser classificada de uma forma mais completa dividindo o processo em cinco fases principais: coagulação, inflamação, proliferação, contração da ferida e remodelação (MANDELBAUM, et al., 2003).

Imediatamente após a lesão, ocorre a agregação plaquetária, a formação do coágulo na superfície da ferida, levando à inflamação. Na fase de proliferação, ocorre a formação de granulação, a proliferação e migração de células do tecido conjuntivo e reepitelização. Finalmente, na fase de maturação, há o remodelamento e a contração da ferida (KUMAR et al., 2010).

2.2.1 COAGULAÇÃO E INFLAMAÇÃO

Logo após o ferimento, o sangue preenche a área lesada, seguido da coagulação, desidratação e formação de crosta, com a função de proteger a lesão (BRASILEIRO FILHO, 2004). A cicatrização começa quando as plaquetas são ativadas e causam aglutinação para a formação de um coágulo sanguíneo, que recobre temporariamente a lesão aberta (HADAGALI e CHUA, 2014; KIERSZENBAUM e TRES, 2016). A ativação da cascata de coagulação pelas vias, intrínseca e extrínseca, convergem para ativação do fator X, que produz trombina, convertendo fibrinogênio em fibrina (MANDELBAUM et al., 2003). O resultado é o coágulo na superfície da ferida composto de hemácias, fibrina, fibronectina, e componentes do complemento (MANDELBAUM et al., 2003; KUMAR et al., 2010). A finalidade do coágulo é proporcionar hemostasia, quimiotaxia de neutrófilos para a ferida e uma matriz de sustentação para os leucócitos atraídos por fatores de crescimento, citocinas e quimionas (MANDELBAUM et al., 2003; KUMAR et al., 2010).

A inflamação é uma condição decorrente da resposta tecidual para traumas ou agentes patogênicos. É uma maneira defensiva de resposta por um organismo ou tecido para remover a lesão estímulos, como patógenos, células danificadas ou irritantes (HADAGALI e CHUA, 2014). Quando a inflamação não adequadamente controlada, ela se torna a causa de injúria e doença (KUMAR et al., 2010).

Os sinais cardinais da inflamação são calor, rubor, dor, turgor e dependem do efeito local induzido por mediadores no fluxo sanguíneo, permeabilidade vascular, infiltração de leucócitos e liberação de agentes indutores da dor (ARAÚJO, 2010). Esta fase inicia imediatamente após a lesão, podendo permanecer entre 48 a 72 horas após o dano tecidual e depende de dois componentes: a reação vascular e a reação celular (MANDELBAUM et al., 2003; ARAÚJO, 2010).

O aumento da pressão hidrostática e maior permeabilidade vascular derivam o edema, permitindo que moléculas proteicas maiores escapem para o interstício levando anticorpos e componentes enzimáticos para então diminuir a inflamação (JONES, 2000).

As células circulantes são: neutrófilos, monócitos, eosinófilos, linfócitos, basófilos e plaquetas (ARAÚJO, 2010). Os leucócitos liberam citocinas, enzimas e reagentes oxidantes importantes (JONES et al., 2000). As citocinas fazem mediação da inflamação e respostas imunes (KUMAR et al., 2010). Também ocorrem as expressões dos fatores de crescimento: 1) epidérmico (EGF) que é mitogênico para células epiteliais e fibroblastos; 2) derivado de plaquetas (PDGF) promove migração de fibroblastos, células musculares lisas e monócitos; 3) endotelial (VEGF) que estimula a angiogênese; 4) de fibroblastos (FGF) que também estimula a angiogênese e posteriormente a reepitelização (KUMAR et al., 2010); além das prostaglandinas e tromboxanas (KUMAR et al., 2010; MINATELI, 2015).

Além das células inflamatórias e dos mediadores químicos, a fase inflamatória conta com a fibronectina, que é sintetizada por uma variedade de células como fibroblastos, queratinócitos e células endoteliais. Ela adere, simultaneamente à fibrina, ao colágeno e a outros tipos de células, consolidando o coágulo de fibrina, as células e os componentes de matriz (MANDELBAUM et al., 2003).

Ocorre a desidratação na superfície externa do coágulo, formando uma crosta que recobre a ferida (KUMAR et al., 2010). Quando a crosta permanece além

do período necessário, atrasa o processo cicatricial e a epitelização (MANDELBAUM et al., 2003).

Dentro de 24 horas, neutrófilos aparecem nas bordas da lesão e migram para o coágulo usando o arcabouço produzido pela fibrina. Os neutrófilos então liberam enzimas proteolíticas que removem os restos necróticos e bactérias (KUMAR et al, 2010). Nas 24 a 48 horas seguintes, os macrófagos removem detritos e tecidos mortos da área, fagocitam bactérias e direcionam o desenvolvimento do tecido de granulação, sendo que esta etapa é necessária para que a próxima fase (proliferação) ocorra para continuar o processo de cicatrização (MANDELBAUM et al., 2003; KOENIG e ROH, 2016).

A inflamação termina quando o agente agressor é eliminado e os mediadores param de ser secretados (ARAÚJO, 2010).

2.2.2 PROLIFERAÇÃO: RESOLUÇÃO E REPARO

Há uma sobreposição de fases à medida que o local da lesão cicatriza, sendo difícil o delineamento claro entre uma fase e outra (KOENIG E ROH, 2014). Na etapa de proliferação ocorrem os seguintes eventos: angiogênese ou neovascularização, epitelização ou fibroplasia, contração da ferida e formação de tecido de granulação, fibroplasia e deposição de colágeno ou reepitelização (MANDELBAUM et al., 2003).

A angiogênese ocorre em ritmo acelerado durante essa fase, o que é importante para a formação de tecido cicatricial (KOENIG e ROH, 2016). A neovascularização é fundamental no processo de cicatrização, na qual novos vasos sanguíneos são formados para suprir a demanda de oxigênio (MINATELI, 2015). A baixa quantidade de oxigênio na ferida é prejudicial para a síntese de colágeno pelos fibroblastos (ARAÚJO, 2010).

Em 24 a 48 horas após a lesão, células epiteliais movem-se da borda da ferida ao longo da derme abaixo da superfície da crosta produzindo uma fina camada epitelial que fecha a ferida (KUMAR et al., 2010).

Por volta de 48 a 96 horas após a injúria, os neutrófilos são substituídos por macrófagos, células importantes para remoção de resíduos extracelulares, fibrina, promoção da angiogênese e deposição de material extracelular (MEC) (KUMAR et al., 2010). Com a ativação de macrófagos na ferida, inicia-se a fibroplasia, na qual a

matriz extracelular começa a ser substituída por tecido conjuntivo mais forte e mais elástico, sendo que seu principal componente é o colágeno (JONES, 2000). Células de fibroblastos são amplamente responsáveis pela produção de colágeno, elastina e fibronectina (MANDELBAUM et al., 2003).

A migração dos fibroblastos é orientada por fatores de crescimento e citocinas, sendo que os macrófagos são as principais fontes desses compostos. Já os fibroblastos aumentam a migração e proliferação de ceratinócitos (KUMAR et al., 2010). Alguns fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, fundamentais para a contração da ferida. Este tipo celular se alinha aos bordos da ferida (GRIERSON et al., 1988). Os miofibroblastos expressam actina de músculo liso e vimentina, que se contraem na ferida (KUMAR et al., 2010).

A formação de colágeno acontece nos bordos da lesão, inicialmente formada por uma matriz provisória com fibrina, fibronectina e colágeno tipo III – posteriormente substituído por colágeno tipo I (IFTIKHAR et al., 2009). A vitamina C é fundamental para as hidroxilações que promovem a formação de tipos de colágenos (ARAÚJO, 2010).

Concomitante à deposição de colágeno, ocorre a regressão dos canais vasculares e o tecido de granulação é convertido em uma cicatriz avascular e pálida composta de fibroblastos e colágeno denso (KUMAR et al., 2010). O padrão desordenado passa então para o processo de remodelação com a substituição do colágeno tipo III para o tipo I (PESSOA et al., 2012).

2.2.3 REMODELAÇÃO E MATURAÇÃO

A fase de maturação é a mais longa, com início aproximadamente 14 dias após a lesão e pode durar até dois ou mais anos (PEERSCHKE et al., 2008; MINATELI, 2015). A característica mais importante da fase de remodelação é a deposição de colágeno de maneira organizada, com aumento da força tênsil da ferida. O colágeno inicial é reabsorvido e um colágeno mais espesso é produzido e organizado ao longo das linhas de tensão (CAMPOS et al., 2007).

Ocorre um equilíbrio entre a produção e degradação de colágeno, retrocesso do tecido de granulação, aumento da força tênsil, substituição por tecido conjuntivo denso e, finalmente, recomposição da epiderme (JONES, 2000; MINATELI, 2015).

O equilíbrio entre a síntese e a degradação dos componentes resulta no remodelamento da trama de tecido conjuntivo. Alguns fatores de crescimento modulam a ativação metaloproteinases, enzimas que degradam componentes como o colágeno. As colagenases clivam o colágeno em condições fisiológicas e são essenciais no debridamento de lesões e no remodelamento de tecido conjuntivo para reparar o defeito (KUMAR et al., 2010).

2.3 TIPOS DE CICATRIZAÇÃO

Frente a uma lesão de pele, é preciso verificar as possibilidades de reparação. A cicatrização pode ocorrer por primeira intenção é o tipo mais simples de reparo, definido quando a ferida é considerada limpa, com perda mínima de tecido, reduzido potencial de infecção e possibilidade de aproximação das bordas da lesão por suturas (BLANCK et al., 2008; KUMAR et al., 2010).

O fechamento por segunda intenção está relacionado a ferimentos com maiores danos à superfície, marcante perda tecidual e infectados inviabilizando a aproximação das bordas por suturas (BLANCK et al., 2008). Este processo requer maior resposta inflamatória, maior produção de tecido de granulação extensa deposição de colágeno e tempo mais prolongado para a contração e epitelização da ferida (BLANCK et al., 2008; KUMAR et al., 2010).

Já no fechamento por terceira intenção, a ferida é deixada aberta por um determinado período, funcionando como cicatrização por segunda intenção, e posteriormente ocorre sutura, como cicatrização por primeira intenção. Este procedimento é empregado geralmente nas feridas cirúrgicas inicialmente infectadas (BLANES, 2004).

2.4 MEL

O Brasil tem um grande potencial apícola devido à sua flora diversificada, por sua extensão territorial e pela variabilidade climática existente (PEREIRA e CASTRO, 2010). O Brasil representa 1,8% da produção mundial de mel, estando na décima quinta posição dentre os principais exportadores de mel natural no mundo (PAULA et al., 2015). Praticamente todos os estados do país produzem mel natural, sendo os mais representativos: Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina, Piauí,

Minas Gerais, Ceará, São Paulo e Bahia (PAULA et al., 2015). A região Sul do país é a principal fonte de produção de mel, com 51,15%, seguida da região Nordeste com 26,54% (PAULA NETO e ALMEIDA NETO, 2005).

Existe uma grande tendência para o aproveitamento de recursos naturais na medicina, pois apresentam vantagens econômicas, são eficientes e apresentam poucos efeitos colaterais (MOLAN, 2001; SANTOS et al., 2012), porém muitas vezes, são subutilizados para fins medicinais (AHMED et al., 2018). Na atualidade, o uso continuado de agentes antimicrobianos sistêmicos e tópicos forneceu a pressão seletiva que levou ao surgimento de cepas resistentes a antibióticos que, por sua vez, impulsionaram a busca contínua por novos agentes antibacterianos (COOPER et al., 2002).

O mel tem uma longa história de consumo humano como o adoçante mais antigo, desde 5500 a.C., sendo mencionado nos escritos de Egito, Índia e China (ISRAILI, 2014). Recentemente, tem chamado a atenção dos pesquisadores como terapia complementar e alternativa para algumas afecções. É um produto que tem vários efeitos medicinais como potencial cicatrizante, antibacteriano, antiinflamatório, antifúngico, antiviral, antidiabético imunomodulador, estrogênico, antimutagênico, anticancerígeno e suplementação alimentar natural, sendo estabelecido como um potencial agente antioxidante terapêutico para várias doenças (AHMED et al., 2018).

Por definição, o mel é um produto líquido, viscoso, supersaturado e açucarado produzido por abelhas a partir de néctar de flores e/ou exsudatos sacarínicos de plantas (MARQUES, et al., 2015). A principal espécie de abelha que produz mel para consumo humano é a *Apis mellifera*, porém, outras espécies de abelhas também produzem mel (ISRAILI, 2014). Elas transformam néctar em mel por regurgitação e evaporação e o armazenam como fonte primária de alimento em favos de mel de cera dentro da colmeia de abelhas (HADAGALI E CHUA, 2014).

O mel é composto por pelo menos 181 substâncias, dentre elas açúcares (glicose, frutose, sacarose), proteínas, aminoácidos, vitaminas, minerais, enzimas, ácidos fenólicos, flavonoides e água (MARQUES et al., 2015; AHMED et al., 2018).

As diferentes apresentações dos méis (cor, aroma e sabor) ocorrem conforme a espécie da abelha, a floração, os terrenos de obtenção e as técnicas de preparação. No que diz respeito ao néctar, pode provir de uma única flor (mel monofloral) ou de várias (mel plurifloral) (ANVISA, 1978; PEREIRA e REIS, 2015). As diferentes plantas possuem diferentes propriedades medicinais, portanto

diferentes fontes florais implicarão em variações nos efeitos terapêuticos de cada tipo de mel (PEREIRA e CASTRO, 2010; AHMED et al., 2018).

2.5 MEL EM FERIDAS

O uso medicinal do mel é derivado de civilizações antigas (COOPER et al., 2002) e, nos últimos tempos, houve um renascimento do uso do mel para o tratamento de feridas, queimaduras e úlceras da pele (MOLAN, 2001). Em termos de cicatrização de feridas, a eficácia clínica do mel está bem estabelecida devido ao seu efeito anti-inflamatório, propriedades antioxidantes, antibacterianas e estimulantes do crescimento dos tecidos que foram extensivamente estudados na última década (NORDIN et al., 2017).

Recentemente alguns autores publicaram resultados de experimentos utilizando modelos animais e ensaios clínicos controlados randomizados com evidências positivas quanto ao uso do mel em feridas (MOLAN, 2001; HADAGALI e CHUA, 2014; PEREIRA e REIS, 2015).

Como curativo em feridas, o mel fornece um ambiente de cura úmido, previne infecções, limpa rapidamente a infecção, elimina a colonização de biofilmes, desodoriza e reduz a inflamação, edema e exsudação, além de estimular a angiogênese, granulação tecidual e crescimento epitelial (MOLAN, 2001; MERCKOLL, et al., 2009; ISRAILI, 2014), favorecendo assim a taxa de cicatrização (MOLAN, 2001; MERCKOLL, et al., 2009) em feridas agudas, crônicas, queimaduras, necróticas, diabéticas e pós-operatórias (BANG et al., 2003).

Quando o mel é aplicado em uma ferida, sua alta viscosidade promove uma barreira física contra infecções secundárias, cuja eficácia é aumentada pela atividade antibacteriana do mel. Esta característica única é particularmente útil em feridas altamente exsudativas como queimaduras, onde é necessário evitar oclusão (HADAGALI e CHUA, 2014).

O mel combate a infecções bacterianas através de dois mecanismos diferentes: inibição do sistema bacteriano e de seus fatores de virulência e pela presença de componentes bactericidas (WANG et al., 2012). O mecanismo de ação antibacteriano ocorre quando enzimas convertem a sacarose em uma mistura simples e solúvel de monossacarídeos ligando-se em moléculas de água livre, o que

significa que não há água disponível para as bactérias, impedindo sua sobrevivência (HADAGALI e CHUA, 2014).

A concentração do peróxido de hidrogênio no mel é cerca de 1000 vezes menor do que na solução de peróxido de hidrogênio (3%) comumente usada como um antisséptico (MOLAN,1999). No mel esse composto é entregue de uma maneira lenta e constante em até 24 horas, o que é fundamental no auxílio à cicatrização, pois quando em concentrações altas, provoca lesões celulares e danos proteicos nos tecidos (MOLAN,1999).

O peróxido de hidrogênio composto também age na inflamação, estimulando o crescimento de fibroblastos e de células epiteliais para reparar o dano (AHMED et al., 2018). Os flavonoides e ácidos fenólicos também são responsáveis pelos efeitos anti-inflamatórios de mel (HADAGALI e CHUA, 2014). O mel facilita a estimulação de mediadores inflamatórios, enzimas, citocinas, linfócitos, monócitos, macrófagos e liberação de citocinas e interleucinas, fundamentais na resposta inflamatória e na angiogênese (AHMED et al., 2018).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) atuam como mensageiras secundárias de células envolvidas no processo de reparo e também possuem a capacidade de regular a angiogênese no local da ferida e de melhorar a perfusão do sangue na área de cicatrização, porém quando em excesso, trazem danos aos tecidos (DUNNILL et al., 2015). A inibição da produção de ROS pelo mel reduz a inflamação (HADAGALI e CHUA, 2014).

O mel também possui altos níveis de antioxidantes que protegem tecidos feridos de radicais livres de oxigênio que podem ser produzidos pelo peróxido de hidrogênio (MOLAN,1999). Constatou-se que os flavonoides e os constituintes do ácido fenólico são os responsáveis por este efeito antioxidante e outros efeitos medicinais do mel (AHMED e OTHMAN, 2013; EREJUWA et al., 2012). Antioxidantes são agentes que neutralizam a deterioração causada por oxidantes (radicais livres de oxigênio, peróxido de hidrogênio em excesso, superóxido e/ou peróxido lipídico); estimulam biomoléculas como carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (AHMED e OTHMAN, 2013); e apoiam a proliferação e migração de fibroblastos e na função mitocondrial (AHMED et al., 2018).

A presença de propriedades antioxidantes no mel pode ser atribuída tanto pelas substâncias enzimáticas: catalase, glicose-oxidase e peroxidase, como as não enzimáticas: ácido ascórbico, alfa-tocoferol, carotenóides, aminoácidos, proteínas,

ácidos orgânicos (PEREIRA e CASTRO, 2010). Outros antioxidantes são os hidrofílicos, tais como vitamina C e a maioria dos compostos fenólicos, e antioxidantes lipofílicos, principalmente vitamina E e carotenoides (PEREIRA e CASTRO, 2010; CIAPPINI, 2013).

A osmolaridade e o pH também são determinantes para definir o estímulo à cicatrização e efeito antibacteriano (PERALTA, 2010). Os teores de açúcar também contribuem para a cura retirando a água do leito da ferida pelo efeito osmótico do mel através do fluxo de saída da linfa, se a circulação de sangue no local da ferida for suficiente para realizar este processo (MOLAN e RHODES, 2015). O mel com efeito ativo remove facilmente esses detritos devido a esse escoamento osmótico (AHMED et al., 2018). Além disso, como citado acima, soluções de alta osmolaridade inibem o crescimento bacteriano porque o açúcar retém moléculas de água de modo que bactérias têm água insuficiente para apoiar seu crescimento (MOLAN, 1999).

A enzima glicose-oxidase converte glicose em ácido glucônico, tornando o mel muito ácido para os microorganismos crescerem e sobreviverem. O peróxido de hidrogênio produzido como um subproduto dessa reação age como um anti-séptico (HADAGALI e CHUA, 2014).

O mau cheiro das feridas acontece pela presença de amônia, aminas e compostos de enxofre que são produzidos quando as bactérias metabolizam aminoácidos a partir de proteínas e tecido necrótico. A ação da desodorização do mel é devida à provisão de uma rica fonte de glicose, que seria usado pelas bactérias infectantes em preferência aos aminoácidos, resultando na produção de ácido láctico em vez de compostos malcheirosos (MOLAN, 1999; HADAGALI e CHUA, 2014).

Assim, o uso de mel em feridas limpa rapidamente a lesão e mantém a condição higiênica na área infectada, libera o tecido morto e destrói as bactérias, reduz a inflamação e estimula o crescimento de vários tipos de células e tecidos envolvidos na geração de novas tecido para reparar a ferida e tecido infectado (HADAGALI e CHUA, 2014).

2.6 MÉIS MONOFLORAIS BRASILEIROS

O mel é classificado como unifloral ou monofloral: quando o produto proceda principalmente da origem de flores de uma mesma família, gênero ou espécie e possua características sensoriais, físico-químicas e microscópicas próprias (SDA/MAPA, Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000).

Os efeitos terapêuticos dos méis monoflorais variam sensivelmente dependendo da origem floral (NORDIN et al., 2017). Cada tipo de mel reflete as propriedades medicinais da planta utilizada na obtenção do néctar. Além disso, alguns méis monoflorais são mais eficazes que outros em termos de atividade antibacteriana (ISRAILI, 2014).

Nos méis brasileiros não é comum a presença de flavonoides, eles são muitos mais ricos em ácidos fenólicos (LIANDA, et al. 2012).

A literatura mostra que dentre os méis mais encontrados em diferentes regiões do Brasil estão os méis monoflorais com predominância de pólen: assa-peixe, cipó-uva, romã, eucalipto, aloroba, laranjeira, cana-de-açúcar e caju; além do mel silvestre que é considerado como multifloral (BAZONI, 2012).

2.6.1 ASSA-PEIXE

A planta conhecida popularmente como assa-peixe, chamarrita, cambará-guaçu, cambará-açu ou cambará-branco é pertencente à família *Urticaceae* e tem o nome científico *Vernonia polyanthes* (LORENZI e MATOS, 2008).

Originada no Brasil e encontrada em matas, pode crescer em solos pobres e em qualquer época do ano, porém, floresce no inverno. É um arbusto perene que pode chegar à 5 metros de altura, com folhas ásperas, pilosas. Suas flores são terminais, branco-amarelas ou avermelhadas, além de melíferas (FRANCESCHINI FILHO, 2004). É nativo da Bahia e Minas Gerais até Santa Catarina, principalmente na orla Atlântica (LORENZI e MATOS, 2008).

Os princípios ativos encontrados no assa-peixe são: alcalóides, glicosídeos, flavonoides, óleo essencial e sais minerais (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008). Suas principais indicações terapêuticas incluem tratamento de distúrbios respiratórios, dores musculares, contusões, como diurético (FRANCESCHINI FILHO, 2004), para o tratamento de hemoptises e abscessos

internos, cálculos renais e para afecções de pele (LORENZI e MATOS, 2008; PEREIRA e CASTRO, 2010). Ademais, extratos de assa-peixe estimulam a cicatrização em ratos através do aumento da proliferação de colágeno e de fibroblastos (MINATELI, 2015).

O mel de assa-peixe possui concentração de açúcares de 25 a 35% (WIESE, 1986) e é rico em sais minerais e promove ações diurética, balsâmica e expectorante. Dentre os flavonoides presentes, estão a narigenina (mais abundante), quercetina, rutina tricetina, crisina e apigenina. As principais substâncias fenólicas desse tipo de mel são o ácido gálico, protocatecuico, para-hidrobencóico, paracumarico, cinâmico, vanílico e ferúlico (PEREIRA e CASTRO, 2010).

2.6.2 CIPÓ-UVA

O cipó-uva pertence à família *Sapindaceae*, representada por cerca de 150 gêneros e 2000 espécies diferentes. É uma trepadeira nativa encontrada nas regiões tropicais do Brasil, Paraguai, Bolívia e Argentina (VIEIRA, 2014).

Diferentes espécies de *Serjania* e alguns dos seus compostos isolados têm atividades analgésica, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e antinociceptiva (VIEIRA, 2014) e principalmente são utilizados contra dores e úlceras gástricas (ARRUDA, 2009; PEREIRA e REIS, 2015; ALMEIDA, 2017)

As plantas pertencentes a esta família possuem substâncias como saponinas glicosiladas, flavonoides, isoprenóides, polifenóis, triterpenos, diterpenos, lecitinas, hidrogéis e taninos (PÉRICO, 2014; VIEIRA, 2014). Os taninos, saponinas e os triterpenos presentes nas plantas são os responsáveis pela atividade terapêutica na região gástrica (ARRUDA, 2009; ALMEIDA, 2017). Já o mel de cipó-uva é reconhecido por sua ação antioxidante, especialmente no fígado (PEREIRA e CASTRO, 2010).

2.6.3 EUCALIPTO

O eucalipto é pertencente à família *Myrtaceae* (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008). É uma árvore originada da Austrália, porém, o Brasil é país com maior área plantada de eucaliptos no mundo. É cultivada em

qualquer época do ano e cresce em qualquer solo, desenvolvendo-se bem em qualquer região do Brasil.

Esta árvore pode chegar à 60 metros de altura e possui folhas duras, alternadas, lanceoladas ou ovais na parte superior, possui glândulas produtoras de eucaliptol. Suas flores são pequenas, solitárias ou agrupadas, com coloração esbranquiçada (FRANCESCHINI FILHO, 2004).

Como terapia, o eucalipto é indicado para o tratamento de distúrbios respiratórios, disenteria, dores musculares e atua como cicatrizante e antisséptico, com a particularidade de impedir a reprodução do *Mycobacterium tuberculosis* (FRANCESCHINI FILHO, 2004, PEREIRA e CASTRO, 2010). Em estudo em roedores, comprovou-se o estímulo a regeneração tecidual significativo com uso desta planta através do aumento da contração da ferida, colágeno e fibroblastos, diminuição da epitelização e área da cicatriz (VELMURUGAN, et al., 2014).

É uma excelente fonte alimentar para abelhas por conta de seu prolongado florescimento, secretando um néctar com alta concentração de açúcares (35-45%) (WIESE, 1986; FRANCESCHINI FILHO, 2004).

Espécies de eucalipto têm fortes atividades antioxidante e antibacteriana devidas à composição das folhas com óleo essencial com cineol ou eucaliptol. Sobre seus princípios ativos, esta planta possui ácido gálico, ácido fenólico, álcoois, óleo essenciais como eucaliptol, cineol, citronelal e citronelol; taninos, resinas, hidrocarbonetos, aldeídos, cetonas, glicosídeos e flavonoides (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008; HAIDA, 2011). Yao et al. (2004) constataram que o ácido gálico é o principal ácido fenólico dos méis de eucalipto.

2.6.4 LARANJEIRA

A laranjeira pertence à família *Rutaceae* e cientificamente tem os nomes de *Citrus sinensis* e *Citrus aurantium*. Originada da Ásia, foi introduzida na Europa no século XV e em 1530 no Brasil. Prefere climas quentes, porém, pode ser plantada em qualquer época do ano, com bom crescimento em terrenos profundos, pouco ácidos, permeáveis e férteis. A árvore chega até 5 metros de altura, com caule espinhoso e folhas alternas, elípticas e lisas e flores com 5 pétalas brancas e axilares. Seu fruto é uma baga redonda e com superfície áspera e polpa aquosa (FRANCESCHINI FILHO, 2004).

Dentre seus princípios ativos, encontram-se as vitaminas A, C e B12; óleo essenciais como limoneno, linalol, acetato de linalina, acetato de geraniol, acetato de geranilo e pectinas (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008). Apenas uma laranja já fornece 116% da necessidade diária de vitamina C, um potente antioxidante solúvel em água que impede a geração de radicais livres no corpo e danos aos tecidos (MILIND e DEV, 2012). Além disso, a vitamina C apoia a proliferação e migração de fibroblastos (AHMED et al., 2018).

Os outros antioxidantes presentes na composição do fruto são pectina, hesperidina, narutina, naringina e eriocitrina, que possuem capacidade antioxidante (LOREZONI e MATOS, 2008; MILIND e DEV, 2012). A hesperidina encontrada em citrinos (MILIND e DEV, 2012) beneficia a cicatrização de feridas cutâneas em ratos (ARAÚJO, 2010).

É indicado como calmante, digestivo, diurético, hipotensor, para distúrbios respiratórios, neurológicos, articulares (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008; MILIND e DEV, 2012). Já o mel de laranjeira age como regulador do intestinal e é um tranquilizante natural (PEREIRA e CASTRO, 2010). A concentração de açúcares neste mel é de 15%, portanto baixa quando comparada com outros méis (WIESE, 1986).

3 CONCLUSÃO

A integridade da pele é fundamental e o processo cicatricial é dividido em diferentes etapas que atuam de forma harmoniosa para beneficiar a restauração tissular. O mel é uma alternativa para tratamento de lesões de pele por seus efeitos cicatrizantes e antimicrobianos atribuídos aos antioxidantes, peróxido de hidrogênio, osmolaridade e pH ácido. Assim, o mel mantém a ferida limpa, destrói bactérias, promove debridamento, reduz a inflamação e estimula o crescimento de tecidos.

Todavia, as propriedades terapêuticas do mel variam conforma a fonte floral. Os méis de assa-peixe, laranjeira e eucalipto têm efeito cicatrizante, enquanto o mel de cipó-uva atua do tratamento de alterações do trato gastrointestinal.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. et al. Honey as a Potencial Natural Antioxidante Medicine: Na Insight into its Molecular Mechanisms of action. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2018/8367846>> Acesso em: 18 out. 2018.
- AHMED, S.; OTHMAN, N.H. Review of the medicinal effects of tualang honey and a comparison with manuka honey. **The Malaysian Journal of Medical Sciences**, v. 20, n.3, p.6–13, 2013.
- ALJADY A. M. et al. Biochemical study on the efficacy of malaysian honey on inflicted wounds: an animal model. **Medical Journal of Islamic Academy of Sciences**, v. 13, n.3, p.125-132, 2000.
- ALMEIDA, G.L. et al. Rendimento, atividade antioxidante e quantificação de metabólitos secundários em extrato aquoso de *Serjania marginata* casar. **1º Simpósio Científico sobre Recursos Naturais**. 2017.
- ANVISA. **Resolução - CNNPA nº 12, de 1978**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78_mel.htm> Acesso em: 10 jun. 2017.
- ARAÚJO, G.L. **Estudo de formulações de fitoderivados e flavonoides na inflamação e cicatrização de feridas em coelhos**. 114 f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. 2010. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/301> Acesso em: 11 nov. 2018.
- ARRUDA, A.P.C.C.B.N. et al. Gastroprotetive effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): Involvement of Sensory Neurons, Endogenous Nonprotein Sulfhydryls and Nitric Oxide. **Journal of Medicinal Food**, v.12, n.6. p. 1441-1415. 2009.
- BACAXIXI, P. et al. A importância da apicultura no Brasil. *Revista Científica Eletrônica de Agronomia*. Ano X. N. 20, Dezembro de 2011.
- BANG L. M.; BUNTTING C.; MOLAN P. The effect of dilution on the rate of hydrogen peroxide production in honey and its implications for wound healing. **The Journal of Alternative & Complementary Medicine**, v.9, n.2, p. 267–273. 2003. doi: 10.1089/10755530360623383.

- BARTH, O.M. O pólen no mel brasileiro. Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz. Gráfica Luxor. 150 p. Rio de Janeiro. 1989.
- BARTH, O.M., et al. Determinação de parâmetros físico-químicos e da origem botânica de méis indicados monoflorais do Sudeste do Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 25(2): 229-233, abr.-jun. 2005.
- BAZONI, M.O. **Atividade antimicrobiana dos méis produzidos por Apis Melifera e abelhas sem ferrão nativas do Brasil**. 2012. 130 f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Genética. Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto. 2012. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17135/tde-22042013-165316/en.php>> Acesso em: 12 set. 2018.
- BLANCK, M. **Fisiopatologia das feridas**. 2008. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/5705787-Fisiopatologia-das-feridas.html>> Acesso em: 09 jun. 2017.
- BLANES, L. **Tratamento de feridas**. 2004. Disponível em: <<http://bapbaptista.com.br/feridasLeila.pdf>> Acesso em: 09 jun. 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA. Instrução Normativa Nº 11, de 20 de Outubro de 2000. Disponível em: http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Mel-completo-IN-11_2000.pdf Acesso em: 07 mar 2019.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Patologia Geral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.75-80, 2004.
- CAMPOS, A.C.L.; BORGES-BRANCO, A.; GROTH, A.K. Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v.20, n.1, p.51-58, 2007.
- CIAPPINI, M.C. et al. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. **Revista de Ciencia e Tecnología**, v.15. n.19, p.45-51, 2013.
- COOPER, R.A.; MOLAN, P.C.; HARDING, K.G. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. **Journal of Applied Microbiology**, v.93, n.5, p.857–863, 2002.
- DUNNILL, C. et al. Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for

- augmentation of the healing process. **International Wound Journal**, v.14, n.1, p. 89–96, 2015.
- DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Tegumento comum. In: **Tratado de anatomia veterinária**. C.10. p. 355-357. 4ª Edição. Elsevier. Rio de Janeiro. 2010.
- EREJUWA, O.O.; SULAIMAN S.A.; WAHAB, M.S. Honey: a novel antioxidant. **Molecules**, v.17, n.12, p.4400–4423, 2012.
- FRANCESCHINI FILHO, S. Plantas terapêuticas. 1ª Edição. São Paulo. Andrei Editora, 2004. 333p.
- GRIERSON, I., JOSEPH, J., MILLER, M. et al. Wound repair: the fibroblast and the inhibition of scar formation. **Eye**, v.2, p.135-148, 1988.
- HADAGALI, M.D.; CHUA, L.S. The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. **European Food Research and Technology**, v.239, n.6, p.1003–1014, 2014.
- HAIDA, K.S. et al. Propriedade sequestrante de radicais livres e determinação do teor de fenólicos totais da sálvia e eucalipto. **Revista Saúde e Pesquisa – Unicesumar**, v.4, n.1. 2011.
- ISAAC, C. et al. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**. v.89, n.3/4, p.125-131, 2010.
- ISRAILI, Z.H. Antimicrobial Properties of Honey. **American Journal of Therapeutics**, v.21, n.4, p.304–323, 2014.
- JONES, T.C.; HUNT R.D.; KING N.W. **Patologia Veterinária**. 6a ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Pele e anexos. In: **Histologia Básica**. 11ª Edição. p.359- 370. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2008.
- KIERSZENBAUM, A.L.; TRES, L.L. Histologia e Biologia celular: uma introdução à Patologia. 4ª Edição. C. 11. P. 353-379. Elsevier. Rio de Janeiro. 2016.
- KOENIG T.; ROH J.L.C. Healing wounds with honey. **Undergraduate Research Journal for the Human Sciences**, v.15, n.1, 2016.
- KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C.: **Robbins & Contran: Patologia Básica – Bases Patológicas das Doenças**. 8ª Edição. 1458p. Elsevier. Rio de Janeiro. 2010.

- LIANDA, R.L.P. et al. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. V.00., p.01-10. 2012.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**. 2ª ed. 576 p. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da flora, 2008.
- MANDELBAUM, S.M.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.4, p.393-410, 2003.
- MARTINS, N.L.P. et al. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), p.66-75, 2006.
- MERCKOLL, P. et al. Bacteria, biofilm and honey: a study of the effects of honey on 'planktonic' and biofilm-embedded chronic wound bacteria. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.41, n.5, p.341–347, 2009.
- MILIND, P.; DEV, C. Orange: range of benefits. **International Research Journal of Pharmacy**, v.3, n.7, p.59-63, 2012.
- MINATELI, M.M. **Investigação do potencial toxicológico e atividades farmacológicas de *Vernonia polyanthes* LESS (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora. 2015.
- MOLAN, P. C. The role of honey in the management of wounds: A review of the evidence on the advantages of using honey as a topical wound treatment together with practical recommendations for its clinical use. **Journal of Wound Care**, v.8, n.8, p. 415-418, 1999.
- MOLAN, P.C. Potencial of honey in the treatment of wounds and burns. **American Journal of Clinical Dermatology**, v.2, n.1, p.:13-19, 2001.
- MOLAN, P.C.; Rhodes T. Honey: a biologic wound dressing. **Wounds**, v.27, n.6, p.141–151, 2015.
- MONTANARI, T. **Histologia: Texto, atlas e roteiro de aulas práticas**. 3ª Edição. Editora da UFRGS. Porto Alegre. 2016. 229 p. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/livrodehisto/> Acesso em: 19 mar 2019.
- MULLER, G.H.; KIRK, R.W. **Dermatologia de pequenos animais**. 5ª Edição. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996. 1130 p.

- NORDIN, A. et al. Honey and epithelial to mesenchymal transition in wound healing: An evidence-based review. **Wound medicine**, v.18, p.8–20. 2017.
- PAULA NETO, F.L.; ALMEIDA NETO, R.M. Principais mercados apícolas mundiais e a apicultura Brasileira. **XLIII CONGRESSO DA SOBER**. Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural. Ribeirão Preto. 24 a 27 jul 2005.
- PAULA, M.F. et al. Dinâmica das Exportações de Mel Natural Brasileiro no Período de 2000 a 2011. **Floresta e Ambiente**. 22(2):231-238. 2015.
- PEERSCHKE, E. I.; YIN, W. GHEBREHIWET, B. Platelet mediated complement activation. **Advances Experimental Medicine and Biology**, v. 632, n.1, p.81-91, 2008.
- PERALTA, E.D. **Atividade antimicrobiana e composição química de méis do estado da Bahia**. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Biotecnologia Universidade Estadual de Feira de Santana Programa. 2010.
- PEREIRA, M.A.; CASTRO, R.N. Perfil cromatográfico das substâncias fenólicas presentes em extratos de mel de assa peixe e avaliação de seu poder antioxidante. **Monografia**. Licenciado em Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2010
- PEREIRA, O.J.R.; REIS, J.M. Estudo Comparativo da Ação Bactericida do Mel sobre *Staphylococcus aureus*. **Ciências em Saúde**, v.5, n.2. 2015.
- PÉRICO, L.L. **Avaliação dos mecanismos de ação envolvidos na atividade antiulcerogênica de *Serjania marginata* Casar. frente à doença ulcerosa péptica experimental**. Dissertação (Mestre em Ciências Biológicas) do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu (UNESP). 2014.
- PESSOA, W.S. et al. Effects of angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.27, n.10, p.665-670. 2012.
- REESE, S. et al. Tegumento comum. In: KONIG, H.E.; LIEBICH, H.G. **Anatomia dos animais Domésticos**. 6ª Edição. c. 18, p. 615-620. Artmed. 2016.
- SANTOS, I.F.C. et al. Mel e açúcar mascavo na cicatrização de feridas. **Ciência Rural**, v.42, n.12, p. 2219-2224, 2012.
- SEBRAE NACIONAL. Conheça o histórico da apicultura no Brasil. 20/10/2015. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/artigos/conheca-o>

historico-da-apicultura-no-

brasil,c078fa2da4c72410VgnVCM100000b272010aRCRD>

TAZIMA, M.F.G.S.; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina**, v.41, n.3, p.259-264, 2008.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 532 p.

VELMURUGAN, C. et al. Wound healing potential of leaves of Eucalyptus citriodoralin. **World Journal of Pharmaceutical Science**, v.2, n.1, p.62-71, 2014.

VIEIRA, S.C.H. **Extratos padronizados para o tratamento de doenças crônicas: Serjania marginata Casar. (Sapindaceae)**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2014.

WANG, R. et al. Honey's ability to counter bacterial infections arises from both bactericidal compounds and QS inhibition. **Frontiers in Microbiology**. 2012.

Disponível

em

<<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2012.00144/full>> Acesso em: 20 dez. 2018.

WIESE, H. **Nova Apicultura**. 7. ed. Porto Alegre: Agropecuária, 1986. 493 p.

YAO, L. et al. Phenolic acids and abscisic acid in Australian Eucalyptus honeys and their potential for floral authentication. **Food Chemistry**, v.86, p.169-177, 2004.

CAPÍTULO 2

EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO EM FERIDAS POR SEGUNDA INTENÇÃO INDUZIDAS EM RATOS WISTAR

RESUMO

A cicatrização promove a restauração tissular através de processos dinâmicos que envolvem fenômenos bioquímicos e fisiológicos. Atualmente, há uma tendência para a utilização de recursos naturais na medicina por apresentarem poucos efeitos colaterais, vantagens econômicas e serem eficientes. O uso tópico de mel apresenta propriedades terapêuticas benéficas no tratamento de feridas. Dentre os méis monoflorais mais disponíveis no Brasil destacam-se o assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial cicatrizante e antimicrobiano dos méis de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira. No primeiro experimento, foi avaliado o potencial cicatrizante em 84 ratos Wistar submetidos à realização de uma ferida cutânea de 8mm de diâmetro e que receberam tratamento tópico: GC: NaCl 0,9%; GP: pomada comercial à base de fibrinolisinase, desoxirribonuclease e cloranfenicol em petrolato base; GAp: mel assa-peixe; GCu: mel cipó-uva; GLa: mel de laranjeira; GEu: mel de eucalipto. No 2°, 4°, 7°, 10°, 14°, 21° e 30° dia de pós-cirúrgico, dois animais de cada grupo foram submetidos à eutanásia para retirada de um fragmento de pele, subcutâneo e musculatura para avaliação macroscópica, histopatológica e de área da ferida. Verificou-se que os méis inibiram a formação de edema e infecção e tornaram transitória a presença de crostas. Os méis de laranjeira e de eucalipto reduziram a área da ferida. Os méis de assa-peixe, eucalipto ou laranjeira reduziram a inflamação e a necrose e, otimizaram a formação do tecido de granulação, a fibroplasia e a reepitelização. No segundo experimento, verificou-se o potencial antimicrobiano *in vitro* desses méis em diferentes diluições através de antibiogramas frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Observou-se que esses méis monoflorais não diluídos impediram o crescimento dos principais agentes bacterianos presentes na pele, com destaque ao mel de laranjeira no controle contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*. Conclui-se que os méis de assa-peixe, laranjeira ou eucalipto possuem potencial cicatrizante e antimicrobiano. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Palavras-chave: antibacteriano, mel, reparação tecidual

ABSTRACT

Healing promotes tissue restoration through dynamic processes involving biochemical and physiological phenomena. Currently, there is a trend towards the use of natural resources in medicine because they have few side effects, economic advantages and are efficient. Topical use of honey has beneficial therapeutic properties in the treatment of wounds. Among the most available monofloral honeys in Brazil are assa-peixe, cipó-uva, orange and eucalyptus. Thus, the objective of this study was to evaluate the healing and antimicrobial potential of assa-peixe, cipó-uva, eucalyptus and orange honeys. In the first experiment, the healing potential was evaluated in 84 Wistar rats submitted to a cutaneous wound of 8mm in diameter and receiving topical treatment: GC: NaCl 0.9%; GP: commercial ointment based on fibrinolysin, deoxyribonuclease and chloramphenicol on petrolatum base; GAP: honey assa-peixe; GCu: honey cipó-uva; GLa: orange honey; GEu: Eucalyptus honey. At the 2nd, 4th, 7th, 10th, 14th, 21th and 30th postoperative days, two animals from each group were submitted to euthanasia for removal of a skin, subcutaneous and musculature fragment for macroscopic evaluation, histopathological and wound area. It was found that the honeys inhibited the formation of edema and infection and made the presence of crusts transient. Orange and eucalyptus honeys reduced the area of the wound. Honeydew, eucalyptus or orange peel honeys reduced inflammation and necrosis and optimized granulation tissue formation, fibroplasia, and re-epithelization. In the second experiment, the *in vitro* antimicrobial potential of these honeys was verified in different dilutions through antibiograms against strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. It was observed that these undiluted monofloral honeys prevented the growth of the main bacterial agents present in the skin, with emphasis on orange honey in the control of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. It was concluded that the assa-peixe, orange or eucalyptus honeys have healing and antimicrobial potential. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Keywords: antibacterial, honey, tissue repair.

5 INTRODUÇÃO

A pele corresponde a aproximadamente 16% do peso corporal, é o maior órgão do corpo humano e atua como uma barreira física entre o indivíduo e o ambiente (JONES et al., 2000). Quando a pele é lesionada, o organismo volta-se para o reparo tecidual, sendo que a cicatrização é um processo dinâmico que envolve fenômenos bioquímicos e fisiológicos que atuam de forma harmoniosa a fim de garantir a restauração tissular (MANDELBAUM, et al., 2003; EYAREFE, et al., 2017). Didaticamente, o processo de cicatrização é dividido em inflamação, proliferação, remodelação e maturação, todavia tais fases podem ocorrer simultaneamente (MARTINS et al., 2006; TAZIMA et al., 2008; ISAAC et al., 2010).

A cicatrização pode ocorrer por primeira, segunda ou terceira intenção. O fechamento por segunda intenção está relacionado a ferimentos infectados e/ou com perda tecidual que inviabilize a aproximação das bordas. Este processo requer maior produção de tecido de granulação e tempo mais prolongado para a contração e epitelização da ferida (BLANCK et al., 2008).

Alguns produtos naturais têm potencial terapêutico, apresentam vantagens econômicas, eficiência e poucos efeitos colaterais (SANTOS et al., 2012). Nesse contexto destaca-se o mel, que é um alimento líquido, viscoso, supersaturado e açucarado (MARQUES, et al., 2015). É produzido por abelhas a partir de néctar de flores e/ou exsudatos sacarínicos de plantas. O néctar pode provir de uma única flor (mel monofloral) ou de várias (mel plurifloral). Pode variar em cor, aroma e sabor conforme a espécie da abelha, floração, área de obtenção e técnicas de preparação (ANVISA, 1978; PEREIRA e REIS, 2015).

No mel já se identificou potencial antisséptico, anti-inflamatório, antioxidante antimutagênico, antitumoral, antidiabético, cicatrizante e, ainda, antimicrobiano/bactericida na pele ou ferimentos (PEREIRA e REIS, 2015; AHMED et al., 2018). A osmolaridade, o pH, o peróxido de hidrogênio, os flavonoides e os compostos fenólicos presentes no mel parecem interferir no potencial terapêutico do mel (PERALTA, 2010). Geralmente há estreita relação entre as propriedades terapêuticas do mel e a erva que origina a florada ou o alimento consumido pelas abelhas (ISRAILI, 2014).

O mel de abelhas já é comprovadamente terapêutico na cicatrização por conta da sua composição química proveniente das enzimas fornecidas pelas

abelhas durante a confecção do mel (AHMED et al., 2018). Estas enzimas promovem imunoestimulação sobre fibroblastos, crescimento de células epiteliais e desenvolvimento de novos capilares em tecidos danificadas; comprovando suas ações cicatrizante e promotora da epitelização das extremidades de feridas (EFEM, 1988; EYAREFE, 2017).

O Brasil tem grande potencial apícola devido a sua flora diversificada, extensão territorial e variabilidade climática. Dentre os méis mais encontrados em diferentes regiões do país estão os méis monoflorais de assa-peixe, cipó-uva, romã, eucalipto, aloroba, laranjeira, cana-de-açúcar e caju; além do mel silvestre que é plurifloral (PEREIRA e CASTRO, 2010; BAZONI, 2012).

Dentre algumas características fitoterápicas das plantas utilizadas pelas abelhas na elaboração dos méis; o assa-peixe é depurativo do sangue e calmante; o cipó-uva é reconhecido por sua ação contra dores e úlceras gástricas; o eucalipto ajuda a combater a bronquite, a tosse e asma; a laranjeira age como regulador do intestinal e é um tranquilizante natural (ARRUDA, 2009; PEREIRA e CASTRO, 2010; ALMEIDA, 2017).

Quanto à cicatrização, o tratamento tópico com extrato de assa-peixe estimula o aumento da proliferação de colágeno e fibroblastos (MINATELI, 2015). Já o cipó-uva possui atividade analgésica, antimicrobiana, anti-inflamatória e antinoceptiva (VIEIRA, 2014).

O eucalipto promove o estímulo a regeneração tecidual significativo com uso desta planta através do aumento da contração da ferida, colágeno e fibroblastos, diminuição da epitelização e área da cicatriz (VELMURUGAN, et al., 2014).

A laranjeira possui alta concentração de vitaminas A, C e B12, sendo a vitamina C a mais abundante (MILIND e DEV, 2012). Esta vitamina é um potente antioxidante e é fundamental na síntese de colágeno, proliferação e migração de fibroblastos (AHMED et al., 2018).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial cicatrizante do mel de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto na cicatrização de feridas por segunda intenção em ratos Wistar e, ainda, avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro* desses méis.

5.1 JUSTIFICATIVA

Feridas são lesões frequentemente observadas na prática da Medicina Humana ou Veterinária e os profissionais envolvidos utilizam medicamentos com o objetivo de acelerar o processo de reparação tecidual e evitar infecções.

Diversos produtos naturais já foram testados pelo seu potencial cicatrizante e/ou antimicrobiano, dentre eles o mel. Há diversos tipos de méis conforme a abelha e as floradas e, portanto, cada tipo de mel pode ou não possuir determinado efeito terapêutico.

Conhecer o potencial cicatrizante e antimicrobiano dos méis monoflorais mais comumente disponíveis no Brasil poderá contribuir para elencar mais alguns produtos naturais com benefícios terapêuticos relevantes no tratamento de feridas por segunda intenção.

5.2 OBJETIVOS

5.2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial cicatrizante e antimicrobiano dos méis de assa peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto.

5.2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o potencial cicatrizante de méis de assa peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto em feridas por segunda intenção quanto às variáveis macroscópicas observando a presença de edema, infecção e crosta e área da ferida.
- Avaliar o potencial cicatrizante de méis de assa peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto em feridas por segunda intenção quanto às variáveis microscópicas graduando a presença de inflamação, necrose, tecido de granulação, fibroplasia e reepitelização.
- Avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro* de méis de assa peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto em diferentes diluições frente a culturas bacterianas comumente encontradas na pele.

6 MATERIAL E MÉTODOS

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Campus Palotina (CEUA – Palotina, n. 54/2016), Comitê de Pesquisa do Campus Palotina (COPE – Palotina, n. DCV201632) e registrado no sistema BANPESQ/Thales da UFPR (n. 2016023736). Para melhor condução, este estudo foi dividido em dois experimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

6.1 EFEITO CICATRIZANTE E ANTIMICROBIANO DO MEL DE ASSA-PEIXE, CIPÓ-UVA, LARANJEIRA OU EUCALIPTO EM FERIDAS POR SEGUNDA INTENÇÃO INDUZIDAS EM RATOS WISTAR

6.1.1 Animais

O experimento foi realizado no Biotério de Roedores do Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados 84 ratos Wistar de 90 a 120 dias de vida, com peso variando entre 155 e 290 gramas, independente do sexo, que foram aleatoriamente distribuídos entre seis grupos experimentais de 14 animais cada.

Os animais foram mantidos em grupos de três animais do mesmo sexo em cada caixa de polipropileno de 41 x 33 x 16 cm, normalmente utilizadas no alojamento de ratos, com temperatura de $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, no ciclo claro/escuro de 12 horas. Houve oferta de ração peletizada e água *ad libitum*. A maravalha foi trocada a cada três dias. Ocorreu o manejo adaptativo durante 15 dias antes do início do experimento.

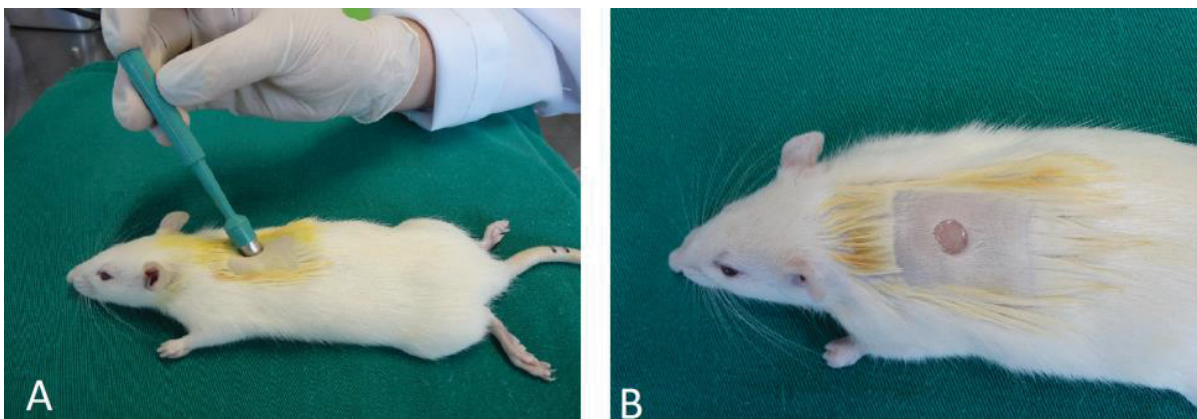
Dois dias antecedentes ao experimento realizou-se a pesagem e a identificação dos animais por meio de marcação do pelo com ácido pícrico.

6.1.2 Ferida Cirúrgica e Tratamentos

No dia “zero” realizou-se a ferida cirúrgica nos animais. Para tanto, cada rato recebeu diazepam (2 mg/Kg, IP) e após cinco minutos houve indução anestésica com isoflurano diluído em O₂ em sistema anestésico fechado. Realizou-se, então, a tricotomia de 2 x 2 cm na região dorsal, cerca de 2cm após a base do pescoço, seguida de limpeza com PVPI degermante, álcool e povidine tópico. Foi administrada lidocaína no dorso do pescoço (5 mg/Kg, SC) e, então, efetuou-se a ferida circular de pele de 8 mm de diâmetro com o uso de *punch* metálico com profundidade determinada até a coleta da hipoderme (FIGURA 1). Removida a pele, a ferida foi limpa com NaCl 0,9% e os animais receberam tratamento tópico conforme o grupo experimental:

- GC (grupo controle negativo): NaCl 0,9%
- GP (grupo controle positivo): pomada comercial¹ à base de fibrinolisinase, desoxirribonuclease e cloranfenicol em petrolato base (95% óleo mineral e 5% de polietileno)
- GAp: grupo do mel de assa-peixe
- GCu: grupo do mel de cipó-uva
- GEu: grupo do mel de eucalipto
- GLa: grupo do mel de laranjeira

FIGURA 1 - Ferida cirúrgica experimental confeccionada com *punch* metálico em ratos Wistar para avaliação da cicatrização com méis de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira.



Sendo: A – confecção da ferida com *punch*; B – aspecto da ferida no pós-cirúrgico; C - administração do tratamento tópico com mel. (Fonte: GUIRRO et al., 2015)

¹ Fibrase, Pfizer, Guarulhos, São Paulo, Brasil.

Os méis monoflorais foram adquiridos em um apiário da cidade de Atibaia, estado de São Paulo, certificado no SISP/SP nº 1206.

Ato contínuo, cada animal recebeu administração única de cefalotina (60mg/Kg, SC) e de meloxicam (2,0 mg/kg, SC) e foi devolvido à caixa de polipropileno. A limpeza com NaCl 0,9% e a administração tópica dos produtos em teste foram realizadas duas vezes por dia, até a resolução da ferida.

No 2°, 4°, 7°, 10°, 14°, 21° e 30° dia de pós-cirúrgico (D2, D4, D7, D10, D14, D21 e D30), dois animais de cada grupo foram aleatoriamente removidos da caixa e submetidos à eutanásia com sobredosagem de isoflurano. Após confirmação de óbito, deu-se a avaliação macroscópica, o decalque da área da ferida e, então, retirava-se um fragmento de pele, subcutâneo e musculatura a fim de realizar avaliação histopatológica do processo de cicatrização.

6.1.3 Avaliação Macroscópica

Imediatamente após a confirmação da morte, foi verificada a presença de edema, crosta ou infecção, por meio de escores, sendo 0 – ausente; 1 – parcial; 2 – presente; considerando a crosta parcial quando presente somente nos bordos da lesão e completa ao recobrir toda a lesão. Os dados foram analisados pelo teste Kruskal Wallis, com $p < 0,05$.

Além disso, registrou-se a área de cada ferida com desenho em papel vegetal para posterior avaliação da área em software apropriado². Os resultados foram submetidos à ANOVA seguida de Tukey, com $p < 0,05$. Empregou-se um programa computacional para realização dos testes estatísticos³.

6.1.4 Avaliação Microscópica

Retirou-se um fragmento de pele, subcutâneo e musculatura da região lesionada e acondicionou-se em 30 ml de formol tamponado (proporção: 0,6 mg de

2 Quant – versão 1.0.1, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

3 SigmaStat for Windows® Version 3.0.1, SPSS Inc., Chicago, Illinois, Estados Unidos.

fosfato de sódio dibásico; 0,4 mg de fosfato de sódio monobásico; 10 ml formol; 90 ml de água destilada) para avaliação histopatológica.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, onde foram cortadas em 4 µm (micras) e coradas em hematoxilina e eosina. As lâminas foram submetidas à leitura em microscopia óptica e interpretação por meio de escores do grau de inflamação, necrose, fibroplasia, tecido de granulação (0 – ausente; 1- leve; 2 – moderado 3 – acentuado; 4 – severo) e reepitelização (A – ausente; P – parcial; C – completa). Os dados foram analisados pelo teste Kruskal Wallis, com $p < 0,05$.

6.2 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Este experimento foi realizado no Laboratório de Inspeção e Controle de Qualidade de Alimentos e Água – LACOMA, da UFPR - Setor Palotina.

O potencial antimicrobiano do mel de assa-peixe, cipó-uva, laranjeira e eucalipto foi testado na forma de antibiograma de acordo com o *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017)*.

O processo foi efetivado em cepas comerciais de (ATCC®)⁴:

- *Staphylococcus aureus* ATCC® 19095™ (isolado de abscesso)
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923™ (isolado clínico)
- *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213™ (isolado de ferida)
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC® 12228™ (sem origem descrita)
- *Escherichia coli* ATCC® 8739™ (isolado de fezes)
- *Escherichia coli* ATCC® 25922™ (isolado clínico)
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC™ 27853™ (isolado de sangue)

Todas as cepas primeiramente foram repicadas e cultivadas em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*)⁵ à 37°C ± 1°C por 24 horas. As diluições dos inóculos aconteceram a partir do tubo com turbidez 0,5 de acordo com a escala de Mc Farland em solução salina estéril.

⁴ American Type Culture Collection® - University Boulevard, Manassas, Virginia, Estados Unidos.

⁵ Oxoid Microbiology Products™ - Basingstoke, Hampshire, Reino Unido.

Em seguida, ocorreu a semeadura com *swabs* estéreis no ágar Muller-Hinton⁶ em placas de Petri (90 x 15 mm). Realizou-se a confecção dos poços com diâmetro de 6 mm que é o tamanho padrão dos discos comerciais de antibiograma. Em cada placa foram realizados poços para as diluições 10%, 25%, 50%, 75% e 100% de cada mel testado. Foram pipetados 30 µL de tratamento por poço e levados novamente à estufa à 37°C ± 1°C por 24 horas. As placas foram devidamente identificadas de acordo com as cepas ATCC[®], méis e diluição utilizados.

Então, observou-se o tamanho dos halos de inibição, em milímetros, sendo que se considerou-se que quanto maior o halo, maior o poder inibitório do tratamento em relação ao agente bacteriano.

⁶ BD Difco™ - New Jersey, Estados Unidos.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Macroscopicamente, nenhum grupo apresentou edema ou infecção. O GC também não apresentou infecção, semelhante aos resultados de Loss (2013). A limpeza das feridas duas vezes ao dia com NaCl 0,9% antes da aplicação de cada um dos méis testados foi benéfica, pois manteve a ferida limpa sem prejudicar a reparação tecidual. O NaCl 0,9% é o agente de limpeza mais seguro para a maioria dos ferimentos, pois não é citotóxica, não gera reações alérgicas, auxilia na redução de micro-organismos e não doa e nem retira fluídos da ferida (DEALEY, 1999). A limpeza da ferida com solução fisiológica 0,9% morna em jato auxilia na remoção de corpos estranhos e de tecidos frouxos aderidos, mas mantém o tecido de granulação recém-formado (SILVA et al., 2012).

Sobre a ausência de infecção nos grupos tratados com mel, Hadagali e Chua (2014) explicam que quando o mel é aplicado a uma ferida exsudativa, sua alta viscosidade promove uma barreira física contra infecções secundárias. Além disso, os méis normalmente tem pH entre 3 e 4, portanto desfavorável ao crescimento bacteriano e estimulante da ação bactericida dos macrófagos, da atividade de fibroblastos e do aumento da oxigenação (EFEM, 1988; NORDIN et al., 2017).

A enzima glicose-oxidase é um componente presente nos méis, que, quando exposta ao oxigênio, produz o peróxido de hidrogênio lentamente sem causar danos ao tecido. A presença deste componente promove ação antibacteriana, desbridamento autolítico e estimulação da cicatrização, o que também justifica a ausência de edema e infecção nas feridas cirúrgicas tratadas com mel (MOLAN, 2009; MOLAN e RHODES, 2015; KOENIG e ROH, 2016).

A inexistência de edema corrobora estudos nos quais o mel reduziu o edema induzido em ratos (HUSSEIN et al., 2012; HUSSEIN, et al., 2013). A propriedade higroscópica do mel auxilia na redução do edema, de forma que absorve a umidade e a extrai para o ambiente, retirando resíduos e outros fluidos da ferida mesmo dos tecidos mais profundos (EFEM, 1988; MOLAN e RHODES, 2012). Esta propriedade higroscópica também auxilia na desidratação das bactérias e favorece a ligação da

água do mel com os açúcares, deixando poucas moléculas disponíveis para os microorganismos (EFEM, 1988; BAZONI, 2012).

Houve formação de crostas em todos os grupos até D7, exceto no GP que não apresentou a formação de crosta (TABELA 1). A utilização da pomada comercial à base de fibrinolisin, desoxirribonuclease e cloranfenicol no grupo controle positivo foi estabelecida com objetivo de manter a umidade da ferida, controle da desidratação e infecção. Os curativos que promovem um ambiente úmido para a ferida previnem a desidratação tecidual e morte celular, promover angiogênese acelerada, aumento da retirada de tecido morto e fibrina (FIELD e KERSTEIN, 1994; KAMMERLANDER et al., 2005). Inúmeros curativos são então utilizados para produzir umidade local, melhorando de 35% a 45% a taxa de reepitelização de feridas profundas (MANDELBAUM et al., 2003).

TABELA 1 - Avaliação macroscópica da formação de crosta (média \pm DP) durante o processo de cicatrização por segunda intenção em feridas de ratos Wistar tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada comercial à base de fibrinolisin, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel assa-peixe (GAp), mel cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa):

	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	1 \pm 0	1 \pm 0	2 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
GP	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
GAp	1 \pm 0	1,5 \pm 0,5	1 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
GCu	1 \pm 0	1 \pm 0	0,5 \pm 0,5	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
GEu	1 \pm 0	1,5 \pm 0,5	1 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0
GLa	1 \pm 0	1 \pm 0	1 \pm 1	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0	0 \pm 0

Sendo: 0 – ausente; 1 – parcial; 2 – presente; D2, D4, D7, D10, D14, D21 e D30 – respectivamente, dois, quatro, sete, 10, 14, 21 e 30 dias após a realização da ferida. FONTE: O Autor (2018).

As feridas abertas formam crostas e epitelizam mais lentamente (MANDELBAUM et al., 2003). A formação de crostas ocorre pela secreção fibrino-leucocitária, sangue e exsudato que preenchem a área lesada, seguido da coagulação e desidratação, e tem por finalidade proteger a lesão (BRASILEIRO FILHO, 2004; SONNEWEND et al., 2004). Esta formação auxilia na contenção da hemorragia e favorece o processo de reparação, porém deve permanecer por pouco tempo para não retardar o processo cicatricial por conta na diminuição da umidade e por ser uma barreira à contração da ferida (LOSS, 2013; VIEIRA, 2018).

Se a crosta persistir, recomenda-se a retirada para estimular a capacidade contrátil dos miofibroblastos, células importantes na contração da ferida (LOSS, 2013). No presente estudo não foi preciso retirar as crostas, visto que tal formação permaneceu apenas até D7.

7.2 ÁREA DA FERIDA

O processo de contração da ferida tem a finalidade de justapor as bordas de uma ferida aberta e reduzir a quantidade e o tamanho da cicatriz desordenada, sendo essencial para a cicatrização de feridas (TAZIMA et al., 2008). Na fase de proliferação alguns fibroblastos se diferenciam em miofibroblastos, que se alinham aos bordos da lesão e promovem a contração da ferida (GRIERSON et al., 1988; KUMAR et al., 2010). Sendo assim, frequentemente se observam bordas irregulares nas feridas, mas como foi utilizado um *software* apropriado foi possível realizar a avaliação da área com precisão.

Houve presença de ferida até D7 no GP e até D10 nos demais grupos (TABELA 2). A redução de área e cicatrização mais precoce em GP evidencia que a pomada comercial é mais efetiva no tempo de redução da área da lesão e na reparação tecidual frente aos méis e ao NaCl 0,9%.

Nos grupos GC, GP, GCu e GLa houve redução da área em D4, quando comparado à D2. No GC houve diminuição em mais da metade do tamanho em comparação à D2, sendo uma redução maior do que no GP nestes dias. A diminuição da área da lesão com aplicação de NaCl 0,9% deve-se à manutenção da umidade necessária no leito da ferida, favorável à cicatrização (LOSS, 2013).

TABELA 2 - Avaliação macroscópica em mm² da área da lesão durante o processo de cicatrização por segunda intenção em feridas de ratos Wistar tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada comercial à base de fibrinolisina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel assa-peixe (GAp), mel cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranja (GLa):

	D2	D4	D7	D10	D14	p
GC	1,2181 ± 0	0,4439 ± 0	0,1488 ± 0	0,0206 ± 0*	0 ± 0	0,010
GP	0,5460 ± 0	0,4452 ± 0	0,1336 ± 0*	0 ± 0*	0 ± 0	0,010
GAp	0,5079 ± 0,11	0,5650 ± 0,24	0,2154 ± 0,05	0,0229 ± 0,03	0 ± 0	0,067
GCu	0,6439 ± 0,11	0,3356 ± 0,04	0,2672 ± 0,13	0,0415 ± 0,03	0 ± 0	0,067
GEu	0,5510 ± 0,22	0,6187 ± 0,22	0,2988 ± 0,08*	0,0187 ± 0,03*	0 ± 0	0,038
GLa	0,5585 ± 0,16	0,5009 ± 0,04	0,3120 ± 0,23	0,0062 ± 0,01*	0 ± 0	0,267
p	0,310	0,078	0,166	0,351	-	

* diferente de D2 (p < 0,05). FONTE: O Autor (2018).

No GCu houve maior redução do tamanho em D4 quando comparado ao GP, mostrando que o mel de cipó-uva reduziu mais a área da lesão do que a pomada

nos primeiros quatro dias. Já no GLa, a redução da área da lesão foi menor de D2 para D4 quando comparada aos grupos controle do experimento.

Entre D4 e D7, em GC e GP reduziram a área da lesão em mais da metade, sendo que houve diferença significativa em GP. No GCu e GLa a redução da área da lesão foi menor entre D4 e D7 quando comparas às coletas anteriores (entre D2 e D4), mostrando que esses méis atuaram mais efetivamente nos primeiros dias após o início da lesão.

Nos grupos GAp e GEu houve discreto aumento da área em D4 para posterior redução a partir de D7. É possível que tal aumento seja devido à maior formação de crostas nesses grupos. Na fase de proliferação da cicatrização, em 24 a 48 horas após a lesão, células epiteliais movem-se da borda da ferida ao longo da derme abaixo da superfície da crosta produzindo uma fina camada epitelial que fecha a ferida (KUMAR et al., 2010). Isso justifica que nesses grupos, apesar do aumento da área da lesão em D4 por conta de suas crostas mais evidentes, o tempo necessário à completa cicatrização foi o mesmo que nos outros grupos tratados com mel.

Diferente desse estudo, Minateli (2015) observou uma redução significativa na área das lesões tratadas com extratos de assa-peixe em diferentes concentrações aos quatro e sete dias após a confecção da lesão cutânea em ratos.

Em D10, o GC apresentou redução significativa em comparação à D7. No GP já não haviam sinais macroscópicos de lesão. Nos GCu e GLa, houve diminuição em relação à D7, destacando que GLa apresentava a menor área da lesão dentre os grupos tratados com mel.

O mel de laranja é rico em vitamina C, oriunda da fonte floral, que apoia a migração de fibroblastos e a deposição de colágeno para a área da lesão durante a etapa de proliferação da cicatrização (MANELA-AZULAY et al., 2003; FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008; PEREIRA e CASTRO, 2010; CIAPPINI, 2013; AHMED et al., 2018). Sendo assim, a presença da vitamina C no mel de laranja pode explicar a redução da área da lesão.

Dentre os grupos tratados com méis, o GEu foi o que mais se destacou, pois apesar do aumento em D4, foi o único grupo que apresentou reduções significativas, em D7 e D10. O eucalipto possui maior atividade antioxidante quando comparado à outros méis e isso pode influenciar na redução da área da ferida (MUNOZ JAUREGUI et al., 2014). A ação antioxidante do mel de eucalipto decorre de altos níveis de ácidos fenólicos e flavonoides que modulam a resposta inflamatória e

pode, inclusive, beneficiar a cicatrização de ratos com diabetes induzida (GONZÁLEZ, 2016).

7.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

7.3.1 Inflamação aguda e necrose

Observou-se inflamação aguda até D7 nos grupos GP, GAp, GEu e GLa e até D10 em GC e GCu (TABELA 3). Dentre os méis testados, o mel de assa-peixe e o mel de laranjeira foram os mais eficientes no controle da inflamação (FIGURA 2). Notou-se necrose até D7 no GP, GAp, GEu e GLa e até D10 no GC e GCu (FIGURA 3). O mel de cipó-uva foi o tratamento que menos controlou a inflamação e a necrose.

TABELA 3 - Avaliação histopatológica do escore de inflamação aguda e necrose de feridas de ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental e tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada à base de fibrinolizina, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel de assa-peixe (GAp), mel de cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa); dois (D2), quatro (D4), sete (D7), 10 (D10), 14 (D14), 21 (D21) e D30 dias após a confecção da ferida cirúrgica.

Inflamação							
Grupo	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	3	3	2	1	0	0	0
GP	4	2	2	0	0	0	0
GAp	4	2	1	0	0	0	0
GCu	3	2	2	1	0	0	0
GEu	2	3	2	0	0	0	0
GLa	3	3	1	0	0	0	0

Necrose							
Grupo	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	3	3	2	1	0	0	0
GP	1	4	1	0	0	0	0
GAp	3	2	1	0	0	0	0
GCu	3	2	2	1	0	0	0
GEu	2	3	1	0	0	0	0
GLa	2	3	1	0	0	0	0

Sendo: 0 - Ausente; 1 - Leve; 2 - Moderado; 3 - Acentuado; 4 - Severo.

Os efeitos terapêuticos assa-peixe já são conhecidos para o tratamento de feridas, pois esta planta possui ação anti-inflamatória (LORENZI e MATOS, 2008; PEREIRA e CASTRO, 2010; MINATELI, 2015) por conta dos flavonoides que contribuem com a reparação tecidual (ARAÚJO, 2010). A narigenina é o flavonoide

mais abundante no assa-peixe (PEREIRA e CASTRO, 2010) e sua ação anti-inflamatória diminui o recrutamento de macrófagos e neutrófilos em córneas de camundongos, o que também reduz a necrose tecidual (OGUIDO et al., 2017). Além disso, o mel de assa-peixe também apresenta bom controle da necrose devido à alta concentração de ácido gálico (PEREIRA e CASTRO, 2010) que possui ação adstringente (HELENO, 2015) e de açúcares que favorecem a atividade osmótica (WIESE, 1986).

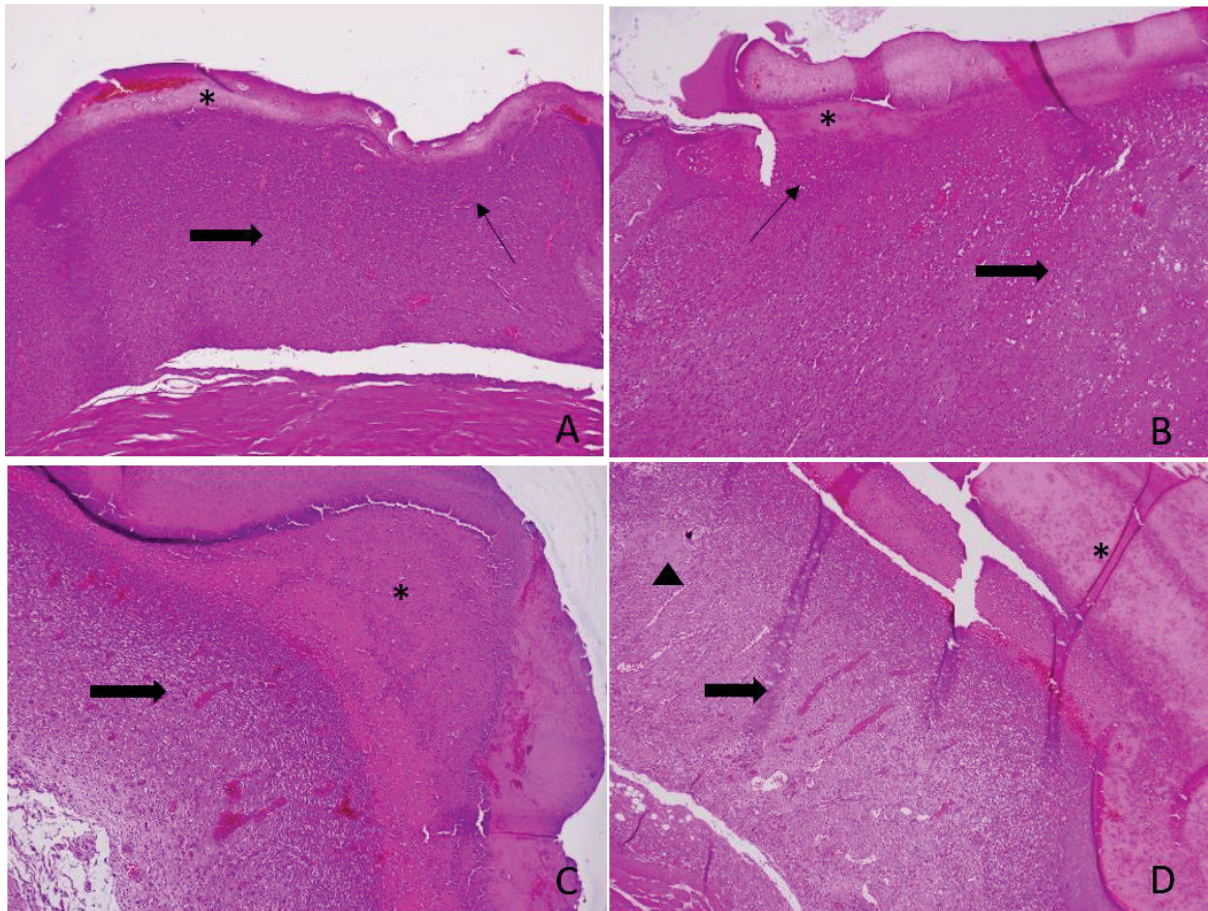


FIGURA 2 –Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-peixe (GAp), cipó-uva (GCu), eucalipto (GEu) ou laranjeira (GLa) sete dias (D7) após a confecção da ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), nota-se descontinuidade da epiderme com presença de restos celulares e hemorragia sobre a superfície da lesão (Asterisco). Abaixo da crosta observa-se intensa inflamação aguda (Seta fina) seguida de tecido de granulação jovem e discreta fibroplasia (seta grossa) , HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel mel cipó-uva (GCu), na superfície da lesão nota-se moderada deposição de material necrótico (Asterisco) acompanhada de infiltrado neutrofilico (inflamação aguda) (seta fina) e tecido de granulação (seta grossa), HE, 20X. C) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), observa-se intensa necrose supercificial (asterisco) associada a inflamação aguda e moderada formação de tecido de granulação (seta grossa), HE, 20X. D) Pele de Rato Wistar tratada com mel laranjeira (GLa), há grande deposição de tecido necrótico na superfície do tecido ulcerado (asterisco), com fibroplasia (cadeça de seta) leve associada ao tecido de granulação acentuado (seta grossa), HE, 20X.

Dentre os flavonoides presentes na laranjeira destaca-se a nobiletina que também já foi associada ao controle da inflamação (MILIND e DEV, 2012). O mel de laranjeira possui elevada quantidade de vitamina C, considerado um potente antioxidante (FRANCESCHINI FILHO, 2004; LORENZI e MATOS, 2008; PEREIRA e CASTRO, 2010; CIAPPINI, 2013). Outros compostos em abundância neste mel são a narigenina e hesperidina, que também possuem atividade anti-inflamatória e antioxidante (LORENZI e MATOS, 2008; MILIND e DEV, 2012).

Diversos estudos relatam elevada ação antioxidante no eucalipto e no mel de eucalipto (GUIMARÃES, 2009; ANJO e SEREIA, 2014; CIAPPINI 2013) devido aos altos índices de extratos fenólicos dessa planta. O efeito antioxidante do eucaliptol possivelmente tenha influenciado positivamente no controle da inflamação e da necrose no grupo tratado com mel de eucalipto. Ademais, o ácido gálico possui atividade adstringente e é o principal ácido fenólico presente no mel de eucalipto (YAO et al., 2004; HELENO, 2015). Além disso, a concentração de açúcares no mel de eucalipto varia de 35% a 45%, considerada alta quando comparada a outros méis (WIESE, 1986). Esse alto teor de açúcar influencia diretamente a atividade osmótica do produto e, conseqüentemente, aumenta seu poder de desbridamento.

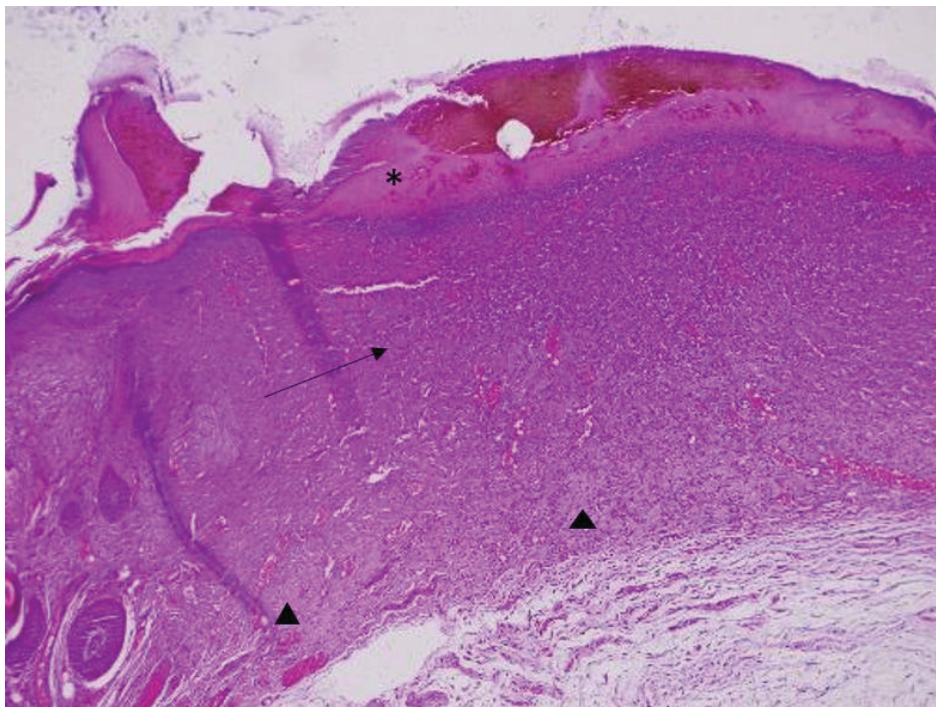


FIGURA 3 - Fotomicrografia de pele em rato Wistar submetido à confecção de ferida experimental tratada com o mel de cipó-uva (GCu) por 10 dias (D10). Nota-se leve crosta tecidual (asterisco) sobre a área de ulceração. Abaixo, na derme, há moderada produção de tecido de granulação maduro (seta) com fibroplasia leve (cabeça de seta), HE, 4X.

7.3.2 Tecido de granulação, fibroplasia e reepitelização

O mel promove a formação de tecido de granulação e reepitelização saudáveis devido ao peróxido de hidrogênio formado e ao pH ácido deste produto, que promovem a acidificação do meio e liberam oxigênio para as células e tecidos (PRATA et al., 1988; ARCHER et al., 1990; MOLAN, 1999; BAZONI, 2012). A baixa quantidade de oxigênio na ferida é prejudicial para a síntese de colágeno pelos fibroblastos (ARAÚJO, 2010).

A literatura afirma que o mel estimula do tecido de granulação e a contração da ferida em ratos através do aumento no número de fibroblastos (AL-WAILI, 2011; OLADEJO et al., 2003).

Verificou-se presença do tecido de granulação desde D2 em GP, GCu e GLa e a partir de D4 em GC, GAp e GEu (TABELA 4). Estudos evidenciam a formação deste tecido a partir de 4 a 14 dias de confecção da ferida cirúrgica (ALJADY, et al., 2000; IFTIKHAR at el., 2009; EYAREFE, et al. 2017; VIEIRA, 2018). Nitz (2006) comenta a formação deste tecido inicia dentro de 3 a 5 dias após a lesão.

Aljady et al. (2000) que testou o mel da Malásia na cicatrização de ratos, afirma que este produto aumentou o conteúdo de colágeno do tecido de granulação em relação ao controle. Os autores ainda afirmam que no quarto dia após a cirurgia, não houve diferença entre o grupo tratado e o controle. Em contrapartida, as diferenças foram significativas nos dias 8 e 12 e altamente significativo no dia 16, com vantagem para o grupo tratado. Sanchez-Neto (1993) e Nitz (2006) afirmam que a concentração de fibroblastos tem seu pico no sétimo dia, apresentando então o decréscimo, sendo assim, também ocorre a diminuição do tecido de granulação. Em ratos tratados com mel de acácia, verificaram-se aumentos na área de epitelização, na contração da ferida, na força tênsil da pele e no tecido de granulação (IFTIKHAR at el., 2009).

Para Santos et al. (2012), o tecido de granulação no grupo tratado com mel apresentou a formação do tecido de granulação apenas no sétimo dia após a confecção da ferida, formação tardia quando comparada a este estudo.

Osuagwu et al. (2004) notaram um aumento do tamanho tecido de granulação em feridas tratadas com mel.

Dentre os grupos tratados com mel, o GEu apresentou a formação de tecido de granulação mais intensa e no CCu observou-se o menor grau desse tecido. A

formação do tecido de granulação foi máxima em D7, independentemente do mel utilizado (FIGURA 2). Em seu estudo, Eyarefe et al. (2017) verificaram o potencial de cicatrização em feridas por eletrocautério e por lâmina de bisturi tratadas com mel plurifloral em ratos albinos e observaram que a formação do tecido de granulação foi máxima no sétimo dia em grupos não tratados, sendo que neste estudo, o GC (grupo controle negativo) obteve maior formação deste tecido apenas no décimo dia. Os autores observaram ainda que o grupo tratado com mel teve menor formação do tecido de granulação quando comparado ao controle.

TABELA 4 - Avaliação histopatológica de escore de tecido de granulação, fibroplasia e reepitelização de feridas de ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental e tratados com NaCl 0,9% (GC), pomada à base de fibrinolisinase, desoxirribonuclease e cloranfenicol (GP), mel de assa-peixe (GAp), mel de cipó-uva (GCu), mel de eucalipto (GEu) ou mel de laranjeira (GLa); dois (D2), quatro (D4), sete (D7), 10 (D10), 14 (D14), 21 (D21) E D30 dias após a confecção da ferida cirúrgica.

Tecido de granulação							
Grupo	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	0	1	2	3	2	1	0
GP	1	1	2	2	1	1	0
GAp	0	2	3	1	0	0	0
GCu	1	2	2	2	1	0	0
GEu	0	3	4	0	0	0	0
GLa	1	2	4	1	0	0	0

Fibroplasia							
Grupo	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	0	1	2	3	3	4	4
GP	3	3	3	4	4	4	4
GAp	0	1	2	4	4	2	2
GCu	0	1	1	1	3	1	0
GEu	0	3	3	2	4	2	1
GLa	0	2	2	2	4	2	0

Reepitelização							
Grupo	D2	D4	D7	D10	D14	D21	D30
GC	A	A	P	C	C	C	C
GP	A	A	P	P	C	C	C
GAp	A	A	P	C	C	C	C
GCu	A	A	A	A	C	C	C
GEu	A	A	A	C	C	C	C
GLa	A	A	A	P	C	C	C

Sendo: 0 - Ausente; 1 - Leve; 2 - Moderado; 3 - Acentuado; 4 - Severo. Legenda para reepitelização: A - Ausente; P - Parcial; C - Completa.

A fibroplasia inicia entre o terceiro ou quarto dia após a lesão tecidual, quando os fibroblastos surgem por quimiotaxia através da liberação de mediadores

inamatórios e se depositam na rede de fibrina (CAMARGO, 2013; LOSS, 2013). Por meio de processos intra e extracelulares, os fibroblastos sintetizam e secretam o colágeno que é o principal componente estrutural da cicatriz (OLADEJO, et al., 2003). Concomitante à fibroplasia ocorre intensa proliferação vascular, contração da ferida e início da reepitelização (JONES, 2000; LOSS, 2013). Porém, Osuagwu et al. (2004) não notaram diferença significativa na contagem de fibroblastos entre seu grupo controle e o tratado com mel.

Neste estudo o processo de fibroplasia iniciou em D2 no GP e em D4 nos demais grupos (FIGURA 4). Houve fibroplasia mais pronunciada em GAp, GEu e GLa. O grau máximo de fibroplasia foi observado em D10 no GAp e GP; D14 no GEu e GLa; e em D21 no GC. Para Eyarefe et al. (2017) as feridas tratadas com mel mostraram um nível mais alto de epitelização e os vasos sanguíneos regrediram mais rapidamente, no quinto e sétimo dia, mostrando uma fibroplasia mais evidente do que no grupo controle. Em comparação a este estudo, pode-se afirmar que o uso dos méis de assa-peixe, eucalipto e de laranjeira não aceleram o início do processo de fibroplasia, mas maximizaram este evento mais precocemente do que o GC. Durante a fibroplasia há uma crescente produção de colágeno até 21 dias, quando ocorre homeostase e equilíbrio entre a síntese e a degradação deste componente (VIEIRA, 2018).

Nos dois grupos controle deste estudo, GC e GP, observou-se fibroplasia severa até D30, sendo um período mais prolongado aumentando o risco de formação de cicatriz hipertrófica. Cicatrizes hipertróficas consistem em cicatrizes elevadas, tensas e confinadas às margens da lesão original e ocorrem a partir de hiperproliferação de fibroblastos, com conseqüente acúmulo de matriz extracelular, especialmente pela excessiva formação de colágeno. Com freqüência tendem à regressão espontânea, vários meses após o trauma inicial (FERREIRA e ASSUMPÇÃO, 2006).

O assa-peixe possui a narigenina como composto mais abundante (PEREIRA e CASTRO, 2010) e este flavonoide mostrou ação anti-inflamatória e antioxidantes em córneas de ratos com queimaduras alcalinas induzidas (OGUIDO, et al., 2017). Minateli (2015) estudou os efeitos dos extratos de assa-peixe em feridas em ratos Wistar e observou os primeiros sinais de reepitelização da ferida no quinto dia após a confecção da ferida. Com sete dias de tratamento a autora observou aumentos da

proliferação de colágeno e fibroblastos e com 14 dias as feridas estavam cicatrizadas, concluindo o benefício à cicatrização.

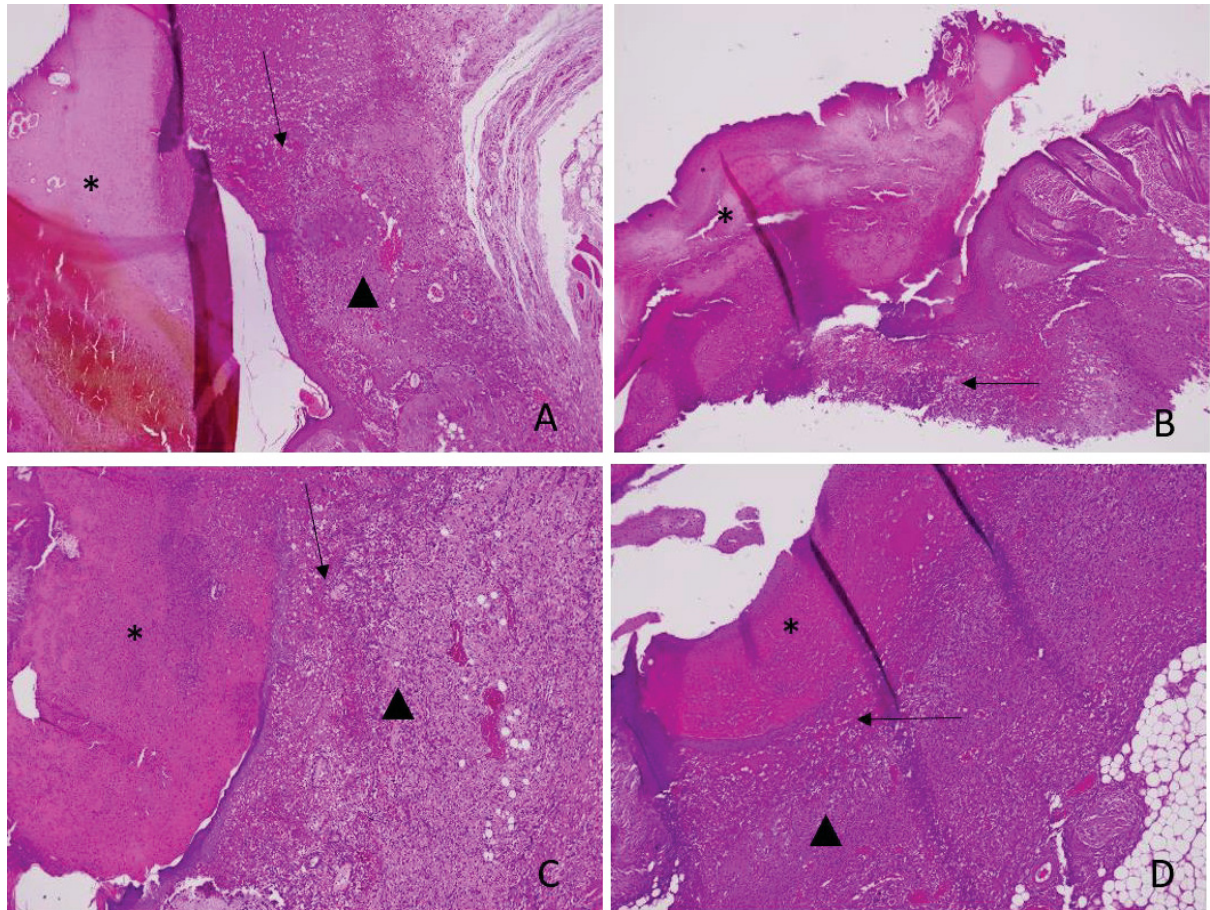


FIGURA 4 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-peixe (GAp), cipó-uva (GCu), eucalipto (GEu) ou laranjeira (GLa) quatro dias (D4) após a confecção da Ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), observa-se uma intensa formação de crosta superficial (asterisco) com necrose e inflamação aguda do tecido adjacente (seta). Nota-se leve proliferação de tecido de granulação jovem (cabeça de seta), HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel cipó-uva (GCu), recobrendo a epiderme lesionada há uma grande crosta (asterisco) com necrose da derme superficial e media adjacente. Associado ao local de lesão observa-se infiltrado inflamatório agudo e hemorragia tecidual (seta), HE, 4X. C) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), nota-se necrose acentuada (asterisco) recobrendo a área da ferida com a derme superficial repleta de infiltrado inflamatório agudo (seta) e produção discreta de tecido de granulação (cabeça da seta), HE, 4X. D) Pele de Rato Wistar tratada com mel laranjeira (GLa), a necrose superficial é moderada (asterisco) assim como a infiltração de células inflamatórias (seta). Nota-se discreta formação de tecido de granulação jovem (cabeça de seta), HE, 4X.

O ácido gálico presente no eucalipto regula a proliferação e estimulação da angiogênese, auxiliando no processo de reparação da cicatrização (HELENO, 2015). Velmurugan et al. (2014) constatou que o eucalipto estimulou a regeneração tecidual de ratos Wistar através do aumento de fibroblastos e angiogênese e atribuiu esse efeito aos flavonoides, ácidos fenólicos e ao tanino presente na planta.

A vitamina C presente no mel de laranja é um cofator na biossíntese do colágeno, fundamental na fase de proliferação que ocorre na cicatrização das feridas (MANELA-AZULAY et al., 2003, ARAÚJO, 2010). Além disso, este antioxidante apoia a proliferação e migração de fibroblastos (AHMED et al., 2018). A hesperidina encontrada em citrinos (MILIND e DEV, 2012) também atua na cicatrização de feridas cutâneas em ratos (ARAÚJO, 2010).

Normalmente, a reepitelização inicia entre o quinto e o sétimo dia após confecção de ferida cirúrgica em ratos Wistar (LOSS, 2013; MINATELI, 2015; EYAREFE et al., 2017). A literatura mostra que o mel acelera a maturação do colágeno e epitelização de feridas em ratos (SUGUNA et al., 1993).

No presente estudo observou-se que o processo de reepitelização se iniciou em D7 no GC, GP e GAP; em D10 no GEu e GLa; e em D14 no GCu. Lin (2003) que estudou a ação da IL-6 em ratos selvagens, afirma que a taxa de reepitelização foi de aproximadamente 80% aos 6 dias após a lesão e concluída com 10 dias em seu grupo controle, mais tardia do que no grupo controle deste estudo.

Verificou-se reepitelização completa em D10 no GC, GAP e GEu (FIGURA 5) e em D14 no GP, GCu e GLa (FIGURA 6). Portanto, o uso dos méis de assa-peixe e eucalipto aceleraram tal processo e mostraram vantagem sobre o grupo controle positivo do experimento. A reepitelização se completa após 21 dias do pós-operatório (PESSOA et al., 2012; ESTEVÃO, et al., 2013), sendo que a presença de tecido de granulação abundante prejudica a reepitelização (VIEIRA, 2018), como visto neste estudo onde o tratamento com mel de cipó-uva mostrou um tempo mais prolongado em relação aos outros méis sendo moderado em D10, e, conseqüentemente, a reepitelização ausente no mesmo dia de coletas.

Apesar de já haver cicatrização completa na avaliação macroscópica, ainda havia processo cicatricial em curso em GC, GP, GAP e GEu, corroborando Loss (2013) que cita evolução da reparação tecidual até 15 dias. Vieira (2018) constatou a reepitelização completa no grupo controle com 14 dias. Alves et al. (2008) avaliaram cicatrização de ratos tratados com mel de abelha *Melipona subnitida* e determinaram a epitelização para confirmar a cicatrização completa, sendo que este fenômeno ocorreu cerca de 14 dias após a confecção das feridas.

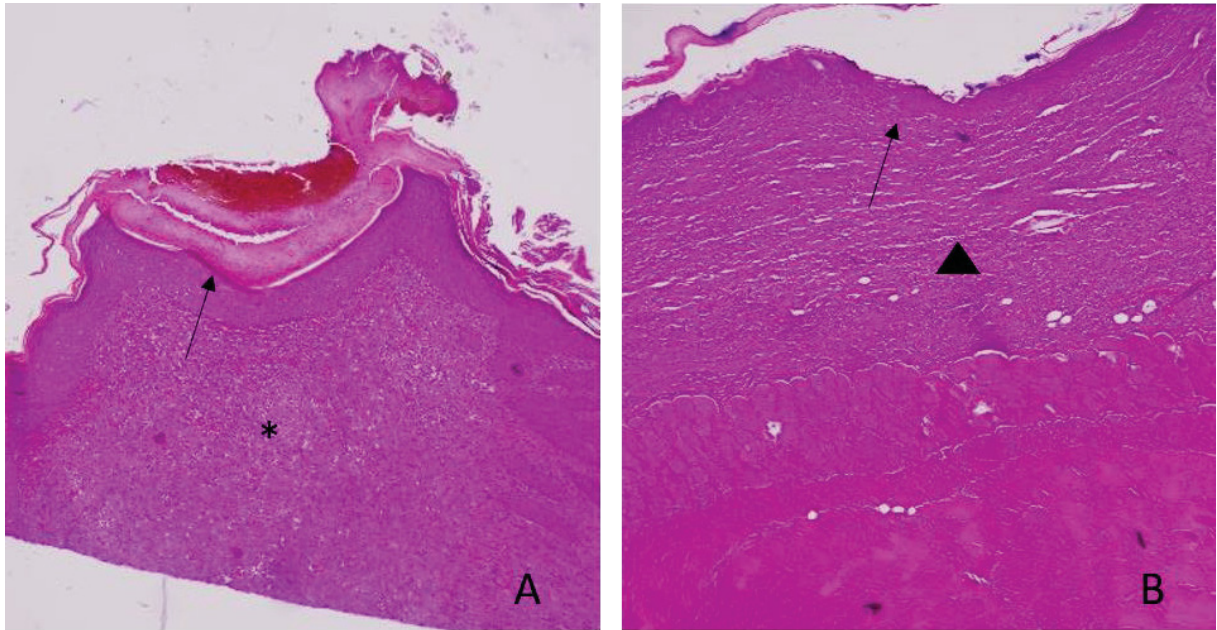


FIGURA 5 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis assa-peixe (GAp) e eucalipto (GEu) 10 dias (D10) após a confecção da ferida. A) Pele de Rato Wistar tratada com mel assa-peixe (Gap), Nota-se reepitelização completa da epiderme (seta) com acentuado tecido de granulação da derme (asterisco), HE, 4X. B) Pele de Rato Wistar tratada com mel eucalipto (GEu), observa-se a reepitelização completa da epiderme (seta) e a fibroplasia acentuada na derme (cabeça de seta), HE, 4X.

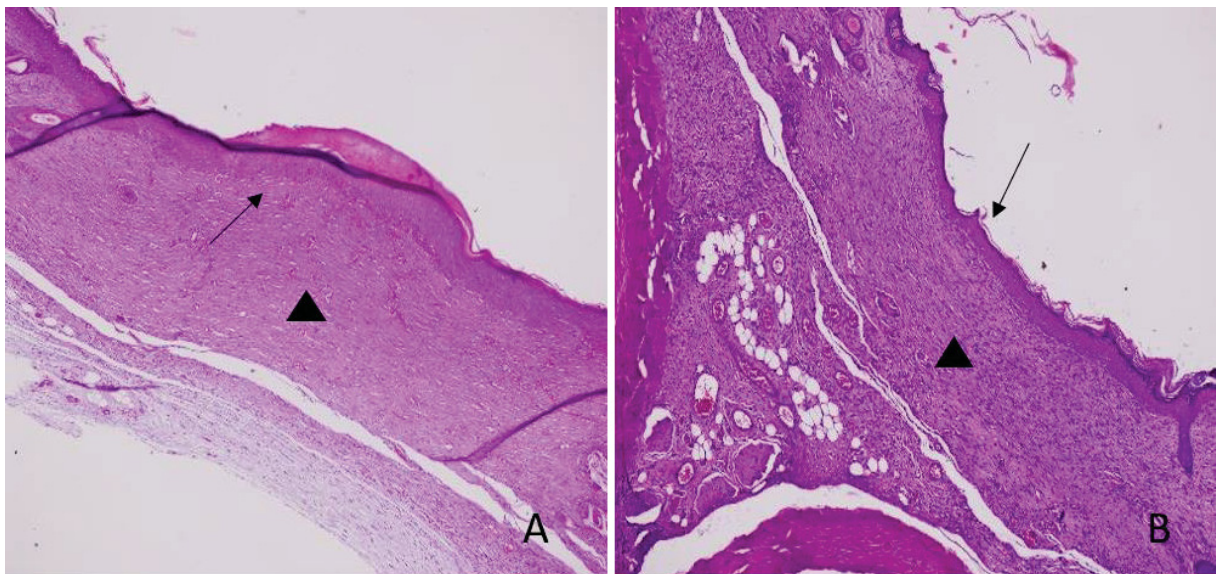


FIGURA 6 - Fotomicrografias de pele em ratos Wistar submetidos à confecção de ferida experimental tratados com os méis de cipó-uva (GCu) e laranja (GLa) 14 dias (D14) após a confecção da ferida.

Santos et al. (2012) que avaliaram mel e açúcar mascavo nas feridas de ratos albinos, perceberam oclusão da ferida com 16 dias no tratamento com mel e 21 dias no grupo controle. Velmurugan et al. (2014) constataram reepitelização completa 13 dias após a confecção das feridas em ratos tratados com eucalipto.

Todos os méis utilizados apresentam boa capacidade antioxidante, o que auxilia na proliferação e migração de fibroblastos e na função mitocondrial, favorecendo a cicatrização (AHMED et al., 2018).

Vieira (2018) e Loss (2013) perceberam que mesmo quando as feridas se apresentavam macroscopicamente cicatrizadas, a microscopia revelou presença de angiogênese, provando que ainda havia a etapa de proliferação do processo cicatricial em curso. Neste estudo, mesmo nos grupos que apresentaram a reepitelização completa, ainda havia a presença de fibroplasia, mostrando a sobreposição dos eventos. Pode-se observar que enquanto havia tecido de granulação nos grupos, a reepitelização era mínima ou ausente, corroborando com Vieira (2018) que afirma que a reepitelização era ausente enquanto o tecido de granulação foi observado e com sete dias iniciou-se a mudança nesses eventos.

Dessa forma, pode-se perceber que o uso dos méis em feridas pode interferir no processo cicatricial, mas ocorrem variações conforme a fonte floral. Nos grupos GAp e GEu observaram-se melhores resultados, pois além de apresentarem menores escores de inflamação e necrose, apresentaram fibroplasia acentuada e reepitelização precoce.

7.4 AVALIAÇÃO ANITIMICROBIANA

A ação antibacteriana de méis varia conforma a fonte floral e o método de difusão em ágar é considerado o método mais apropriado para testar o potencial antimicrobiano de tais produtos (BAZONI, 2012). O efeito antibacteriano do mel é atribuído ao seu pH ácido, efeito osmótico dos açúcares e produção de peróxido de hidrogênio pela enzima glicose-oxidase. Outras substâncias também suportam a atividade antibacteriana, como os flavonoides, ácidos fenólicos e lisozima (BAZONI, 2012; AHMED et al., 2018). A hiperosmolaridade decorrente da alta concentração de açúcares do mel desidrata microorganismos e a baixa atividade da água evita o crescimento bacteriano (MOLAN, 2012). Além disso, este produto tem pH entre 3 e 4 de acordo com a florada de origem e essa acidez prejudica o crescimento bacteriano (BAZONI, 2012; NORDIN et al., 2017). O peróxido de hidrogênio formado pela enzima glicose-oxidase tem capacidade de destruir bactérias anaeróbicas (LOSS, 2013).

Diluições a 10%, 25% ou 50% dos méis não foram eficazes contra nenhuma das culturas bacterianas testadas (TABELA 5).

O mel de assa-peixe a 75% foi eficaz contra *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 19095[™], 25923[™] e 29213[™]) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC[®] 12228[™]) e a 100% também inibiu o crescimento de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™]. Tal mel não foi efetivo contra *Escherichia coli* ATCC[®] 8739[™].

O mel de cipó-uva a 75% atuou contra *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] e a 100% também foi eficaz contra *Staphylococcus aureus* (ATCC[®] 19095[™] e 29213[™]) e *Staphylococcus epidermidis* (ATCC[®] 12228[™]). Tal mel não impediu o crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923[™] e *Escherichia coli* ATCC[®] 8739[™].

O mel de laranjeira a 75% impediu o crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 19095[™] e de *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™] e a 100% também inibiu *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923[™], *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 29213[™], *Staphylococcus epidermidis* ATCC[®] 12228[™] e *Escherichia coli* ATCC[®] 8739[™].

O mel de eucalipto a 75% controlou o crescimento de *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 29213[™]. A 100% atuou contra *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 19095[™], *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923[™], *Staphylococcus epidermidis* ATCC[®] 12228[™], *Escherichia coli* ATCC[®] 8739[™] e *Escherichia coli* ATCC[®] 25922[™].

Nenhum dos méis ou diluições testadas apresentaram atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 27853[™], diferente de Bazoni (2012) que observou atividade antimicrobiana do mel de assa-peixe, cipó-uva e eucalipto contra *P. aeruginosa*. Assim, sugere-se que as propriedades terapêuticas dos méis não variam somente conforme a fonte floral, mas também sofre alterações entre floradas, regiões de obtenção e técnicas de industrialização (ANVISA, 1978; PEREIRA e REIS, 2015). Adicionalmente, um estudo com mel de manuka e mel silvestre em concentração menor que 10% mostrou sensibilidade em cepas de *P. aeruginosa* isoladas de queimaduras (COOPER et al., 2002).

TABELA 1 - Diâmetro do halo, em milímetros, observado nos testes de difusão em ágar de méis monoflorais de assa-peixe, cipó-uva, eucalipto e laranjeira em diferentes concentrações em ágar Muller-Hinton semeado com cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*:

Mel	Cepa bacteriana	Diluição do mel				
		10%	25%	50%	75%	100%
Assa-peixe	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 19095™	0	0	0	13	15
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	0	0	0	8	10
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	0	0	0	6	11
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228™	0	0	0	7	14
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739™	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	0	0	0	0	9
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC™ 27853™	0	0	0	0	0
Cipó-uva	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 19095™	0	0	0	0	12
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	0	0	0	0	8
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228™	0	0	0	0	10
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739™	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	0	0	0	8	9
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC™ 27853™	0	0	0	0	0
Eucalipto	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 19095™	0	0	0	0	12
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	0	0	0	0	10
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	0	0	0	8	13
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228™	0	0	0	0	12
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739™	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	0	0	0	0	10
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC™ 27853™	0	0	0	0	0
Laranjeira	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 19095™	0	0	0	12	15
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923™	0	0	0	0	11
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213™	0	0	0	0	14
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC® 12228™	0	0	0	0	15
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739™	0	0	0	0	8
	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922™	0	0	0	10	10
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC™ 27853™	0	0	0	0	0

8 CONCLUSÃO

Os méis de assa-peixe, cipó-uva, de laranjeira ou de eucalipto, que são os principais monoflorais disponíveis no Brasil, tem potencial cicatrizante e antimicrobiano.

In vivo, tais méis inibem a formação de edema e infecção e tornam transitória a presença de crostas. Os méis de laranjeira e de eucalipto reduzem a área da ferida. Os méis de assa-peixe, eucalipto ou laranjeira reduzem a inflamação e a necrose e, otimizam a formação do tecido de granulação, a fibroplasia e a reepitelização.

In vitro, esses méis monoflorais não diluídos impedem o crescimento dos principais agentes bacterianos presentes na pele, com destaque ao mel de laranjeira no controle contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S. et al. Honey as a Potencial Natural Antioxidante Medicine: Na Insight into its Molecular Mechanisms of action. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2018/8367846>> Acesso em: 18 out. 2018.
- AHMED, S.; OTHMAN, N.H. Review of the medicinal effects of tualang honey and a comparison with manuka honey. **The Malaysian Journal of Medical Sciences**, v.20, n.3, p.6–13, 2013.
- ALJADY A. M. et al. Biochemical study on the efficacy of malaysian honey on inflicted wounds: an animal model. **Medical Journal of Islamic Academy of Sciences**, v. 13, n.3, p.125-132, 2000.
- ALMEIDA, G.L. et al. Rendimento, atividade antioxidante e quantificação de metabólitos secundários em extrato aquoso de *Serjania marginata* casar. **1º Simpósio Científico sobre Recursos Naturais**. 2017.
- ALVES, D.F.S. et al. Efeitos da aplicação tópica do mel de Melipona subnitida em feridas infectadas de ratos. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 35, n.3, p. 188-193, 2008.
- AL-WAILI, N. et al. Honey for Wound Healing, Ulcers, and Burns; Data Supporting Its Use in Clinical Practice. **The Scientific World Journal**, v.11, p.766–787, 2011.
- ANJO, F.A.; SEREIA, M.J. **Caracterização e uso do mel de abelhas africanizadas na elaboração de hidroméis**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/300410124_Caracterizacao_de_Mel_de_Abelhas_Africanizadas_Provientes_de_Pequenas_Propriedades_Rurais_na_Elaboracao_de_Hidromeis?enrichId=rgreq-48312bf4de6b9fa82aa40b17629a33e2-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzMwMDQxMDEyNDtBUzo0OTg3NTY5MDc3NDkzNzZAMTQ5NTkyNDMyMTk3NQ%3D%3D&el=1_x_2&_esc=publicationCoverPdf
- ANVISA. **Resolução - CNNPA nº 12, de 1978**. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78_mel.htm Acesso em: 03 mar 2018.

- ARAÚJO, G.L. **Estudo de formulações de fitoderivados e flavonoides na inflamação e cicatrização de feridas em coelhos**. 2010. 114 f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. 2010. Disponível em: <http://www.locus.ufv.br/handle/123456789/301> Acesso em: 11 nov. 2018.
- ARCHER, H. et al. A controlled model of moist wound healing: comparison on between semi-permeable film, antiseptics and sugar paste. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v.71, suplemento 1, p. 155-170, 1990.
- ARRUDA, A.P.C.C.B.N. et al. Gastroprotetive effect of *Serjania erecta* Radlk (Sapindaceae): Involvement of Sensory Neurons, Endogenous Nonprotein Sulfhydryls and Nitric Oxide. **Journal of Medicinal Food**. v.12, n.6. p. 1441-1415. 2009.
- MANELA-AZULAY, M. et al. Vitamina C. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v. 78, n.3, p. 265-272. Rio de Janeiro Jun. 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-05962003000300002&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 07 set. 2018.
- BAZONI, M.O. **Atividade antimicrobiana dos méis produzidos por Apis Melifera e abelhas sem ferrão nativas do Brasil**. 2012. 130 f. Tese (Doutorado) do Programa de Pós-Graduação em Genética. Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto. 2012. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/17/17135/tde-22042013-165316/en.php> Acesso em: 12 set. 2018.
- BLANCK, M. **Fisiopatologia das feridas**. 2008. Disponível em: <https://docplayer.com.br/5705787-Fisiopatologia-das-feridas.html>
- BLANES, L. **Tratamento de feridas**. 2004. Disponível em: <http://bapbaptista.com.br/feridasLeila.pdf> Acesso em: 09 jun. 2017.
- BRASILEIRO FILHO, G. **Patologia Geral**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.75-80.
- CAMARGO, F.F. **Efeito do plasma rico em plaquetas e da fibrina rica em plaquetas na cicatrização de feridas cutâneas em ratos**. 2013. 184 f. Dissertação (Mestrado) do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2013. Disponível em: <http://tede2.pucrs.br/tede2/handle/tede/1750> Acesso em: 13 dez. 2018.

- CIAPPINI, M.C. et al. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. **Revista de Ciencia e Tecnología**, v.15. n.19, p.45-51, 2013.
- COOPER, R.A.; MOLAN, P.C.; HARDING, K.G. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. **Journal of Applied Microbiology**, v.93, n.5, p.857–863, 2002.
- DEALEY, C. Wound Management Products. In: *The Care of Wounds: A guide for nurses*. Oxford: Blackwell Science, 1999. p.97.
- EFEM, S.E.E. Clinical observations on the wound healing properties of honey. **British Journal of Surgery**, p.75, n.7, p.679–681, 1988.
- EREJUWA O.O.; SULAIMAN S.A.; WAHAB, M.S. Honey: a novel antioxidant. **Molecules**, v.17, n.12, p.4400–4423, 2012.
- ESTEVIÃO, L.R.M. et al. Effects on aroeira (*Schinus terebinthifolium Raddi*) oil on cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.28, n.3, p.202-209, 2013.
- EYAREFE, D.O. et al. Enhanced electroscalpel incisional wound healing potential of honey in wistar rats. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v.5, n.2, p.128–134, 2017.
- FERREIRA, C.M.; ASSUMPÇÃO, E.A. Cicatrizes hipertróficas e queloides. *Revista Brasileira de Cirurgia Plástica*. 21 (1): 40-48. 2006. Disponível em: <http://www.rbcpc.org.br/details/123/cicatrizes-hipertroficas-e-queloides>. Acesso em: 03/03/2019.
- FIELD. C.K.; KERSTEIN. M.D. Overview of wound healing in a moist environment. **The American Journal of Surgery**, v.167. p.2-6, 1994.
- FRANCESCHINI FILHO, S. *Plantas terapêuticas*. 1ª Edição. São Paulo. Andrei Editora, 2004. 333p.
- GONZÁLEZ, C.V.S. **Avaliação do mel de *Apis mellifera* na cicatrização de feridas cutâneas em camundongos diabéticos**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual. Universidade de São Paulo. 2016.
- GUIMARÃES, R.; SOUSA, M.J.; FERREIRA, I.C.F.R. Diferentes contribuições de óleos essenciais e fenóis para atividade antioxidante de três plantas aromáticas (cedro, esteva, eucalipto). *Fito 2009 – 2º Congresso Iberoamericano de Fitoterapia*. Outubro, 2009.

- HADAGALI, M.D.; CHUA, L.S. The anti-inflammatory and wound healing properties of honey. **European Food Research and Technology**, v.239, n.6, p.1003–1014, 2014.
- HELENO, S. A. et al. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, v.173, p.501–513, 2015.
- HUSSEIN, S. Z. et al. Gelam honey attenuates carrageenan-induced rat paw inflammation via NF- κ B pathway. **Public Library of Science One**, v.8, n.8. Article e72365, 2013.
- HUSSEIN, S.Z. et al. Gelam honey inhibits the production of proinflammatory mediators NO, PGE(2), TNF- α , and IL-6 in carrageenan-induced acute paw edema in rats. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v13, p.1-13. 2012.
- IFTIKHAR, F. et al. Effects of acacia honey on wound healing in various rat models. **Phytotherapy Research**, v.24. p. 583-586, 2009.
- ISAAC, C. et al. Processo de cura das feridas: cicatrização fisiológica. **Revista de Medicina**. v.89, n.3/4, p.125-131, 2010.
- ISRAILI, Z.H. Antimicrobial Properties of Honey. **American Journal of Therapeutics**, v.21, n.4, p.304–323, 2014.
- JONES, T.C.; HUNT R.D.; KING N.W. **Patologia Veterinária**. 6a ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.
- KAMMERLANDER, G. et al. Role of the wet-to-dry phase of cleansing in preparing the chronic wound bed for dressing application. **Jornal of Wound Care**, v. 14, n.8, 2005.
- KOENIG T.; ROH J.L.C. Healing wounds with honey. **Undergraduate Research Journal for the Human Sciences**, v.15, n.1. 2016. Disponível em: <<http://www.kon.org/urc/v15/koenig.html>> Acesso em: 10 ago. 2018.
- LIANDA, R.L.P.; SANTANA, L.D.; ECHEVARRIA, A.; CASTRO, R.N. Antioxidant Activity and Phenolic Composition of Brazilian Honeys and their Extracts. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.23, n.4, p.618-627, 2012.
- LIN, Z.Q. et al. Essencial involvement of IL-6 in the skin wound-healing process as evidenced by delayed wound healing in IL-6 deficient mice. **Journal of Leukocyte Biology**, v.73, n.6, p.713-721, 2003.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil**. 2ª ed. 576 p. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da flora, 2008.

- LOSS, F. R. **Protocolo para estabelecimento de ferida cutânea crônica experimental em ratos Wistar (*Rattus norvegicus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária. Porto Alegre. 2013.
- MANDELBAUM, S.M.; DI SANTIS, E.P.; MANDELBAUM, M.H.S. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares – Parte I. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.78, n.4, p.393-410, 2003.
- MARQUES, A.D.B. et al. O uso do mel no tratamento de feridas de difícil cicatrização: revisão sistemática. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v.1, n.4, p.42-51, 2015.
- MARTINS, N.L.P. et al. Análise comparativa da cicatrização da pele com o uso intraperitoneal de extrato aquoso de *Orbignya phalerata* (Babaçu). Estudo controlado em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), p.66-75, 2006.
- MILIND, P.; DEV, C. Orange: range of benefits. **International Research Journal of Pharmacy**, v.3, n.7, p.59-63, 2012.
- MINATELI, M.M. **Investigação do potencial toxicológico e atividades farmacológicas de *Vernonia polyanthes* LESS (Asteraceae)**. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Juiz de Fora. 2015.
- MOLAN, P.C. Debridement of wounds with honey. **Journal of wound Technology**. v.15. p.12-17. 2009.
- MOLAN, P.C. The nature and composition of honey. In: Molan, P. Home Page: **A directory to the information on honey on this website**. 2012. Disponível em: http://www.academia.edu/2187679/Pdf_5_The_nature_and_composition_of_honey . Acesso em 04/12/2018.
- MOLAN, P.C.; Rhodes T. Honey: a biologic wound dressing. **Wounds**, v.27, n.6, p.141–151, 2015.
- MUNOZ JAUREGUI, A.M. et al. Determination of phenolic compounds, total flavonoids and antioxidant activity in peruvian honey from different flower's sources. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v.80, n.4, p. 287-297, 2014.
- NITZ, A.C. et al. Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: *Coronopu didymus* e *Calendula officinali*. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v.35, n.4, p.74-79, 2006.

- NORDIN, A. et al. Honey and epithelial to mesenchymal transition in wound healing: An evidence-based review. **Wound Medicine**, v.18, p.8–20, 2017.
- OGUIDO, A.P.M.T. et al. As gotas oculares de naringenina inibem a neovascularização da córnea por mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.58, p.5764-5776, 2017.
- OLADEJO, O.W. et al. A comparative study of the wound healing properties of honey and *Ageratum conyzoides*. **African Journal of Medical and Health Sciences**, v.32, n.2, p.193-196, 2003.
- ORYAN, A.; ZAKER, S.R. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. **Journal of Veterinary Medicine Series**, v.45, p.181–188, 1998.
- OSUAGWU, F.C. Enhanced wound contraction in fresh wounds dressed with honey in Wistar rats (*Rattus norvegicus*). **West African Journal of Medicine**. v.23, n.2, p.114–118, 2004.
- PERALTA, E.D. **Atividade antimicrobiana e composição química de méis do estado da Bahia**. Tese (Doutorado). Pós-Graduação em Biotecnologia Universidade Estadual de Feira de Santana. 2010.
- PEREIRA, M.A.; CASTRO, R.N. **Perfil cromatográfico das substâncias fenólicas presentes em extratos de mel de assa peixe e avaliação de seu poder antioxidante**. Monografia. Licenciado em Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2010.
- PEREIRA, O.J.R.; REIS, J.M. Estudo Comparativo da Ação Bactericida do Mel sobre *Staphylococcus aureus*. **Ciências em Saúde**, v.5, n.2, 2015.
- PESSOA, W.S. et al. Effects of angico extract (*Anadenanthera colubrina* var. *cebil*) in cutaneous wound healing in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.27, n.10, p.665-670. 2012.
- PRATA, M. Topical use of sugar in wound: experimental study in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.3, p.43-48, 1988.
- SANCHEZ NETO, R. et al. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.8, n.1, p.18-23, 1993.
- SANTOS, I.F.C. et al. Mel e açúcar mascavo na cicatrização de feridas. **Ciência Rural**, v.42, n.12, p. 2219-2224, 2012.

- SILVA, M.H. et al. Manejo clínico de úlceras venosas na atenção primária à saúde. **Acta Paulista de Enfermagem**, v.25, n.3, p.329-333, 2012.
- SONNEWEND, D. et al. O efeito da radiação infravermelho longo e microcorrentes sobre o processo de reparação de feridas em ratos. **VIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação** – Universidade do Vale do Paraíba, 2004.
- SUGUNA, L. et al. Influence of Honey on Biochemical and Biophysical Parameters of Wounds in Rats. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.14, n.2, p.91–99, 1993.
- TAZIMA, M.F.G.S.; VICENTE, Y.A.M.V.A.; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina**, v.41, n.3, p.259-264, 2008.
- TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 532 p.
- VELMURUGAN, C. et al. Wound healing potential of leaves of Eucalyptus citriodoralin. **World Journal of Pharmaceutical Science**, v.2, n.1, p.62-71, 2014.
- VIEIRA, M.G.F. **Aspectos morfológicos e morfométricos de feridas cutâneas em ratos tratadas com extrato hidroalcoólico de ameia-do-mato (*Ximenia americana*) à 10%**. 2018. 59 f. Dissertação (Mestrado). Pós-Graduação em Biociência Animal. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife, 2018. Disponível em: <http://tede2.ufrpe.br:8080/tede/handle/tede2/7260> Acesso em: 12 dez. 2018.
- VIEIRA, S.C.H. **Extratos padronizados para o tratamento de doenças crônicas: *Serjania marginata* Casar. (Sapindaceae)**. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2014.
- WIESE, H. **Nova Apicultura**. 7. ed. Porto Alegre: Agropecuária, 1986. 493 p.
- YAO, L. et al. Phenolic acids and abscisic acid in Australian Eucalyptus honeys and their potential for floral authentication. **Food Chemistry**, v.86, p.169-177, 2004.