

EFEITO DA PROPOLIS MELLIFERA SOBRE O PROCESSO DE REPARO DE LESÕES ULCERADAS NA MUCOSA BUCAL DE RATOS

Effect of Propolis mellifera on the repair process of ulcerated lesions in the buccal mucous of rats

Ana Maria Trindade Grégio¹
Antônio Adilson Soares de Lima²
Marina de Oliveira Ribas³
Andréia Priscila Monteiro Barbosa⁴
Ana Cristina Preto Pereira⁴
Fernando Koike⁵
Carlos Eduardo Palanch Repeke⁵

Resumo

A própolis é um produto resinoso, secretado pelas abelhas *Apis mellifera*. Tem sido utilizada na medicina popular por vários anos, com funções variadas, porém pouco se encontra relatado cientificamente na literatura sobre a própolis. Acredita-se que a própolis tenha várias atividades farmacológicas, dentre elas, destacam-se seus efeitos antimicrobianos, bactericidas, antimicótico, antiinflamatório, adstringente, além dessas alguns autores relatam atividade anestésica e citostática. Este trabalho objetivou verificar a capacidade da própolis no processo de reparo de lesões ulceradas da mucosa bucal de ratos. A própolis parece favorecer o processo de reparo das lesões ulceradas na boca de ratos.

Palavras-chave: Própolis; Cicatrização; Inflamação; Reparação tecidual.

Abstract

Propolis is a balsamic resin polymer made by bees *Apis mellifera*. This substance has been generously used in the dental and medical procedures due to antiinflammatory, healing and antimicrobial properties. The objective of this research was to verify the efficacy of propolis on the healing process of rat ulcerative lesions. The propolis supports the events that induce the healing process of the ulcerative lesions of rats.

Keywords: Propolis; Wounds; Inflammation; Tissue reparation.

¹ Professora titular de Farmacologia da PUCPR; Doutora em farmacologia da UNICAMP. ana.gregio@pucpr.br

² Professor adjunto da Patologia da PUCPR; Mestre em Patologia Oral da UFRN e Doutor em Estomatologia da PUCRS.

³ Professora Titular de CTBMF da PUCPR; Mestre em CTBMF da PUCRS e Doutora em Estomatologia da PUCRS.

⁴ Cirurgião-Dentista pela PUCPR.

⁵ Alunos da graduação em Odontologia da PUCPR. carlos_repeke@hotmail.com, fmkoike@hotmail.com

Introdução

A própolis é uma substância resinosa balsâmica de consistência viscosa e cor variada, fabricada por abelhas (*Apis mellifera* L.), utilizada para esterilizar e impermeabilizar a colméia. Suas propriedades terapêuticas dependem da origem botânica, localização geográfica e procedência, porém sua estrutura microscópica não apresenta diferenças, mesmo sendo de diversas regiões ou diferentes épocas do ano (SANTOS et al., 2003; COUTO, 1996).

Rica em flavonóides, a própolis vem sendo utilizada pelo homem através de séculos, para vários propósitos e especialmente na medicina por causa de suas propriedades antimicrobiana, antifúngica e antiinflamatória (BLONSKA et al., 2004; AL-SHAHER et al., 2004).

Em odontologia, a própolis tem sido utilizada em curativos pré e pós-cirúrgicos, aftas, cândida, herpes labial e higiene oral. Verificouse, ainda, a capacidade anti-séptica e cicatrizante da própolis em vários hospitais, sendo que os resultados foram extremamente positivos

(MUJALLI, 1999; D'AURIA et al., 2003). Martin e Pileggi (2004) relatam a capacidade da própolis na manutenção de células do ligamento periodontal, podendo ser utilizado como solução de preservação em dentes avulsionados e Koo e col. (2002) comprovam a atividade anticariogênica da própolis.

Estudos das últimas décadas atribuem à própolis a melhora no tratamento de queimaduras, cicatrização e ulcerações (MUJALLI, 1999).

Úlceras ou ulcerações são lesões fundamentais caracterizadas pela perda da camada do tecido epitelial, o que torna o tecido conjuntivo subjacente desprotegido e vulnerável às agressões do meio externo. Histologicamente observa-se a ausência do tecido epitelial e o tecido conjuntivo exibe um intenso infiltrado inflamatório que pode variar de agudo a crônico de acordo com o tipo de célula encontrada (DRIESSEN et al., 2003). As úlceras bucais são classificadas como agudas, recorrentes ou crônicas (SILVA et al., 2000).

Este estudo teve como objetivo avaliar histologicamente a ação cicatrizante do extrato alcoólico da própolis sobre úlceras em mucosa oral de ratos, bem como avaliar alterações no tecido conjuntivo e tempo de cicatrização.

Materiais e métodos

Foram utilizados 60 ratos machos da linhagem wistar, pesando aproximadamente 180 gramas, oriundo do Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Os animais foram divididos em dois grupos, denominados de grupo controle e grupo tratado. Os ratos do grupo controle receberam soro fisiológico por meio de administração tópica na mucosa bucal. Os animais do grupo tratado receberam aplicações tópicas do extrato alcoólico de própolis. Os grupos foram separados em subgrupos de seis animais para avaliação nos períodos de 2, 7, 14, 21 e 42 dias de tratamento.

Foram induzidas, quimicamente, lesões ulceradas por meio de aplicação tópica diária de solução de hidróxido de sódio a 40% na mucosa que reveste o dorso da língua na sua porção mais anterior de cada animal, num período de 7 dias. Após a constatação clínica de que ocorreu a formação da lesão ulcerada, a mesma foi, então, tratada diariamente no período da manhã pela aplicação tópica da própolis. A própolis utilizada neste experimento foi coletada na região Sul do Brasil, mais precisamente em Rio Branco do Sul Paraná, após a primavera, retirada de árvores de eucalipto (*Eucalyptus* sp). Após a coleta, o extrato puro foi diluído em álcool etílico P.A. a 30% e acondicionada em vidro âmbar, sendo armazenada em uma temperatura de 5°C.

Decorrido os períodos preestabelecidos de 2, 7, 14, 21 e 42 dias de tratamento, os animais foram devidamente anestesiados com tiopental sódico 100mg/kg e mortos por secção cervical para a realização da biópsia excisional da lesão, posteriormente fixada em formol 10% e incluídos em parafina. Os cortes foram corados por hematoxilinaeosina (HE) para

análise histopatológica em microscópio óptico.

Resultados

Pela análise das lâminas coradas pela técnica da hematoxilina-eosina observou-se que, após 2 dias de tratamento, a lesão ulcerada se fazia presente sobre parte da face dorsal e borda da língua de todos os animais. A superfície ulcerada encontrava-se recoberta por um material amorfo. O tecido conjuntivo subjacente exibia um intenso infiltrado inflamatório com o predomínio de células polimorfonucleadas, além de edema e congestão dos vasos, sinalizando uma inflamação do tipo aguda. Este mesmo quadro histológico foi evidenciado nas amostras do grupo controle.

Os ratos referentes ao 7º dia não demonstravam mais a presença de lesão ulcerada e o tecido epitelial encontrava-se completamente reparado. No entanto, o tecido conjuntivo subjacente encontrava-se moderadamente infiltrado por células inflamatórias monomorfonucleadas em 4 animais, enquanto que os 2 ratos restantes exibiam um discreto infiltrado inflamatório do tipo crônico. Ao se comparar com os animais do grupo controle, notou-se que também não havia mais a presença da lesão ulcerada, no entanto, o tecido conjuntivo apresentava um infiltrado inflamatório intenso por células monomorfonucleadas.

Aos 14 dias de observação, os ratos do grupo experimental apresentavam completa reparação epitelial e um discreto infiltrado inflamatório do tipo crônico no tecido conjuntivo subjacente na área que correspondia à área ulcerada. Já nos animais do grupo controle, observou-se um padrão histopatológico semelhante, porém, mais uma vez, diferindo apenas no que diz respeito à intensidade do quadro inflamatório o qual foi considerado moderado.

O resultado mais significativo observado nos animais tratados com o extrato alcoólico da própolis foi verificado nos animais mortos aos 21 dias, onde não se observou mais sinal flogístico em nenhum dos animais deste grupo. Ao passo que, nos animais do grupo controle, três dos seis

ratos ainda exibiam infiltrado inflamatório moderado no tecido conjuntivo subjacente na área em que previamente existia a lesão ulcerada.

No 42.º dia de tratamento todos os ratos de ambos os grupos apresentavam epitelização completa da região da úlcera e tecido conjuntivo normalizado.

Discussão

O efeito cicatrizante da própolis foi estudado pelo modelo experimental por aplicação de pomadas de própolis em lesões de pele, a efetividade clínica e histológica da própolis nos processos de reparação tecidual foi constatada por Marcucci (2000). Diaz (1996) estudou a efetividade da própolis na irrigação de zonas de intervenção cirúrgica em pacientes com distintas afecções bucais e tendo como resultado uma recuperação melhor e mais rápida dos tecidos no pós-operatório dos pacientes com intervenção cirúrgica do que o do grupo controle. Diaz e col. (1997) realizaram um estudo sobre a aplicação de própolis a 5% na cura de feridas sépticas faciais em humanos e relataram que 90% dos pacientes apresentaram uma melhora total aos 7 dias de tratamento e somente 1 paciente necessitou de 13 dias para a cura total da ferida. Estes fatos corroboram com os dados do presente trabalho que verificou a ação cicatrizante da própolis nas lesões de boca.

Dados obtidos com a própolis comprovaram que o aparecimento da camada epitelial se faz a partir do 7º dia de observação, em desacordo com Cabarocas e Gomez (1994) que realizaram um ensaio terapêutico em 60 pacientes com estomatite aftosa para comprovar a efetividade da própolis (uso tópico). Comprovou-se uma rápida diminuição da dor e pronta epitelização clínica em mais de 90% das lesões tratadas com própolis. Discordando também de García e Guarguera (1993) que avaliaram o efeito da própolis no tratamento de aftas bucais em 40 pacientes, no qual 30 pacientes obtiveram a cura com apenas uma aplicação de própolis, 7 necessitaram de uma segunda aplicação e 3 de uma terceira aplicação (os pacientes eram avaliados em 24 horas). Com isto foi demonstrando

efetividade superior da própolis no tratamento de aftas bucais em comparação a outros medicamentos utilizados para este fim.

Silva e col. (2000) fizeram um estudo histológico do efeito da ação da própolis na lâmina própria da mucosa bucal de ratos concluindo que a própolis não provoca reação inflamatória e induz à formação epitelial, bem como a neoformação vascular e fibroblástica do tecido conjuntivo subjacente, sendo a própolis indicado para o tratamento e reparação de feridas abertas por segunda intenção em mucosa bucal. O presente trabalho discorda do estudo de Silva et al. (2000), pois a reação inflamatória foi mais acentuada nos primeiros dias e não houve indução da formação epitelial, somente induziu à fibroplasia. Silveira e col. (1988) realizaram um estudo preliminar sobre os efeitos da própolis no tratamento da gengivite crônica e úlceras bucais e foi comprovada a efetividade do uso desta substância. Estes dados sedimentam os achados da pesquisa, que verificou a eficiência da própolis sobre as lesões bucais.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o extrato alcoólico da própolis promoveu uma aceleração nos fenômenos relacionados à cicatrização se comparado ao grupo controle. Isso é embasado na diminuição do tempo de epitelização da úlcera e na qualidade e quantidade das células ligadas ao infiltrado inflamatório. Logo, formulações farmacêuticas que contenham a própolis como princípio ativo favoreceriam o processo de reparo de lesões ulceradas, acelerando o tempo de cicatrização.

Referências

AL-SHAHER, A.; WALLACE, J.; AGARWAL, S.; BRETZ, W.; BAUGH, D. Effect of propolis on human fibroblasts from the pulp and periodontal ligament. *Journals of Endodontics*, Pittsburg, v.30, n.5, p.359-61, 2004.

BLONSKA, M.; BRONILKOWSKA, J.; PIETSZ, G.; CZUBA, Z.P.; SCHELLER, S. KROL, W. Effects of ethanol extract of propolis (EEP) and flavones on inducible gene expression in J774S.1 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, Poland, v.91, n.1, p.25-30, 2004.

CABARROCAS, F.V.; GOMEZ, E.R. Efectividad Del propoleos em el tratamiento de la estomatitis aftosa. *Medicentro*, Cuba, v.10, n.1, p.49-58, 1994.

COUTO, R.H.N. APICULTURA: MANEJO E PRODUTOS. Funep, São PAULO, V.1, N.1, P.89-91, 1996.

D'AURIA, F.D.; TECCA, M.; SCAZZOCCHIO, F.; RENZINI, V.; STRIPPOLI, V. Effect of propolis on virulence factors of *Candida albicans*. *Journal of Chemotherapy*, Itália, v.15, n.5, p.454-60, 2003.

DIAZ, J.C.Q. Efectos Del propoleos em los tratamiento quirurgicos y las úlceras bucales. *Rev. Cuba Estomatol.*, Cuba, v.33, n.1, p. 25-7, 1996.

DIAZ, J.C.Q.; RODRÍGUES, O.A.; VELÁZQUEZ, M.D.; MILIÁN, M.L. Empleo de la tintura de propóleo al 5 en la cura de heridas sépticas faciales. *Rev. Cuba Estomatol.*, Cuba, v.34, n.1, p.347-51, 1997.

DRIESSEN, C.; SANTOS, T.M.; LIMA, A.A.S.; ELIFIO, S.L.; PEREIRA, L.F. Estudo da reparação tecidual em ratos de feridas cutâneas tratadas com extrato de hera (*Hedera helix* L.), *Estudos de Biologia*, Curitiba, v.25, n.50, p.29-34, 2003.

GARCÍA, C.L.; GARGUERA, E.G. Efectos del propolan en el tratamiento de aftas bucales. *Rev. Cuba. med. mil.*, Cuba, v.22, n.1, p.42-5, 1993.

KOO, H.; PEARSON, S.K.; SOTT-ANNE, K.; ABRANCHES, J.; CURY, J.A.; ROSALEN, P.L.; PARK, Y.K.; MARQUIS, R.E.; BOWEN, W.H. Effects of apigenin and tt-farnesol on glucosyltransferase activity,

biofilm viability and caries development in rats. *Oral Microbiology and Immunology*, EUA, v.17, n.6, p.337-43, 2002.

MARTIN, M.P.; PILEGGI, R. A quantitative analysis of Propolis: a promising new storage media following avulsion. *Dental Traumatology*, EUA, v.20, n.2, p.85-9, 2004.

MARCUCCI, M.C. Revista da universidade de Franca, edição especial, I Simpósio Brasileiro de sobre própolis e apeterápicos. v.7, n.7, 1999.

MUJALLI, L. Revista da universidade de Franca, edição especial, I Simpósio Brasileiro de sobre própolis e apeterápicos. v.7, n.7, 1999.

SANTOS, F.A.; BASTOS, E.M.; MAIA, A.B.; UZEDA, M.; CARVALHO, M.A.; FARIAS, L.M.; MOREIRA, E.S. Brazilian própolis: physicochemical properties, plant origin and antibacterial activity on periodontopathogens. *Phytotherapy research: PTR*, Belo Horizonte, v.17, n.3, p.285-9, 2003.

SILVA, E.B.; SILVA, F.B.; FRANCO, S.L.; RAMALHO, L.T.O.; PERUCHI, C.M.S. Efeito da própolis na lâmina própria da mucosa bucal de ratos: estudo histológico. *ROBRAC*, v.9, n.28, p.4-8, 2000.

SILVEIRA, G.M.; GONZÁ LEZ, E.A.; DELGADO, L.O.; GODOY, A.G.; Efectos curativos de una solución hidroalcohólica del propóleo cubano al 1,5 / en la terapéutica periodontal. *Rev. Cuba Estomatol.*, Cuba, v.29, n.1, p.14-9, 1992..

Recebido em 12/01/2005; aceito em 28/02/2005
Received in 01/12/2005; accepted in 02/28/2005