

ANA FILIPA PEREIRA GAMEIRO

**UTILIZAÇÃO DE PRÓPOLIS EM MEDICAMENTOS E
PRODUTOS DE SAÚDE**

Orientadora: Professora Doutora Catarina Baptista Fialho Rosado

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2020

ANA FILIPA PEREIRA GAMEIRO

**UTILIZAÇÃO DE PRÓPOLIS EM MEDICAMENTOS E
PRODUTOS DE SAÚDE**

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias no dia 31 de Julho de 2020, perante o júri nomeado pelo Despacho de Nomeação nº181/2020 de 3 Julho de 2020, com a seguinte composição:

Presidente:

Prof. Doutor Luís Monteiro Rodrigues

Arguente:

Prof^ª. Doutora Patrícia Dias Rijo

Orientador:

Prof^ª. Doutora Catarina Rosado

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2020

AGRADECIMENTOS

Finalizada mais uma etapa, não posso deixar de agradecer a todos os que me ajudaram a chegar até aqui.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer à Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT) e ao Centro de Investigação em Biociências e Tecnologias da Saúde (CBIOS) por me terem disponibilizado todo o equipamento necessário para a realização deste trabalho, que sem o qual não poderia ter sido possível.

Em segundo lugar, gostaria de agradecer à minha orientadora, a Professora Doutora Catarina Rosado, por me ter dado a oportunidade de trabalhar em conjunto, por todo o apoio, incentivo, ajuda e disponibilidade em todas as fases que levaram à concretização deste projeto. Obrigada por ter acreditado nas minhas capacidades, por me ter dado a oportunidade de descobrir mais sobre uma área tão gratificante e pelos conhecimentos que me transmitiu e que tanto me motivaram ao longo do curso.

Agradeço aos meus pais, porque sem eles não conseguiria chegar onde cheguei, são o meu grande pilar. Obrigada pelo apoio incondicional, por toda a paciência, por todo o incentivo e acima de tudo pelo amor constante que me transmitem. Obrigada por serem o meu exemplo de vida!

Às minhas irmãs, por nunca terem deixado de acreditar em mim, por nunca me terem deixado desistir e por estarem presentes em todos os momentos da minha vida!

À minha avó Alzira, ao meu avô César e ao meu avô Mário por serem tudo aquilo que são para mim.

À minha estrelinha, avó Adriana, por estar sempre a olhar por mim. Espero que, esteja ela onde estiver, esteja orgulhosa do que conquistei!

Às minhas companheiras de 4 patas, que tanta companhia me fizeram ao longo deste percurso.

Ao meu Renas, por estes oito anos sempre lado a lado, por toda a paciência, por todo o apoio incondicional, por me ter acalmado nos momentos mais difíceis, por nunca me ter deixado desistir e pelo eterno amor que me transmite todos os dias. Impossível agradecer tudo o que fizeste e fazes por mim!

À minha Jojo, que foi sem dúvida a melhor amiga que a faculdade me trouxe, que ao longo destes seis anos esteve sempre lá para mim, e que nos momentos de desespero tinha sempre uma palavra para me dar, porque fizemos esta caminhada lado a lado não deixando que nenhuma ficasse para trás. Obrigada por teres estado sempre lá para mim, e por continuares aí quando preciso! Levo-te comigo pra vida!

À minha Rafa, por ter estado comigo bem antes de embarcar neste curso! Obrigada pela amizade de anos, pela força, por todo o apoio nos bons e maus momentos!

Agradeço do fundo do coração a todos os meus amigos que compreenderam a minha falta de tempo e disponibilidade, durante todo este percurso, mas que independentemente disso estiveram sempre lá para me apoiar e incentivar.

Agradeço a todas os voluntários e voluntárias que consentiram colaborar neste trabalho. Sem eles não teria sido possível. Um muito obrigada por me terem dispensado um pouco do vosso tempo!

Não poderia deixar de agradecer, também, aos colegas e amigos que ganhei com a faculdade, que tornaram ainda mais enriquecedores estes seis anos. Não os consigo nomear individualmente, mas cada um deles sabe a importância que teve para mim neste percurso. Um muito obrigada do fundo do coração! Cada um de vós deixou a vossa marca na minha vida!

Não poderia também deixar de agradecer a todos os professores que contribuíram para o meu percurso nesta instituição e que alimentaram o desejo de alcançar a meta com sucesso.

Na impossibilidade de agradecer pessoalmente a todos os que durante estes anos se cruzaram no meu caminho, fica um obrigada a todos os que contribuíram para o meu sucesso.

RESUMO

O própolis é uma mistura complexa de material resinoso de coloração e consistência variada, colhida por abelhas a partir de secreções e exsudados de rebentos. A sua composição química tem vindo a ser cada vez mais estudada, contudo, é difícil padronizar, visto que a composição varia entre regiões e é sazonal. Contudo, este produto natural apresenta uma vasta gama de propriedades bioativas, destacando-se as propriedades antioxidante, antimicrobiana e anti-inflamatória, estando associada à predominância de compostos fenólicos.

Apesar da sua popularidade e longo histórico de utilização popular, este não é considerado um agente terapêutico na medicina convencional e a maioria dos estudos existentes foram realizados *in vitro* ou usando animais. Assim, este trabalho teve como principal objetivo o estudo *in vivo* e em humanos da capacidade cicatrizante e regeneradora de formulações contendo própolis após lesão controlada, assim como da capacidade antioxidante após indução de eritema cutâneo.

A metodologia adotada foi adequada aos objetivos propostos. Contudo, os resultados obtidos após aplicação das formulações não produziram evidências de um impacto significativo. Seria interessante continuar este trabalho com um número mais alargado de voluntários, bem como estudar novas formulações a fim de poder tirar conclusões relativamente ao impacto dos seus ingredientes.

Palavras-chave: Produto natural, Própolis, Antioxidante, Anti-inflamatória, Cicatrizante.

ABSTRACT

Propolis is a complex mixture of resinous material of varying color and consistency, harvested by bees from secretions and exudates from sprouts. Its chemical composition has been increasingly studied, however it is difficult to standardize, since the composition varies between regions and it is seasonal. This natural product has a wide range of bioactive properties, of which the antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory properties can be highlighted, these being associated with the predominance of phenolic compounds.

Despite its popularity and long history of popular use, propolis is not considered a therapeutic agent in conventional medicine and most of the existing studies have been carried out in vitro or using animals. Thus, this work had as main objective to study in vivo and in humans of the healing and regenerative capacity of formulations containing propolis after controlled lesion, as well as of the antioxidant capacity after induction of cutaneous erythema.

The adopted methodology was suitable to the proposed objectives. However, the results obtained after applying the formulations did not produce evidence of a significant impact. It would be interesting to continue this work with a larger number of volunteers, as well as to study new formulations to be able to draw conclusions regarding the impact of this ingredients.

Keywords: Natural product, Propolis, Antioxidant, Anti-inflammatory, Healing.

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E ACRÓNIMOS

% – Percentagem

% (p/p) – Percentagem peso por peso

% (v/v) – Percentagem volume por volume

± – Mais ou menos

°C – Graus Celsius

AA – Acetaminofeno

ARN – Ácido Ribonucleico

AUC – Área sob a curva

BPU's – Unidades arbitrárias de perfusão sanguínea

CAPE – Éster Fenetil de Ácido Cafeico

CCR – Carcinoma de Células Renais

CIE – Comissão Internacional de Iluminação

CIM – Concentração Inibitória Mínima

COX – Ciclo-Oxigenase

COX-1 – Ciclo-Oxigenase 1

COX-2 – Ciclo-Oxigenase 2

DP – Desvio Padrão

EAP – Extrato aquoso de própolis

EC – Extrato de própolis H5®

EEP – Extrato etanólico de própolis

EMF – Extrato liofilizado multifracionado

FLD – Fluxometria Laser Doppler

GST – Glutathiona-S-transferase

g – Grama

h – Altura

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade

ICAM – Molécula de Adesão Intercelular

iNOS – Óxido Nítrico Sintetase induzível

LOX – Lipoxigenase

m² – metro quadrado

MFC – Concentração Fungicida Mínima

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm – Milímetro

nm – Nanómetros

NMF – *Natural Moisturizing Factor* (Fator Humectante Natural)

PC – Própolis Chinesa

ppm – Partes por milhão

PST – Fenolsulfotransferase

PTEA – Perda Transepidérmica de Água

Q.b.p. – Quanto basta para

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio

SC – *Stratum corneum* (Estrato córneo)

VHS – Vírus *Herpes Simplex*

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

U.A. – Unidades Arbitrárias

USA – Estados Unidos da América

UV – Ultravioleta

% (p/p) – Percentagem peso por peso

% (v/v) – Percentagem volume por volume

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E ACRÓNIMOS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	XII
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
I – INTRODUÇÃO	1
1. PRÓPOLIS	1
1.1. ORIGEM DO PRÓPOLIS	1
1.2. CONSTITUIÇÃO GERAL E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO PRÓPOLIS	4
1.3. PROPRIEDADES BIOATIVAS DO PRÓPOLIS	7
1.3.1. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	7
1.3.2. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	9
1.3.2.1. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	9
1.3.2.2. ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	10
1.3.3. ATIVIDADE ANTIVIRAL	11
1.3.4. ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA	12
1.3.5. ANTITUMORAL	14
1.4. PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO CONTENDO PRÓPOLIS	16
2. PELE HUMANA	23
2.1. ASPETOS GERAIS	23
2.2. ANATOMIA E FISILOGIA	24
II – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CICATRIZANTE E REGENERADORA DE FORMULAÇÕES CONTENDO PRÓPOLIS	28

2.1. INTRODUÇÃO	28
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	31
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
III – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FORMULAÇÕES CONTENDO PRÓPOLIS	40
3.1. INTRODUÇÃO	40
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	42
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
IV – CONCLUSÃO E PERPSPETIVAS FUTURAS	46
VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXO 1 – FOLHA DO VOLUNTÁRIO	64
ANEXO 2 – RECOLHA DE DADOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 – FAVOS CONSTRUÍDOS PELAS ABELHAS.	2
FIGURA 2 – ABELHA EM PASTOREIO DE PRÓPOLIS.	2
FIGURA 3 – ABELHA COM CARGA DE PRÓPOLIS.	3
FIGURA 4 – ESTRUTURA DE ALGUNS DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO PRÓPOLIS PORTUGUÊS: ÁCIDO FENÓLICOS (A), FLAVONAS E FLAVONÓIS (B) E FLAVANONAS E DI-HIDROFLAVONÓIDES (C).	5
FIGURA 5 – ESQUEMA DE COMPARAÇÃO ENTRE AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS NA INFLAMAÇÃO AGUDA (A) E NA INFLAMAÇÃO CRÓNICA (B).	13
FIGURA 6 – ESTRUTURA DA PELE EVIDENCIANDO A EPIDERME, DERME E HIPODERME.	24
FIGURA 7 – TEWAMETER® TM300.	33
FIGURA 8 – CORNEOMETER® CM825	35
FIGURA 9 – CHROMAMETER® CR-300.	36
FIGURA 10 – GRÁFICO DA EVOLUÇÃO DA PTEA APÓS LESÃO CUTÂNEA. (N=5, MÉDIA ± DP)	37
FIGURA 11 – GRÁFICO DA EVOLUÇÃO DA HIDRATAÇÃO SUPERFICIAL EPIDÉRMICA APÓS LESÃO CUTÂNEA. (N=5, MÉDIA ± DP)	37
FIGURA 12 – GRÁFICO DA EVOLUÇÃO DO GRAU DE ERITEMA (A*) APÓS LESÃO CUTÂNEA. (N=5, MÉDIA ± DP)	38
FIGURA 13 – GRÁFICO DA EVOLUÇÃO DO GRAU DE LUMINOSIDADE (L*) APÓS LESÃO CUTÂNEA. (N=5, MÉDIA ± DP)	38
FIGURA 14 – PERIFLUX SYSTEM® 5000.	43
FIGURA 15 – GRÁFICO DO TEMPO DE LATÊNCIA PARA APARECIMENTO DE ERITEMA (T _{ONSET}) OBSERVADO NAS DIFERENTES ÁREAS DE ESTUDO. (N=16, MÉDIA ± DP)	44
FIGURA 16 – GRÁFICO DA ÁREA SOB A CURVA (AUC) OBSERVADO NAS DIFERENTES ÁREAS DE ESTUDO. (N=16, MÉDIA ± DP)	44
FIGURA 17 – GRÁFICO DO DECLIVE/TANGENTE DO ÂNGULO DE INCLINAÇÃO DA HIPERÉMIA OBSERVADO NAS DIFERENTES ÁREAS DE ESTUDO. (N=16, MÉDIA ± DP)	45

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 1 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA MARCA APIVITA®.	19
TABELA 2 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA MARCA APIVITA®.	20
TABELA 3 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA GAMA ARKOCÁPSULAS®, DA MARCA ARKOPHARMA®.	20
TABELA 4 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA GAMA ARKOREAL®, DA MARCA ARKOPHARMA®.	21
TABELA 5 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA GAMA ARKOVÓX®, DA MARCA ARKOPHARMA®.	21
TABELA 6 – PRODUTOS ATUALMENTE NO MERCADO PORTUGUÊS, CONTENDO PRÓPOLIS DA MARCA ABOCA®.	22
TABELA 7 – COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA EM % (P/P) DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES USADAS NO ESTUDO.	31

I – INTRODUÇÃO

1. PRÓPOLIS

1.1. Origem do própolis

Ao longo da história, os homens têm usado os produtos naturais para seu próprio benefício, sobretudo na medicina. O própolis tem um longo historial de utilização, tendo os médicos romanos e gregos como Galeno, Aristóteles, Plínio e Dioscórides reconhecido as suas propriedades medicinais, tais como cicatrizantes e antissépticas no tratamento de feridas (Lustosa, Galindo, Nunes, Randau, & Rolim Neto, 2008; Righi, 2008).

Dadas as suas propriedades anti-putrefativas, no antigo Egipto, o própolis foi usado para embalsamar cadáveres (Maria Cristina Marcucci, 1996).

No século XVII, o italiano António Stradivari usou o própolis como ingrediente de verniz para instrumentos de cordas, e atualmente ainda é usado como resina para instrumentos de cordas e na reparação de acordeões (Burdock, 1998).

Existem relatos da sua utilização no tratamento de queimaduras, dores de garganta, de úlceras no estômago e cicatrização de feridas durante a Segunda Guerra Mundial (Burdock, 1998; Kuropatnicki, Szliszka, & Krol, 2013).

No que diz respeito à história da Saúde mais recente, a aplicação de própolis no tratamento de problemas de saúde começou a ser feita mais intensivamente nos anos de 1950 e 1960 por alguns países do leste da Europa, tais como Bulgária, Polónia e República Checa e, nos anos de 1980, em países da Europa Ocidental, América do Sul e do Norte e no Japão (Lustosa et al., 2008).

Sendo que no século XX, as aplicações diversificam entre formulações dermatológicas, soluções para higiene bucal, nomeadamente na preparação de pastas de dentes e ainda outros produtos farmacêuticos (Burdock, 1998).

A palavra própolis deriva do Grego, em que *pro* significa “em defesa de”, e *polis* é “cidade” ou “comunidade”, ou seja, “em defesa da colmeia”. (Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., 2002)

Toda a estrutura da colmeia está organizada com base na cera que é produzida diretamente pelas glândulas no abdómen das abelhas, que usam para construir os favos, **Figura 1**, que suportam a criação de reservas (Peranovich, D. S.; Orlando, G.; Candelleiro, A.; Orsi, R. O.; Gomes, 2009).



Figura 1 – Favos construídos pelas abelhas.
(Fonte: <https://beesweet.pt/fr/mel-em-favo>)

Esta mesma cera é também utilizada para misturar com as resinas colhidas nas plantas e que, quando combinadas, dão origem ao própolis. Assim, o própolis é uma mistura complexa de material resinoso de coloração e consistência variada colhida por abelhas a partir de secreções e exsudados de rebentos, a partir de diversas partes das plantas como botões florais, folhas, e de certas árvores e arbustos (Peranovich, D. S.; Orlando, G.; Candelleiro, A.; Orsi, R. O.; Gomes, 2009).

Ao longo do seu percurso evolutivo, as plantas desenvolveram um mecanismo de proteção das suas folhas, flores e frutos, a fim de prevenir eventuais infeções após o corte, produzindo assim uma substância resinosa com a capacidade de impedir a putrefação e com potencial antimicrobiano. Após ocorrer um corte numa planta, é recorrente ver-se uma resina a escorrer para fora da mesma, tendo como finalidade evitar a perda de seiva e prevenir uma infeção. As abelhas, **Figura 2**, utilizam o resultado desta evolução do metabolismo secundário das plantas para proteger as suas colmeias recolhendo essas resinas (Casaca, 2010; Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., 2002).

Este material é transportado para a colmeia nas patas traseiras das abelhas, **Figura 3**, onde é mastigada e são adicionadas as enzimas salivares (Casaca, 2010; Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., 2002).



Figura 2 – Abelha em pastoreio de própolis.
(Casaca, 2010)



Figura 3 – Abelha com carga de própolis.
(Casaca, 2010)

A recolha da resina é feita por abelhas especializadas com idade superior a 15 dias designadas de obreiras. Geralmente as abelhas que recolhem a resina são mais velhas do que as que constroem o favo, visto que estas têm as glândulas produtoras de cera atrofiadas. É curioso notar que as abelhas aquando a recolha de resina têm em conta a dureza da mesma. Desta forma recolhem a resina durante o período quente do dia, quando esta se apresenta mais flexível e macia (S. Kumazawa et al., 2008; Shigenori Kumazawa, Yoneda, Shibata, Kanaeda, & Hamasaka, 2003).

Em regiões mais quentes da Europa, como Portugal, Espanha, Itália e Grécia tem-se observado a recolha das resinas desde a Primavera até ao início do Outono. Nos restantes países da Europa, e nas zonas temperadas no geral, a colheita de própolis concentra-se no Verão e prolonga-se até ao início do Outono (Casaca, 2010).

Esta resina é utilizada pelas abelhas para dois fins essenciais, um mecânico e outro biológico. Relativamente ao uso mecânico de própolis, este inclui a aplicação de uma fina camada do mesmo em todas células, antes da postura para manter a humidade constante no interior da colmeia, bem como prevenir eventuais perdas de humidade nos períodos de seca, assim como evitar o excesso de humidade em períodos mais chuvosos. O própolis é também utilizada para selar eventuais aberturas ou danos na colmeia (Maria Cristina Marcucci, 1996; Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., 2002; Velikova, Bankova, Marcucci, Tsvetkova, & Kujumgiev, 2000).

A função biológica associa-se ao embalsamar invasores mortos pelas abelhas no interior das colmeias, mas que estas não conseguem transportar para o exterior, evitando assim a decomposição dos mesmos na colmeia, o que levaria ao crescimento de microrganismos prejudiciais à colmeia. Desta forma, o própolis favorece uma menor incidência de bactérias e fungos no interior da colmeia, quando comparado com a atmosfera no exterior. A presença de própolis na entrada da colmeia serve também como repelente, reduzindo a atenção dos invasores (Zhang et al., 2014).

Os choupos (*Populus spp.*), faia (*Fagus sylvatica*), castanha de cavalo (*Aesculus hippocastanum*), vidoeiro (*Betula alba*), amieiro (*Alnus glutinosa*) e várias árvores coníferas são as principais espécies de plantas visitadas pelas abelhas para recolha das resinas (Falcão, Vale, et al., 2013).

Os botões de álamos (*Populus spp.*) são a principal fonte de resinas de própolis na Europa e América do Norte, alternativamente, em regiões como o Brasil existem outras fontes distintas de resina, tal como: *Baccharis dracunculifolia* e *Dalbergia ecastophyllum* (própolis vermelho). As abelhas, em Cuba e Venezuela colhem resinas de *Clusia spp.* (Falcão et al., 2012; Falcão, Vale, et al., 2013).

1.2. Constituição geral e composição química do própolis

A coloração do própolis depende da sua planta de origem e da idade, ou seja, tempo após colheita, sendo que vai do verde amarelado ao castanho-escuro quase preto. Existem amostras de própolis que são praticamente inodoras, mas normalmente possuem um odor característico que pode variar de uma amostra para a outra. Relativamente ao sabor, varia de suave a forte e picante, dependendo da origem botânica (Casaca, 2010; Maria Cristina Marcucci, 1996).

O ponto de fusão de própolis situa-se entre os 60 °C e os 70 °C, podendo subir acima dos 100 °C em algumas situações. Relativamente à sua consistência, é altamente influenciada pela temperatura, sendo facilmente pulverizável e frágil a temperaturas inferiores a 5 °C e especialmente após a sua congelação, sendo dura e inquebrável a cerca de 15 °C e pegajosa e flexível acima dos 30 °C (Maria Cristina Marcucci, 1996).

O primeiro trabalho científico com própolis foi publicado em 1908 e nele encontram-se descritas as propriedades químicas e a respetiva composição deste produto natural, indexado no *Chemical Abstracts* (referência 192) (Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., 2002).

Nos anos 60, pensava-se que, apesar de ser complexa, a composição de própolis era mais ou menos constante. No entanto, nos anos seguintes, a análise de um grande número de diferentes amostras de própolis revelou que a composição era difícil de padronizar, visto que depende de diferentes características fitogeográficas do local onde se situa a colmeia, a época de colheita da resina assim como a variabilidade genética das abelhas rainhas também influencia a sua composição (Bankova, 2005; Nascimento et al., 2013; José Maurício Sforcin & Bankova, 2011).

Contudo, apesar do própolis ser uma mistura complexa é essencialmente constituída por 50% de resina e bálsamo vegetal, 30% de cera, 10% de óleos essenciais e aromáticos, 5% de pólen

e 5% de outras substâncias como, por exemplo, material orgânico entre os quais aminoácidos, vitaminas, sais minerais e resíduos insolúveis (Falcão, Freire, & Vilas-Boas, 2013; Lustosa et al., 2008; Maria Cristina Marcucci, 1996; Righi, 2008).

Esta resina é muito rica em vitaminas A, B₁, B₂, B₃ e biotina e tem ainda 14 dos 15 minerais de que o organismo humano necessita para manter as suas funções normais (Khurshid, Naseem, Zafar, Najeeb, & Zohaib, 2017).

Atualmente mais de 500 compostos já foram identificados em diferentes amostras de própolis (Huang, Zhang, Wang, Li, & Hu, 2014).

A classe de compostos químicos predominante e a que apresenta maior bioatividade é a dos compostos fenólicos, onde se incluem os ácidos fenólicos (derivados do ácido benzoico e ácido cinâmico), os flavonóides (flavonas, flavonóis, flavanonas, di-hidroflavonóis, chalconas e di-hidrochalconas) e os isoflavonóides **Figura 4** (Falcão et al., 2010; Maria Cristina Marcucci, 1996; Velikova et al., 2000).

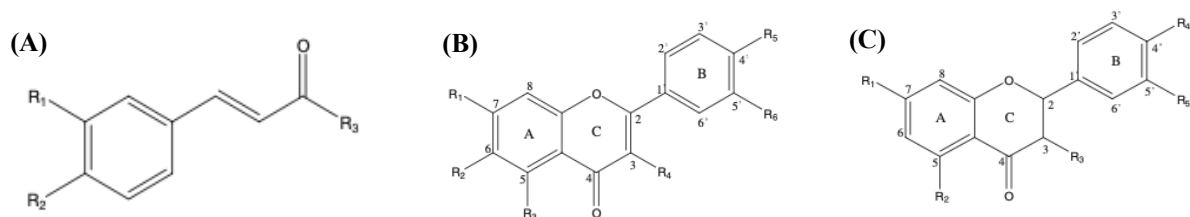


Figura 4 – Estrutura de alguns dos principais compostos do própolis português: Ácido Fenólicos (A), Flavonas e Flavonóis (B) e Flavanonas e di-hidroflavonóides (C).

Adaptado de Falcão et al., 2010.

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários das plantas que podem surgir nas folhas, flores, frutos e outros tecidos das plantas. Relativamente aos ácidos fenólicos estes são derivados dos ácidos benzoicos e os ácidos cinâmicos. Os ácidos benzoicos incluem o ácido gálico, o protocatéquico, o vanílico, entre outros, sendo que apresentam uma estrutura em comum. Por outro lado, os ácidos cinâmicos são também compostos aromáticos que apresentam uma cadeia lateral de três átomos de carbono, sendo o ácido cafeico, ferúlico, *p*-cumárico e sinápico os mais comuns (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006; Mattila & Hellström, 2007; Saldaña et al., 2007).

Os flavonóides são moléculas de baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados numa configuração de C₆-C₃-C₆. Quimicamente, são definidos como substâncias compostas por um núcleo, o qual é constituído por três anéis fenólicos, em que, os dois anéis de benzeno se encontram ligados por uma cadeia com 3 átomos de carbono, que pode ou não formar um terceiro anel. Consoante a natureza de ligação dos três átomos de carbono e o nível

de oxidação surgem as diferentes classes de flavonóides, já mencionados anteriormente (Beecher, 2003).

Os flavonóides presentes nas plantas exercem diversas funções destacando-se a proteção contra microrganismos, radiação UV, ação antioxidante, entre outras. As concentrações dos flavonóides podem ser influenciadas pelos fatores naturais e desta forma alteram o metabolismo da planta (Harborne & Williams, 2000; Nijveldt et al., 2001).

O própolis europeu contém os típicos compostos fenólicos referidos anteriormente, nomeadamente os agliconas de flavonóides (flavonas, flavonóis, flavanonas), ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido cinâmico e ácido cafeico) e seus ésteres, enquanto que, o própolis brasileiro tem como principais constituintes os terpenóides e derivados de ácido *p*-cumárico (Falcão, Vale, et al., 2013).

Novos constituintes estão ainda a ser identificados durante a caracterização de novos tipos de própolis. Apesar do própolis português ser semelhante ao própolis de zonas temperadas, este encontra-se com um elevado número flavonóis metoxilados, nomeadamente derivados de quercetina e campferol. Sendo que algumas amostras de própolis possuem compostos não detetados em amostras de própolis comum, tais como: ácido elágico, luteolina, um flavonol dimetoxilado e um di-hidroxi-metoxiflavona (Falcão, Vale, et al., 2013; Falcão et al., 2010).

O própolis do tipo álamo é o mais estudado, mas existem muitos outros tipos de própolis.

Estudos recentes revelaram um novo tipo de própolis europeu, o própolis mediterrânico, em que se distingue pela alta concentração de diterpenóides e é possível encontrá-lo na Grécia, Suíça, Malta, Turquia ou Argélia (Bankova, Popova, Bogdanov, & Sabatini, 2002; Piccinelli et al., 2013; M. P. Popova, Graikou, Chinou, & Bankova, 2010; M. Popova et al., 2011).

Existem compostos que se encontram em todas as amostras de própolis, contudo também existe uma percentagem que só estão presentes em espécies particulares de plantas (Lustosa et al., 2008).

Segundo um estudo realizado por Czyzewska, Siemionow, Zareba, & Miltyk (2016), os constituintes mais identificados nesta resina, ou seja, a composição bruta do própolis, são essencialmente a crisina, a galangina, a pinocembrina e a pinobanksina dentro do grupo dos flavonóides, o ácido cafeico como sendo um ácido fenólico e os ácidos *p*-cumárico e ferúlico correspondendo ao ácido hidroxicinâmico.

O éster fenetil de ácido cafeico (CAPE) corresponde ao 3,4 – hidroxicinâmico é também um constituinte principal do própolis com amplas atividades biológicas (Huang et al., 2014).

Embora as atividades biológicas do própolis estejam sempre presentes, a composição química é muito variável, por exemplo amostras de áreas com clima e localização ligeiramente diferente proporcionam espectros distintos de atividade, assim como de composição como já foi referido anteriormente (Artika, Susilo, Setyo, & Zainal, 2011).

1.3. Propriedades bioativas do própolis

As atividades biológicas de extratos de própolis e dos seus constituintes têm sido amplamente investigadas.

Apesar da popularidade do própolis, este não é considerado um agente terapêutico na medicina convencional. As propriedades bioativas e farmacêuticas estão, naturalmente, intimamente ligadas à composição química do própolis e, dada a diversidade química do mesmo, seria expectável que as propriedades de diferentes tipos de própolis fossem diferentes. No entanto, na maioria dos casos, isso não se tem verificado (Falcão, Vale, et al., 2013).

As propriedades biológicas e farmacêuticas estão intimamente ligadas à sua composição química, particularmente à predominância de compostos fenólicos (Falcão, Vale, et al., 2013). Existem diversos estudos em diferentes áreas sobre o própolis devido à sua relevância e longo histórico de utilização, e trabalhos recentes atribuem-lhe numerosas propriedades terapêuticas tais como antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiviral, cicatrizante, antitumoral entre outras que serão abordadas mais detalhadamente de seguida (Anjum et al., 2018; Falcão, Vale, et al., 2013; Maria Cristina Marcucci, 1996).

1.3.1. Atividade antioxidante

Nos últimos anos, vários estudos foram realizados para avaliar a capacidade antioxidante de produtos naturais.

Os antioxidantes controlam o nível de radicais livres de forma a evitar os danos oxidativos. Os radicais livres e outros agentes oxidantes são a principal causa do envelhecimento das células e da deterioração em situações como a doença de Parkinson, doença de Alzheimer, artrite, cancro, diabetes, doenças cardiovasculares e também insuficiência hepática (Anjum et al., 2018; Silva-Carvalho, Baltazar, & Almeida-Aguiar, 2015).

Os radicais livres induzem danos oxidativos nas biomoléculas, nomeadamente nos lípidos, hidratos de carbono, proteínas e ácidos nucleicos, podendo até provocar morte celular (Viuda-Martos, Ruiz-Navajas, Fernández-López, & Pérez-Álvarez, 2008).

Normalmente, as células expostas a baixas concentrações de compostos naturais mantêm a viabilidade, estando protegidas do stress oxidativo. Contudo, pode ser citotóxico quando estas são expostas a concentrações elevadas dos mesmo compostos por indução do stress oxidativo (Rafieian-kopaei, Setorki, Doudi, Baradaran, & Nasri, 2014).

Diversos estudos comprovam a atividade antioxidante de extratos de própolis de múltiplas origens (Anjum et al., 2018; Silva-Carvalho et al., 2015; Viuda-Martos et al., 2008).

Segundo um estudo realizado por Seo, Park, Song, Kim, & Yoon (2003) em própolis coreano, determinou que este atua nas enzimas de fase I e II que são responsáveis pela hepatotoxicidade induzida por acetaminofeno (AA), paracetamol. Após tratamento prévio com 50 e 100 mg/Kg de própolis nos ratos, verificou que este reduziu a mortalidade, a incidência e a gravidade da necrose hepática induzida pelo AA. Assim, pode-se concluir que o tratamento com própolis diminui a atividade de um citocromo específico, mas aumentou significativamente as atividades de GST (glutathiona-S-transferase) e PST (fenolsulfotransferase). Contudo, nos ratos tratados com 10 e 25mg/Kg, as atividades dos citocromos P450 foram inibidas drasticamente e a atividade de PST foi significativamente reforçada. Os resultados sugerem um efeito protetor do própolis sobre lesão hepática, e o seu efeito pode ser explicado por inibição de enzimas de fase I e indução de enzimas de fase II.

Num estudo realizado em própolis português, determinaram-se uma importante fonte de fenóis totais, flavonas e flavonóis que poderá ser benéfica para a saúde humana devido às suas propriedades antioxidantes. Esse estudo sugere que o própolis português é um poderoso agente antioxidante que poderá ser usado contra o stress oxidativo, mantendo a integridade estrutural e funcional das células (Miguel, Nunes, Dandlen, Cavaco, & Antunes, 2010; Moreira, Dias, Pereira, & Estevinho, 2008).

Outro estudo em amostras de extratos metanólicos de própolis da Argélia mostraram que contém grandes quantidades de ésteres de ácido cafeico e flavanonas, kaempferol e galangina que possuem forte atividade de eliminação e de redução da atividade férrica (Piccinelli et al., 2013).

É sabido que a composição do própolis é variável, no entanto, um dos seus principais componentes, o CAPE, desempenha um papel importante na atividade antioxidante (Chen et al., 2009; Hoşnüter et al., 2004).

Resumidamente, a atividade antioxidante do própolis deve-se a compostos fenólicos presentes no mesmo, que inibem a atividade de algumas enzimas (por exemplo, a proteína quinase C, ácido ascórbico oxidase, ciclo-oxigenase, lipoxigenase e cAMP fosfodiesterase) que inibem a

produção de espécies ROS (Espécies Reativas de Oxigénio) eliminando e interrompendo as reações que levam à peroxidação lipídica, quelando os iões metálicos, preferencialmente, o ferro e o cobre que estão envolvidos no processo de criação de radicais livres ou potencializando a ação de outros antioxidantes (Silva-Carvalho et al., 2015).

A atividade antioxidante é uma das atividades mais estudadas e importante do própolis, contudo ainda não há estudos com dados indicativos da dose segura a ser usada em seres humanos, logo são necessários mais estudos clínicos utilizando o própolis.

1.3.2. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana engloba a atividade antibacteriana e antifúngica.

A vasta utilização de fármacos antimicrobianos para fins terapêuticos, conduziu ao aparecimento de microrganismos resistentes, tornando-se uma preocupação mundial, aumentado, desta forma, a investigação em produtos de origem natural, para que estes possam desempenhar essa função (Campos et al., 2015).

Desta forma a atividade antimicrobiana é uma das propriedades biológicas do própolis mais estudada e documentada nos últimos anos devido à necessidade de novos tratamentos contra doenças infecciosas (Silva-Carvalho et al., 2015).

Estas atividades podem ser avaliadas e comparadas pelo cálculo de Concentração Inibitória Mínima (CIM), ou da concentração fungicida mínima (MFC) ou da concentração bactericida mínima, ou seja, consiste na concentração mais baixa testada e que tem a capacidade de inibir completamente o crescimento microbiano ou mesmo matar o fungo ou a bactéria (Federico et al., 2017).

1.3.2.1. Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana é complexa e tem sido associada a compostos fenólicos presentes no própolis (Maria Cristina Marcucci, 1996).

Em vários estudos já realizados com extratos de própolis, constatou-se que os extratos etanólicos de própolis eram mais eficazes contra bactérias gram-positivas do que com bactérias gram-negativas. Este facto ainda não foi muito bem explorado, contudo, uma das hipóteses é o facto das gram-negativas possuírem paredes celulares mais complexas e com um maior teor de lípidos quando comparadas com as bactérias gram-positivas (Anjum et al., 2018; Lu, Zhao, Xu, Duan, & Zhang, 2005; Lustosa et al., 2008; Viuda-Martos et al., 2008).

Os compostos como a quercetina, a galagina e a pinocembrina, bem como o ácido cafeico, ácido cinâmico e o ácido benzoico presentes em alguns tipos de própolis causam danos funcionais e estruturais na membrana ou parede celular do microrganismo (Anjum et al., 2018; Lustosa et al., 2008).

Segundo um estudo realizado por Viuda-Martos et al. (2008), a quercetina aumenta a permeabilidade da membrana afetando o transporte, a capacidade de síntese de ATP e a sua mobilidade.

O própolis indiano, combinado com clorohexidina (bactericida), revelou noutro estudo uma enorme atividade contra *Streptococcus mutans*, que é uma bactéria gram-positiva e o principal fator do desenvolvimento de cáries. Segundo este estudo, este tipo de própolis poderia ser usado no tratamento de cáries (Wagh, 2013).

Diversos estudos mostraram, que assim como a composição do própolis varia de região para região, a atividade antibacteriana também apresenta algumas variações. O efeito antibacteriano demonstrou ser mais alto em amostras provenientes de regiões com climas tropicais (Silva-Carvalho et al., 2015).

Segundo um estudo realizado em extratos etanólicos de própolis português estes revelaram uma maior atividade contra *Staphylococcus aureus* do que contra *Candida albicans*. No entanto, referem que a citotoxicidade deste extrato também foi bastante elevada (Falcão et al., 2014).

Syed também reportou que o própolis tem um efeito significativo contra bactérias como *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Anjum et al., 2018).

Ao longo dos anos, têm sido também estudadas possíveis atividades sinérgicas do própolis com diversos antibióticos, tais como eritromicina e tetraciclina, podendo, desta forma, ser uma alternativa para microrganismos resistentes a medicamentos (Lustosa et al., 2008).

1.3.2.2. Atividade antifúngica

O efeito fungicida do própolis também é influenciado pela sua variação química. Vários estudos já realizados demonstraram o efeito do própolis de origem geográfica diferente contra fungos diferentes, particularmente do interesse clínico (Silva-Carvalho et al., 2015).

Num estudo onde se isolou *Candida albicans* da cavidade oral, da vagina e das unhas foram registados valores médios de 0,36mg/mL para a CIM e de 1,25mg/mL para a MFC. No processo de germinação verificou-se que a libertação de esporos foi impedida de acontecer naturalmente devido à presença do própolis em concentrações inferiores à inibitória (Haghdoust, Salehi, Khosravi, & Sharifzadeh, 2016).

Da mesma forma, Fatma, Elife, Ayes, Hafize e Gonca, num estudo realizado com própolis mostraram atividade fúngica contra várias estirpes de *Candida* comparável com a dos medicamentos utilizados (Fluconazol e Itraconazol), observando que os valores médios de CIM foram inferiores aos dos medicamentos e não se alteraram após 24h e 48h de incubação (Mutlu Sariguzel, Berk, Koc, Sav, & Demir, 2016).

Em 2014 foi realizado um estudo que consistiu em examinar a atividade anti-fúngica do própolis português contra *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* e *Aspergillus fumigatus*. Os extratos de própolis apenas apresentaram atividade fúngica relevante contra *T.rubrum* e a menor atividade foi contra *A.fumigatus* (Falcão et al., 2014).

A pinocembrina, constituinte do própolis, mostrou atividade contra *Penicillium italicum* interrompendo o crescimento do micélio, que é a estrutura que carrega os nutrientes até onde o fungo necessita. A pinocembrina atua também na respiração do patógeno e na homeostase energética, levando, desta forma, à ruptura da membrana celular e ao distúrbio do metabolismo (José M. Sforcin, 2016).

O própolis teria uma possível aplicação no tratamento da candidíase vulvovaginal, visto que num estudo realizado contra *Candida pelliculosa*, *Candida parapsilosis*, *Pichia ohmeri*, *Candida famata* e *Candida glabrata*, que são algumas das principais leveduras com uma enorme importância neste tipo de candidíase, os flavonóides presentes no própolis mostram uma atividade fúngica contra os mesmos (Wagh, 2013).

1.3.3. Atividade antiviral

A atividade antiviral é uma atividade do própolis ainda com poucos estudos publicados, contudo, os que existem referem que o própolis de diferentes regiões geográficas inibe em diversas situações a proliferação de alguns vírus, tais como o Vírus *Herpes Simplex* (VHS) do tipo 1 e 2, adenovírus do tipo 2, vírus *Influenza* ou o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), entre outros (Fokt, Pereira, Ferreira, Cunha, & Aguiar, 2010; Gekker, Hu, Spivak, Lokensgard, & Peterson, 2005; Lustosa et al., 2008; MC C. Marcucci, 1995; Sartori et al., 2012; Schnitzler et al., 2010; Shimizu et al., 2008).

O *Herpes Simplex* é um vírus muito comum que ataca as mucosas e é altamente suscetível à ação dos componentes presentes no própolis, de acordo com Schnitzler et al. (2010).

Num estudo realizado na Ucrânia foi comparada a eficácia de uma pomada de própolis proveniente do Canadá com uma pomada de aciclovir, que é um fármaco antiviral, e com um placebo (formulação sem princípio ativo) no tratamento de pacientes com herpes genital do tipo

2 recorrente. A preparação de própolis contendo flavonóides apresentou-se mais efetiva que as outras duas pomadas testadas, tanto na cicatrização das lesões, como na redução dos sintomas locais (Lustosa et al., 2008; Vynograd, Vynograd, & Sosnowski, 2000).

Schnitzler et al. (2010) analisaram a atividade de extratos etanólicos de própolis (EEP) e extratos aquosos de própolis (EAP) da República Checa, bem como constituintes isolados do própolis, como, por exemplo, o ácido cafeico, ácido *p*-cumárico, ácido benzoico, galangina, pinocembrina e crisina, contra o vírus *Herpes Simplex* tipo 1 (VHS-1) em cultura celular.

Ambos os extratos mostraram uma alta atividade anti-VHS-1 após infecção, sendo que os componentes com maior bioatividade foram a galangina e a crisina.

Sabe-se que o própolis inibe a entrada do vírus nas células, criando distúrbios na replicação levando à destruição do ARN antes ou depois deste se libertar nas células (José M. Sforcin, 2016).

Num estudo realizado recentemente foi demonstrado que um extrato hidrometanólico de geoprópolis da abelha sem ferrão, *Scaptotrigona postica* do Brasil, inibe a replicação do VHS e também a entrada do vírus nas células, tendo esse efeito sido atribuído às C-glicosil-flavonas, catequina-3-*O*-galato e ácido 3,4-dicafeoilquínico (Coelho et al., 2015),

Nos últimos anos, os benefícios terapêuticos do própolis e dos seus componentes isolados foram também descritos no tratamento do VIH.

Gekker et al. (2005) avaliaram a atividade anti-VIH do própolis em linfócitos CD4+ (principais alvos) e culturas de microglias, observando-se a inibição da expressão viral de maneira dependente da concentração, sendo que o principal mecanismo parece ser a inibição da entrada viral.

1.3.4. Atividade anti-inflamatória

A inflamação ou resposta inflamatória consiste numa resposta biológica e fisiológica dos tecidos vivos após uma exposição constante a estímulos ambientais e endógenos, bem como a danos acidentais, em que o corpo tenta restaurar o tecido até ao seu estado normal (Hu et al., 2005; S Gad, 2018).

A inflamação pode ser classificada em aguda e crónica, sendo que, numa resposta inflamatória aguda desencadeiam-se eventos complexos que é mediada pela ativação das células do sistema imunológico, que migram para o local do dano e libertam fatores de crescimento, citocinas e agentes oxidantes (ROS). A inflamação crónica acaba por ser uma inflamação aguda malsucedida, isto é, difere da aguda por não ter resolução e restauração do tecido lesado. Esta

inflamação desempenha um papel crítico em muitas doenças, incluindo artrite, aterosclerose, asma, Alzheimer e Parkinson (Costa, Francisco, C. Lopes, T. Cruz, & T. Batista, 2012; Gilroy & Lawrence, 2008; Reuter, Gupta, Chaturvedi, & Aggarwal, 2010).

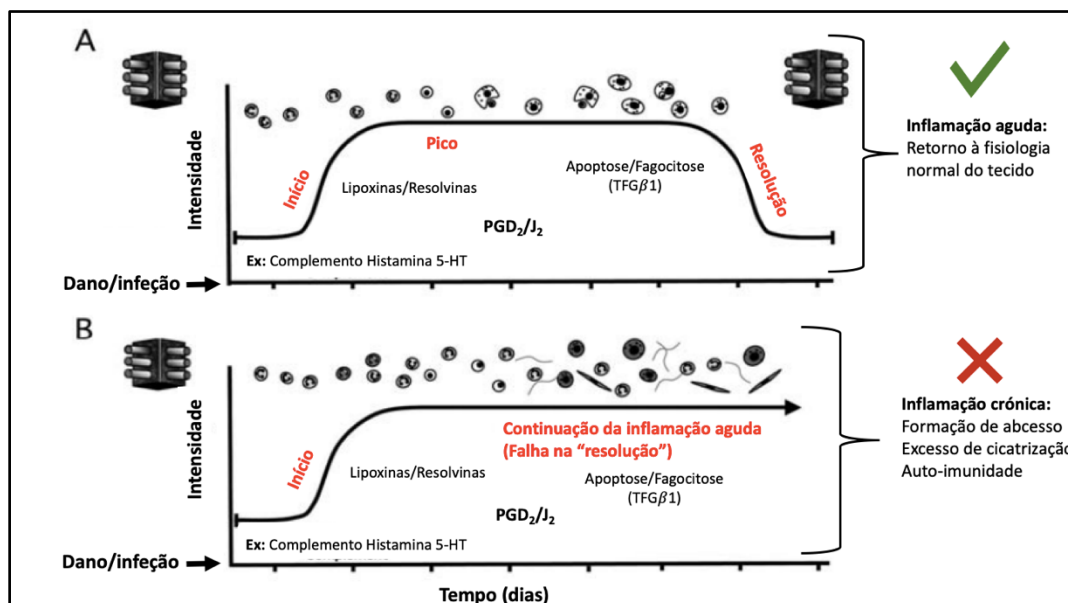


Figura 5 – Esquema de comparação entre as respostas fisiológicas na inflamação aguda (A) e na inflamação crônica (B).

Adaptado de Gilroy & Lawrence, 2008.

Vários estudos têm demonstrado que o própolis e os seus constituintes apresentam atividade anti-inflamatória.

A libertação e oxigenação do ácido araquidónico é um evento crítico na inflamação. Este ácido gordo é armazenado como fosfolípido na membrana celular, sendo convertido para prostaglandinas através da enzima ciclo-oxigenase (COX) aquando a lesão no tecido. Esta enzima é responsável pela biossíntese das prostaglandinas e dos tromboxanos, enquanto a lipoxigenase (LOX) é responsável pela síntese dos leucotrienos (Andrade Carvalho, Sales Carvalho, & Rios-Santos, 2004; Uzel et al., 2005).

Alguns constituintes do própolis têm a capacidade de inibir a enzima COX e desta forma inibir a inflamação.

Mirzoeva & Calder (1996) demonstraram que componentes de própolis tais como o CAPE, ácido cafeico, quercetina, entre outros, inibem a produção de eicosanóides em que a maioria são derivados do ácido araquidónico. Foi observado que o CAPE é o composto mais bioativo no que diz respeito à supressão significativa da via da LOX da biossíntese do ácido araquidónico.

Segundo Borrelli et al. (2002), a galangina, flavonóide presente no própolis, apresenta atividade contra a COX e LOX, e relata ainda que o CAPE inibe a libertação do ácido araquidónico da membrana celular, suprimindo a atividade das enzimas COX-1 e COX-2 possuindo assim atividade anti-inflamatória.

O própolis tem um efeito inibitório sobre a COX-2 e, por sua vez, sobre a prostaglandina, e paralelamente tem a capacidade de eliminar radicais livres produzidos pelos neutrófilos e macrófagos. Também consegue inibir a formação de óxido nítrico, que desta forma diminui a expressão proteica de Óxido Nítrico Sintetase induzível (iNOS), e por fim, reduzir a concentração de citocinas inflamatórias (MorawiSCet al., 2015).

Num estudo realizado num isoflavonóide, neovestitol, isolado de própolis vermelho do Brasil foi avaliada a sua atividade na inflamação aguda e crónica. Relativamente à inflamação aguda verificaram que o neovestitol reduz a migração de neutrófilos, assim como a adesão dos leucócitos e a expressão da molécula de adesão intercelular (ICAM-1). Quanto à inflamação crónica, o isoflavonóide também reduziu o dano articular em ratos com artrite induzida por colagénio (Franchin et al., 2016).

Wang et al. (2013) observaram que o própolis, na fase de transcrição da inflamação, tem a capacidade de suprimir genes inflamatórios. Nesse mesmo estudo, verificaram que a resposta à inflamação do extrato etanólico de própolis rico em flavonóides é regulada de uma forma tempo e dose-dependente.

Mais recentemente Abbasi et al. (2018) afirmou que o própolis mais especificamente o ácido cafeico e os flavonóides presentes na sua composição diminuem a resposta inflamatória e aumentam a função do sistema imunológico, induzindo a atividade fagocitária e a imunidade celular.

1.3.5. Antitumoral

O tratamento do cancro tem evoluído bastante ao longo do tempo, com melhorias significativas para o doente em termos de eficácia e qualidade de vida.

Nos últimos anos, o própolis, devido à variedade de compostos na sua composição, tem atraído um interesse crescente por um grande número de investigadores e, desta forma, têm sido realizados vários estudos *in vitro* e *in vivo*. Alguns destes estudos relatam a atividade antitumoral e demonstram ação citotóxica do própolis de diferentes origens geográficas e de alguns dos seus compostos isolados em várias células tumorais (Carvalho et al., 2011; Manach, Scalbert, Morand, Rémésy, & Jiménez, 2004; J. M. Sforcin, 2007; Silva-Carvalho et al., 2015).

Segundo Alizadeh et al. (2015), o própolis iraniano, devido à presença do CAPE, mostrou ter um efeito inibitório potente na proliferação celular, apresentando um efeito citotóxico em cancro gástrico.

Num estudo realizado em própolis chinesa (PC) foi avaliado o efeito antitumoral num tumor cutâneo que apresenta grande taxa de mortalidade, o melanoma. Nesse estudo, o efeito do produto natural no melanoma não foi determinado, contudo a PC apresentou *in vitro* supressão da proliferação do tumor por indução de apoptose, autofagia e inibição do microambiente inflamatório. É importante realçar que a inflamação está intimamente associada a vários tipos de tumores (Zheng et al., 2018)..

O primeiro estudo sobre a atividade antitumoral do própolis português foi publicado em 2011, e desde aí o número de estudos tem aumentado.

Valente, Baltazar, Henrique, Estevinho, & Carvalho (2011) utilizaram células renais normais e cancerígenas derivadas de pacientes com CCR (Carcinoma de Células Renais) e observaram que o extrato metanólico de própolis possui toxicidade seletiva contra as células malignas em comparação com as células normais, tendo o crescimento *in vitro* do CCR sido fortemente inibido.

Recentemente, Silva-Carvalho et al. (2015) reportaram a atividade antitumoral de um extrato etanólico de própolis do Pereiro coletado no distrito da Guarda. Este própolis afeta a viabilidade celular de diferentes células tumorais, sendo que as mais sensíveis foram as linhas celulares MDA-MB-231 (cancro da mama) e DU145 (cancro da próstata). Além disso, verificou-se ao longo do tempo uma diminuição da proliferação e migração das células MDA-MB-231 e DU145, com alterações no ciclo celular e aumento da morte celular.

Valença et al. (2013) avaliaram a atividade antitumoral de uma amostra de própolis português coletado da Angra do Heroísmo, Açores, numa linhagem celular do cancro do colón (HCT-15). O extrato de própolis foi fracionado em solventes com polaridade crescente: -n-hexano e clorofórmio. O extrato de fração de clorofórmio foi mais ativo na diminuição da viabilidade celular, o que pode ser devido a uma maior quantidade de compostos com maior polaridade, visto que os compostos fenólicos são extraídos com maior eficiência com o clorofórmio do que com o hexano. Os resultados deste estudo mostraram que o própolis leva a uma diminuição na proliferação de células HCT-15 e indução de morte celular.

O efeito citotóxico do própolis no geral está relacionado com os compostos fenólicos, principalmente flavonóides e ácidos fenólicos. Relativamente aos flavonóides, a quercetina é capaz de inibir o crescimento celular, reduzir a proliferação celular, assim como induzir a

paragem do ciclo celular e apoptose. No que diz respeito aos ácidos fenólicos, o CAPE inibiu a proliferação das células tumorais colorretais *in vitro* e induziu a paragem do ciclo celular e respetiva apoptose (Banskota et al., 2002; Dihal, Woutersen, Ommen, Rietjens, & Stierum, 2006; Kim et al., 2005; Ramos, 2008; Valença et al., 2013; Xiang et al., 2006).

Resumidamente, este produto de origem natural pode bloquear vias específicas de sinalização de oncogénese, que levam a uma diminuição na proliferação e crescimento celular, podendo ainda agir aumentando a apoptose, exercendo efeitos antitumorais e modulando o microambiente do tumor (Araújo, Gonçalves, & Martel, 2011; Costa et al., 2012; Sawicka, Car, Borawska, & Nikliński, 2012).

1.4. Produtos atualmente no mercado contendo própolis

O própolis é um dos poucos produtos de origem natural que manteve a popularidade por um longo tempo, embora, como já foi dito, não seja considerado um agente terapêutico na medicina convencional.

Este composto tornou-se valorizado no tratamento medicinal tanto do ponto de vista económico como de eficácia farmacológica, uma vez que é de fácil obtenção e apresenta inúmeras propriedades farmacêuticas (Silva-Carvalho et al., 2015).

Atualmente o própolis é usado como medicamento popular em várias partes do mundo tanto na prevenção e tratamento de diversas patologias como em cosméticos.

O própolis pode apresentar-se no seu estado bruto, em extrato, ou em solução aquosa ou etanólica e existem muitos outros produtos com própolis na sua composição à venda em farmácias, parafarmácias, supermercados, ervanárias e outras lojas de produtos naturais (Lustosa et al., 2008; José Maurício Sforcin & Bankova, 2011).

O própolis homogeneizado e triturado pode ser usado industrialmente em produtos como emulsões, extratos, pomadas ou bálsamos, ou então pode ser dissolvido em álcool para produzir tintura de própolis. A tintura de própolis é, por sua vez, a base de produção para novas formas farmacêuticas, suplementos alimentares, preparações cosméticas, entre outros. Caso seja para aplicações para uso oral deve ser preparado em laboratório e é apresentado na forma de extrato (hidroalcoólico ou glicólico), *spray*, pastilhas, rebuçados, ampolas, xarope, suspensão, comprimidos e gotas.

Existe ainda uma vasta gama de produtos com própolis na cosmética, higiene e cuidado oral, tais como batom, gel de banho, champô, creme, pasta dentífrica, sabonete, loção/óleo corporal até cones para higienização dos ouvidos.

Relativamente à presença do própolis em produtos de higiene/cuidado oral, tais como cremes e colutórios, este ajuda na prevenção de infeções microbianas e é eficaz no tratamento da inflamação das gengivas.

Por outro lado, a utilização de própolis, juntamente com outras substâncias, permite que haja uma atividade biológica diversificada. Assim existem produtos em que o própolis está combinado com ácido ascórbico (vitamina C), tomilho, eucalipto para tratar infeções do sistema respiratório (Albuquerque, Romeiro, Figueiredo, & Atl, 2013; Anjum et al., 2018; Bureau, 2011; Kurek-Górecka, Górecki, Rzepecka-Stojko, Balwierz, & Stojko, 2020).

De seguida serão apresentadas algumas marcas presentes atualmente no mercado português e respetivos produtos com própolis, sendo abordada a composição, propriedades/indicações, contraindicações, interações e modo de utilização.

A **APIVITA®** é uma empresa fundada por dois farmacêuticos em 1979, na Grécia. O nome deriva das palavras em latim *apis* “abelha” e *vita* “vida”, e significa “vida de abelha”. A APIVITA® desenvolveu e estabeleceu mais de 300 produtos naturais formulados com produtos de apicultura, extratos de plantas gregas e óleos essenciais orgânicos. Atualmente a APIVITA® encontra-se em 15 países, sendo um deles Portugal, existindo mais de uma dezena de produtos contendo própolis para higiene, cuidado oral, rosto, corpo e cabelo. As suas fórmulas contêm entre 85-100% de ingredientes de origem natural **Tabela 1 / Tabela 2** (“APIVITA® - Glossário de Ingredientes”, 2020; “APIVITA - História”, 2020).

A **ARKOPHARMA®** é um laboratório farmacêutico perto de Nice, França, especializado em fitoterapia. Fundado em 1980, encontra-se presente em mais de 50 países com 7 filiais França, Espanha, Itália, Holanda, Bélgica, Suíça e Portugal (“ARKOPHARMA® - História”, 2020).

Atualmente existem diversos suplementos alimentares assim como dispositivos médicos da ARKOPHARMA® presentes no mercado. Esta encontra-se dividida por mais de 10 gamas, sendo que apenas abordarei as gamas que possuem própolis nos seus produtos, tais como:

- **ARKOCÁPSULAS®**: É a gama com maior diversidade de produtos apresentados na forma de cápsula, possuindo resposta para qualquer necessidade do consumidor, desde articulações, fadiga e energia, fortalecimento do cabelo, sono e stress, entre muitos outros. Relativamente aos suplementos alimentares contendo própolis existe apenas um **Tabela 3** (“ARKOCÁPSULAS®”, 2020).

- **ARKOREAL®**: É a gama em que os suplementos alimentares possuem na sua composição geleia real que é uma substância secretada pelas glândulas das abelhas obreiras para alimentar apenas uma abelha da colmeia, a que se vai tornar rainha. A geleia real proporciona uma longevidade de vida 40 vezes superior às restantes abelhas e uma produtividade surpreendente. A esperança de vida de uma abelha obreira é de 30 a 45 dias, embora a rainha de uma colmeia possa viver até 5 anos.

Nesta gama, existem ampolas contendo própolis, tais como o **ARKOREAL® GELEIA REAL IMUNIDADE BIO** e o **ARKOREAL® GELEIA REAL+PRÓPOLIS**, que têm como finalidade terapêutica um normal funcionamento do sistema imunitário. Existindo o **ARKOREAL® GELEIA REAL+GINSEG+PRÓPOLIS+ACEROLA** para situações de fadiga e falta de energia.

Por fim, o **ARKOREAL® PROTECT JÚNIOR** que consiste numa solução bebível, que contribui para o normal funcionamento do sistema imunitário, ajuda a diminuir o cansaço e a fadiga em crianças a partir dos 3 anos de idade, e que abordarei de seguida **Tabela 4** (“**ARKOREAL®**”, 2020).

- **ARKOVOX®**: nesta gama existem diversos suplementos alimentares com a finalidade de reforçar o sistema imunitário, suavizar a dor de garganta, acalmar a tosse, oferecendo desta forma um bem-estar respiratório. Os produtos podem apresentar-se na forma de comprimidos para chupar, o **ARKOVOX® PRÓPOLIS+VITAMINA C** que existe em 4 sabores distintos (mel e limão, citrino, framboesa e menta), pode apresentar-se, ainda, em spray para a garganta **ARKOVOX® PRÓPOLIS SPRAY GARGANTA** e por fim em xarope, o **ARKOVOX® XAROPE**. Alguns produtos mencionados anteriormente encontram-se na **Tabela 5** (“**ARKOVOX®**”, 2020).

A **ABOCA®** é uma empresa multinacional italiana que, desde 1978, opera no âmbito farmacêutico, desenvolvendo produtos naturais inovadores com uma base agrícola biológica que respeita o homem e o ambiente. No que diz respeito aos produtos contendo própolis, a **ABOCA®** formula a partir de um extrato de própolis liofilizado multifracionado, **Propol2 EMF®**, obtido pela extração e fracionamento, que seleciona as duas frações nobres do própolis: os flavonóides totais (incluindo a pinocembrina e a galangina) e o CAPE. Em Portugal, a gama de produtos contendo própolis é designada de **Propol2 EMF®**, enquanto em Itália é designada de **Propolgemma®**. Na **Tabela 6** encontram-se mencionados os dois produtos que a **ABOCA®** tem disponível atualmente em Portugal (“**ABOCA® - Empresa**”, 2020).

Tabela 1 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da marca APIVITA®. (“APIVITA®- Máscara Purificante para pele oleosa”, 2020; “APIVITA® - Elixir Natural”, 2020; “APIVITA® - Pasta dentífrica - Proteção Total”, 2020)



APIVITA®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 <p>Pasta Dentífrica - Proteção Total</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Própolis; - Salva; - Hortelã-pimenta; - Óleos essenciais de limão, eucalipto e mirra; - Monofluorfosfato de sódio (1450ppm); - Glicerofosfato de cálcio; - Xilitol; - Entre outros. 	<ul style="list-style-type: none"> - Prevenção da formação da placa bacteriana (própolis e óleos essenciais de hortelã-pimenta, limão, mirra e eucalipto); - Proteção contra as cáries e fortalecimento do esmalte (própolis, flúor 1450ppm, glicerofosfato de cálcio e xilitol); - Prevenção da gengivite e refrescar o hálito (própolis, salva e óleos essenciais de hortelã-pimenta, limão, mirra e eucalipto); 	Não descritas.	Não descritas.	<p>Escovar os dentes 2-3 vezes por dia, após cada refeição.</p> <p>Utilizar a quantidade de uma ervilha em crianças até aos 6 anos de idade com supervisão de um adulto.</p>
 <p>Elixir Natural - Proteção Total</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Própolis; - Salva; - Mirra; - Aloé; - Laranja-azedada; - Óleos essenciais de hortelã e limão; - Lactato de cálcio; - Sorbitol; - Entre outros. 	<ul style="list-style-type: none"> - Prevenção da formação de placa bacteriana (própolis, extrato de laranja-azedada e óleos essenciais de limão e hortelã); - Proteção contra a deterioração do esmalte do dente (própolis, óleos essenciais e lactato de cálcio); - Proteção contra as irritações (mirra, salva e aloé); -Refrescar o hálito (óleos essenciais de limão e hortelã). 	Crianças com idade inferior a 6 anos de idade.	Não descritas.	<p>Após escovagem dos dentes utilizar 15mL da solução para limpar cavidade oral bochechando durante 30 segundos.</p>
 <p>Máscara Purificante - Pele Oleosa</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Própolis; - Argila de Heilmoor Immortelle; - Pantenol; - Vitamina E; - Óleo essencial de limão; - Infusão de chá grego da montanha. A substituição da água pelo chá grego da montanha é devido ao seu poder antioxidante. 	<ul style="list-style-type: none"> - Limpar e regular a pele oleosa com tendência acneica (tintura de própolis, argila de Heilmoor Immortelle, ambos apresentam ação antisséptica, antibacteriana e antimicrobiana); - Suavizar a pele (vitamina E e pantenol); - Sensação de limpeza e frescura (óleo essencial de limão). 	Não descritas.	Não descritas.	<p>Aplicar uma camada generosa sobre a pele limpa, evitando o contorno dos olhos.</p> <p>Deixar atuar durante 10 minutos, de seguida enxaguar abundantemente com água.</p> <p>Utilizar 1-2 vezes por semana.</p>

Tabela 2 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da marca APIVITA®. (“APIVITA®- Pastilhas Eucalipto & Própolis”, 2020; “APIVITA® - Champô Anticaspa Seca”, 2020)



APIVITA®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 <p>Champô - Anticaspa Seca</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Aipo; - Extrato de própolis; - Salgueiro-branco; - Mel; - Óleos essenciais de árvore-do-chá e lavanda; - Infusão de alecrim, pantenol e saponária; - Apishield HS (complexo vegetal que consiste na combinação de 7 oligossacarídeos provenientes do algodão do México, 1 oligossacarídeo prebiótico e arginina que protege a flora biológica e reforça a proteção capilar contra agressões externas (poluição, <i>styling</i>)). 	<ul style="list-style-type: none"> - Limpar e tratar a secura do couro cabeludo, equilibrando a sua flora natural eliminando as células mortas; - Hidratar o couro cabeludo e aliviar a sensação de prurido (aipo, extrato de própolis, mel e óleo essencial de alfazema); <p>Num estudo clínico realizado em 25 voluntários durante 4 semanas: 76% acalmaram a sensação de prurido, 72% combateram eficazmente a secura do couro cabeludo, 92% hidrataram o couro cabeludo e 92% verificou-se o cabelo mais suave.</p>	Não descritas.	Não descritas.	Aplicar uma pequena quantidade do couro cabeludo, massajar suavemente e enxaguar abundantemente com água.
 <p>Pastilhas Eucalipto & Própolis - Alívio da dor de garganta e tosse</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrato de própolis (1%); - Ácido ascórbico (vitamina C); - Óleo essencial de eucalipto; - Sais de magnésio de ácidos gordos; - Sucralose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Aliviar a dor de garganta e acalmar a tosse facilitando a respiração (eucalipto); - Oferece uma ação antioxidante e antisséptica suave (própolis e ácido ascórbico); - Fortalecimento do corpo durante a gripe e a constipação. (vitamina C – contém 12% da dose diária recomendada (DDR)) 	Não descritas.	Não descritas.	<p>Consumir até 6 pastilhas por dia.</p> <p>O seu consumo em excesso pode causar efeitos laxativos.</p>

Tabela 3 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da gama ARKOCÁPSULAS®, da marca ARKOPHARMA®. (“ARKOCÁPSULAS® Própolis”, 2020)


ARKOPHARMA® - GAMA ARKOCÁPSULAS®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 <p>ARKOCAPSULAS® Própolis</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Extrato de própolis (250mg/cápsula); - Celulose; - Sais de magnésio; - Sais de ácidos gordos; - Entre outros. 	<ul style="list-style-type: none"> - Fortalecimento das defesas naturais; - Ajuda a equilibrar o organismo, regulando o sistema imunitário. 	<p>Não tomar em caso de alergia conhecida a produtos apícolas.</p> <p>Não recomendado durante a gravidez e amamentação.</p>	Não descritas.	Tomar 3 cápsulas por dia, de preferência ao pequeno-almoço com bastante água.

Tabela 4 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da gama ARKOREAL®, da marca ARKOPHARMA®.
 (“ARKOREAL® Protect Júnior”, 2020)


ARKOPHARMA® - GAMA ARKOREAL®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 ARKOREAL® - Protect Júnior	<ul style="list-style-type: none"> - Água; - Xarope de frutose; - Xarope de glucose desidratada; - Mel; - Extrato de própolis (obtido a partir de 65mg de própolis para uma dose de 5mL); - Geleia real; - Vitamina C; - Aroma de morango; - Ácido cítrico; - Sorbato de potássio. 	<ul style="list-style-type: none"> - Contribuir para o normal funcionamento do sistema imunitário; - Ajudar a diminuir o cansaço e fadiga; - Fortalecer as defesas naturais. 	<ul style="list-style-type: none"> Não recomendado durante a gravidez e amamentação. Não recomendado em crianças com idade inferior a 3 anos de idade. Não tomar em caso de alergia conhecida a algum dos ingredientes, nomeadamente a produtos apícolas. Devido ao seu conteúdo em açúcar, não é aconselhado a diabéticos. 	Não descritas.	Agitar antes de usar, e colocar em local fresco após abertura do frasco. <u>Dos 3 aos 6 anos de idade:</u> 1 colher de 5mL por dia. <u>A partir dos 6 anos de idade:</u> 2 colheres de 5mL por dia.

Tabela 5 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da gama ARKOVOX®, da marca ARKOPHARMA®.
 (“ARKOVOX® Própolis+VitaminaC - Sabor a menta”, 2020; “ARKOVOX® Própolis Xarope”, 2020)



ARKOPHARMA® - GAMA ARKOVOX®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 ARKOVOX® - Própolis & Vitamina C - Sabor a menta 24 comprimidos para chupar	<ul style="list-style-type: none"> - Extrato seco de raiz de malvaíscio; - Papaína extraída da folha da papaia; - Extrato de própolis (30mg por comprimido); - Vitamina C (20mg por comprimido); - Aroma natural a menta; - Entre outros. 	<ul style="list-style-type: none"> Deve ser tomado aos primeiros sinais de dor de garganta e tosse. - Contribuir para o bem-estar respiratório; -Ajudar a suavizar e acalmar a garganta, faringe e cordas vocais; 	<ul style="list-style-type: none"> Não recomendado durante a gravidez e amamentação. Não recomendado em crianças com idade inferior a 6 anos de idade. 	Não descritas.	Chupar 1 a 3 comprimidos por dia. Um consumo excessivo dos comprimidos pode ter efeitos laxativos.
 ARKOVOX® - Própolis Xarope	<ul style="list-style-type: none"> - Extrato da folha de Eucalipto; - Extrato de folha de Malva; - Extrato das partes aéreas de Equinácea; - Extrato de própolis; - Água; - Mel; - Aroma natural a menta e ácido cítrico; -Entre outros. 	<ul style="list-style-type: none"> - Contribuir para o normal funcionamento do sistema imunitário; - Fortalecer as defesas naturais. 	<ul style="list-style-type: none"> Não tomar em caso de alergia conhecida a algum dos ingredientes, nomeadamente a produtos apícolas. Devido ao seu conteúdo em açúcar, não é aconselhado a diabéticos. 	Não descritas.	Agitar antes de tomar. <u>Dos 3 aos 6 anos de idade:</u> 1 colher de 5mL, 2vezes por dia. <u>Dos 6 aos 12 anos de idade:</u> 2 colheres de 5mL, 3vezes por dia. <u>A partir dos 12 anos de idade:</u> 2 colheres de 5mL, 3vezes por dia.

Tabela 6 – Produtos atualmente no mercado português, contendo própolis da marca ABOCA®. (“ABOCA® - Propol2 EMF Comprimidos orodispersíveis”, 2020; “ABOCA® - Propol2 EMF Spray Forte”, 2020)

ABOCA®					
Produto	Composição	Indicações/Propriedades	Contraindicações	Interações	Modo de utilização
 <p>Propol2 EMF - Spray Forte</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Glicerina de origem vegetal; - Extrato hidroalcoólico multifraccionado de própolis (Propol2 EMF); - Água; - Óleo essencial de limão. 	<ul style="list-style-type: none"> - Indicado no tratamento da dor de garganta assim como em pequenas lesões na boca devido, por exemplo, a tratamentos dentários ou ao uso de aparelhos ortodônticos e dentaduras, proporcionando um bem-estar na cavidade oral; 	<ul style="list-style-type: none"> - Não recomendado em crianças com idade inferior a 6 anos de idade, sem supervisão de um adulto. 		<ul style="list-style-type: none"> Agitar antes de usar. Aplicar o <i>spray</i> diretamente na cavidade bucal. 4 nebulizações por aplicação, podendo repetir ao longo do dia.
 <p>Propol2 EMF - Comprimidos Orodispersíveis</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Açúcar de cana; - Inulina de raiz de chicória; - Sumo de laranja liofilizado; - Goma de acácia; - Mel liofilizado; - Extrato de flores de tília liofilizado; - Aroma natural de laranja; - Extrato liofilizado multifraccionado de própolis (Propol2 EMF); - Óleo essencial de limão. 	<ul style="list-style-type: none"> - Contribui para as defesas naturais do organismo, sobretudo no inverno; - Acalmar a dor e reduzir a hipersensibilidade da cavidade oral; - Forma uma barreira protetora na mucosa inflamada, neutralizando a inflamação, aliviando a sensação de desconforto e facilitando a deglutição. 	<ul style="list-style-type: none"> - Não usar em caso de gravidez ou amamentação. - Não utilizar em caso de alergia a produtos apícolas ou ao pólen, bem como indivíduos asmáticos e atópicos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Não descritas. 	<ul style="list-style-type: none"> Recomenda-se 3 a 5 comprimidos ao longo do dia. Para obter o máximo de benefício, deixar dissolver o comprimido lentamente na boca.

2. PELE HUMANA

2.1. Aspetos Gerais

A pele humana constitui a fronteira entre o corpo e o meio exterior, do qual nos separa, permitindo em simultâneo interagir com este. Esta fronteira permite proteger o corpo de agressores externos (abrasão, luz ultravioleta) e biológicos (microrganismos, proteínas estranhas e outros), influenciando a regulação corporal, assumindo também funções sensoriais, imunológicas e bioquímicas (Nguyen & Soulika, 2019; Seeley, D.Stephens, & Tate, 2011).

Uma das principais funções da pele é a função barreira, desempenhada principalmente pelo estrato córneo (SC) que é a camada mais externa da pele. Esta propriedade evita que ocorram perdas de água e eletrólitos, permitindo assim manter o conteúdo hídrico do organismo (Lukaski, Vega Diaz, Talluri, & Nescolarde, 2019).

O estrato córneo funciona como uma barreira, mas, não sendo totalmente impermeável, pode constituir uma via de administração de compostos bioativos. O transporte através do SC ocorre fundamentalmente por difusão passiva, no entanto, a substância aplicada na pele pode penetrar a mesma pela via transepidérmica (através da via transcelular e/ou intercelular) e/ou pela via transanexial (através dos anexos cutâneos, tais como a via folicular, glândulas sebáceas ou glândulas sudoríparas) (Lane, 2011).

O pH da superfície cutânea é de 5,4 a 5,9, o que permite um efeito protetor contra os microrganismos, no entanto, em recém-nascidos o pH é mais próximo da neutralidade (pH=7), diminuindo desta forma a defesa da pele contra estes. Sabe-se que o pH também contribui para integridade e coesão do SC, pois os processos homeostáticos da epiderme são regulados por este fator, entre outros. Assim, um pH acima de 7 é responsável por uma permeabilidade aumentada da barreira e diminuição da integridade e coesão do SC, enquanto que um pH ácido (pH<7) promove resistência da pele à rutura (Kilic et al., 2019; Nguyen & Soulika, 2019; Vollmer, West, & Lephart, 2018).

A estrutura da pele dos mamíferos é composta preferencialmente por três camadas distintas a epiderme (mais superficial), derme e hipoderme que, de seguida, serão abordadas detalhadamente. Adicionalmente, existem também os anexos da pele, tais como, os folículos pilosos, tendo associados músculos lisos chamados de eretores do pelo, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e as unhas (Seeley et al., 2011).

2.2. Anatomia e fisiologia

A pele é o maior órgão do corpo humano com uma área de superfície de aproximadamente 2m² e uma espessura normalmente compreendida entre 0,5 – 4mm, constituindo cerca de 16% do peso total do corpo adulto (Bragazzi et al., 2019; Chang, Raw, Lionberger, & Yu, 2013; Vollmer et al., 2018).

Histologicamente, é composta principalmente por três camadas distintas: epiderme, derme e hipoderme como demonstra a **Figura 6**.

Os anexos da pele, tais como, os pelos e os folículos pilosos, glândulas sudoríparas e glândulas sebáceas ilustrados na **Figura 6** proporcionam uma barreira defensiva para o ambiente externo.

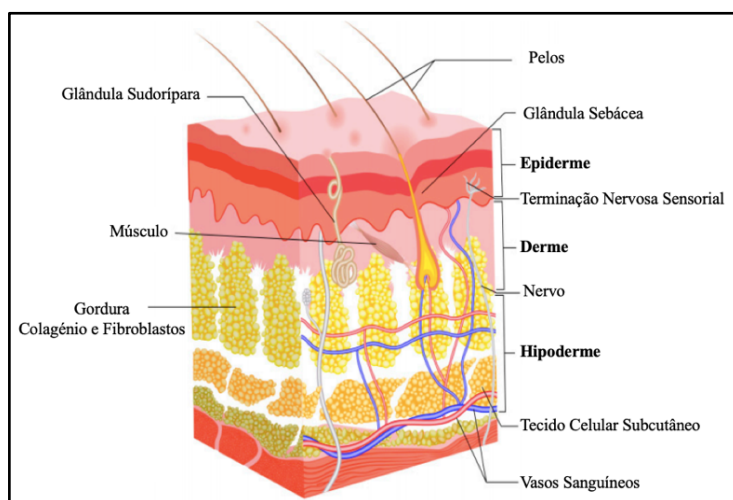


Figura 6 – Estrutura da pele evidenciando a epiderme, derme e hipoderme. (Bragazzi et al., 2019)

Epiderme

A epiderme é a camada mais superficial e biologicamente ativa devido à camada basal que se apresenta em constante renovação. (Wong, Geyer, Weninger, Guimberteau, & Wong, 2016)

A camada mais superficial da pele é constituída por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, contactando com a derme por uma camada basal. A epiderme não é tão espessa como esta, e apresenta um ambiente avascular, sendo nutrida por difusão a partir da derme (Jepps, Dancik, Anissimov, & Roberts, 2013).

A maior parte das células da epiderme são designadas por queratinócitos responsáveis por sintetizar a queratina que confere a esta camada a capacidade de resistir à abrasão e reduzir a perda de água. Existem ainda outras células da epiderme, tais como os melanócitos que contribuem para a cor da pele e proporcionam proteção contra a radiação UV, as células de

Langerhans, que fazem parte do sistema imunitário e as células de Merkel, que são responsáveis por detetar o tato e pressão superficial (Jepps et al., 2013; Seeley et al., 2011).

Na epiderme, as muitas camadas de células são divididas em estratos ou camadas. Da mais superficial para a mais profunda:

Camada córnea: conhecida como estrato córneo (SC), é a camada mais externa da epiderme e contém essencialmente células anucleadas denominadas corneócitos, dispersos numa matriz de lípidos. As células encontram-se interligadas por desmossomas assegurando a coesão da camada. Os corneócitos têm como principal função proteger a pele da abrasão e da luz UV e prevenir a perda de água mantendo um grau de hidratação adequado (Menon, Cleary, & Lane, 2012; Seeley et al., 2011).

Camada translúcida: apenas se encontra presente na pele espessa (tal como as palmas das mãos e os pés, zonas sujeitas a mais atrito), e encontra-se ausente na pele lisa (Seeley et al., 2011).

Camada granulosa: esta camada é constituída por duas a cinco camadas de células achatadas, sendo que o seu nome se deve à presença de grânulos proteicos no citoplasma. As células libertam os seus componentes lipídicos (ceramidas, colesterol e ácidos gordos) no espaço intercelular, que irão desempenhar um papel fundamental na função de barreira e coesão do SC (Seeley et al., 2011; Venus, Waterman, & McNab, 2011; Wong et al., 2016).

Camada espinhosa: consiste em oito a dez camadas de células multifacetadas ou poligonais. Estas células encontram-se unidas por junções celulares, desmossomas, formando “espinhos” que podem ser vistos ao microscópico, daí o seu nome. Nesta camada já não se verificam divisões celulares e é nesta camada que podem ser identificadas as células de *Langerhans* (Seeley et al., 2011; Venus et al., 2011).

Camada basal ou germinativa: é constituída por células cúbicas ou cilíndricas, principalmente por queratinócitos que dão, continuamente, origem a novas “células filhas”. Os queratinócitos têm a capacidade de se proliferarem e diferenciarem, enquanto migram para a superfície da pele. Para além destas células, existem os melanócitos que são responsáveis por produzir e fornecer a melanina que protege a pele da luz UV e garantem a cor da mesma. Por fim, nesta camada também estão presentes as células de *Langerhans* e as células de *Merkel* (Seeley et al., 2011; Venus et al., 2011; Wong et al., 2016).

Através da divisão celular na camada basal e posterior migração das células pelos diferentes estratos, a epiderme é renovada, em média, a cada dois meses e meio (Yousef, Alhaji, & Sharma, 2017).

Derme

A derme encontra-se limitada externamente pela epiderme e internamente pela hipoderme, sendo constituída por tecido conjuntivo com fibroblastos, algumas células adiposas e macrófagos. Relativamente à sua espessura, esta varia consoante o local do corpo, por exemplo, nas pálpebras a sua espessura é inferior a 1mm e nas costas poderá ter mais de 4mm, de qualquer das formas é considerada a camada mais espessa da pele (Gratieri, Martins, Fonseca, & Lopez, 2008; Seeley et al., 2011; Venus et al., 2011).

A principal fibra do seu tecido conjuntivo é o colagénio que confere estrutura à pele, contudo, em menor quantidade também está presente a elastina que confere elasticidade. Os fibroblastos presentes nesta camada sintetizam tanto as fibras de colagénio como as fibras de elastina (Seeley et al., 2011; Venus et al., 2011; Yousef et al., 2017).

Nesta camada é possível encontrar as terminações nervosas, folículos pilosos, músculos lisos, glândulas sudoríparas, glândulas sebáceas e vasos sanguíneos que fornecem o suporte nutricional e estrutural através da troca de gases e nutrientes. As glândulas sebáceas são produtoras de sebo, mistura complexa de lípidos, que lubrifica e protege a pele. Por fim, as glândulas sudoríparas produzem suor, uma secreção constituída por água, sais minerais e alguns produtos de excreção, tal como a ureia (Seeley et al., 2011; Wong et al., 2016).

Esta camada é responsável pela resistência estrutural e flexibilidade da pele e, ainda, pela troca de gases, nutrientes e metabolitos, como já foi mencionado anteriormente.

A derme encontra-se dividida por duas camadas:

Camada papilar: é a mais superficial e a mais fina, apresenta finos feixes de colagénio e de elastina, bem como água, eletrólitos, complexos de polipéptidos, e por fim vasos sanguíneos e linfáticos. O seu nome deve-se a prolongamentos denominados de papilas que se estendem em direção à epiderme (Jepps et al., 2013; Seeley et al., 2011).

Camada reticular: é a mais profunda e principal camada da derme, constituída por tecido conjuntivo denso e irregular, contínuo com a hipoderme. Esta camada relativamente à papilar possui fibras de colagénio e de elastina de maior diâmetro, sendo, maioritariamente, avascular e acelular. A camada reticular forma um tapete de fibras de colagénio e de elastina resistentes à distensão da pele em muitas direções (Seeley et al., 2011; Wong et al., 2016).

Hipoderme

A hipoderme é a camada que conecta a pele às estruturas mais profundas, como os músculos e ossos, fornecendo vasos sanguíneos e nervos. Esta camada é constituída por tecido conjuntivo

laxo com abundantes depósitos de gordura (células adiposas), com fibras de colagénio, de elastina e macrófagos.

O tecido adiposo tem um papel importante na termorregulação corporal e constitui a reserva energética e lipídica do organismo. A quantidade de gordura na hipoderme é responsável pelas diferenças corporais entre indivíduos, visto que varia consoante idade, sexo e alimentação (Jepps et al., 2013; Seeley et al., 2011).

II – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CICATRIZANTE E REGENERADORA DE FORMULAÇÕES CONTENDO PRÓPOLIS

2.1. Introdução

A pele é um dos órgãos mais importantes e maiores do nosso organismo, protege não só o indivíduo contra diversos agressores externos e biológicos, mas também está suscetível a vários distúrbios e lesões (feridas) (Chang et al., 2013).

Uma ferida é representada por uma interrupção da continuidade normal das estruturas da pele, podendo atingir desde a epiderme, até a estruturas mais profundas. Pode ser causada por qualquer tipo de trauma físico, químico, mecânico ou desencadeada por uma afeição clínica (Ramalho et al., 2018).

As feridas podem ser classificadas em agudas ou crônicas, estando as agudas associadas a um processo de cicatrização mais simples, organizado e habitualmente rápido. As principais causas das feridas agudas são traumatismos, seguido de feridas térmicas, infecciosas, químicas, entre outras. A ferida crônica apresenta um tempo de cicatrização superior ao esperado devido à sua etiologia, visto que está relacionada com alterações nas funções anatómicas e fisiológicas dos tecidos e, muitas vezes, com patologias sistêmicas associadas (Malaquias, 2015; Ramalho et al., 2018).

Na cicatrização de feridas, um tecido lesado é substituído por um tecido conjuntivo vascularizado, contudo, o processo é complexo e dinâmico, envolvendo diferentes tipos de células (queratinócitos, fibroblastos, células endoteliais e células nervosas), fatores de crescimento, citocinas, entre outros (Saghazadeh et al., 2018).

Tradicionalmente, o processo de cicatrização de feridas é dividido em quatro fases sobrepostas de hemostasia, inflamação, proliferação e por fim maturação (contração da ferida) (Wilhelm, Wilhelm, & Bielfeldt, 2017).

A hemostasia inicia-se imediatamente após a lesão e destina-se a controlar o sangramento e limitar a propagação de microrganismos dentro do corpo, envolvendo vários eventos, tais como, a constrição vascular, agregação das plaquetas e a formação de coágulos e, conseqüentemente, o desenvolvimento de uma crosta que fornece proteção e suporte ao tecido lesado (R. F. Pereira & Bártolo, 2016; Saghazadeh et al., 2018).

A fase inflamatória ocorre em simultâneo com a hemostasia e dura cerca de três dias. Durante esta fase ocorre a libertação de várias citocinas pró-inflamatórias, espécies reativas de oxigénio, fatores de crescimento, entre outros para limpeza da ferida. Os fatores de crescimento desempenham um papel importante na comunicação entre as células e a matriz extracelular, estimulando o recrutamento, proliferação e diferenciação celular. Os neutrófilos são células predominantes na fase inflamatória, ativadas 24 horas após a lesão, tendo como principal função inibir a penetração de microrganismos exógenos (R. F. Pereira & Bártolo, 2016; Wilhelm et al., 2017).

Cerca de dois dias após ocorrer a ferida, inicia-se a fase de proliferação, em que os monócitos e os linfócitos estimulam citocinas, fatores de crescimento e quimiocinas que migram para o local do ferimento e se diferenciam em macrófagos que têm como principal função a fagocitose das células mortas e iniciam a formação do tecido de granulação. O tecido de granulação é o resultado do crescimento de vasos capilares e linfáticos a partir de vasos existentes no local da lesão (Saghazadeh et al., 2018).

Por fim, na fase de maturação, o novo tecido é continuamente remodelado até que a composição e propriedades sejam próximas às do tecido saudável, começa algumas semanas após o ferimento e pode durar mais de um ano (R. F. Pereira & Bártolo, 2016).

O objetivo final do processo de cicatrização é a regeneração da pele lesada sem formação de cicatriz (De Mendonça & Coutinho-Netto, 2009; R. F. Pereira & Bártolo, 2016; Saghazadeh et al., 2018).

Nos últimos anos, tem-se verificado um interesse crescente pelas abordagens seguidas na medicina popular, muito baseada na utilização de produtos naturais. Como já foi referido anteriormente, o própolis e os seus constituintes apresentam diversas atividades, desde a atividade anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antiviral, entre outras.

Na antiguidade, este produto natural já era utilizado e considerado por alguns, como um medicamento para problemas cutâneos (Filho, Bicalho, & Silva, 2012).

Em 2002, foi realizado um estudo comparativo entre um creme contendo própolis e outro de sulfadiazina de prata (bacteriostático), tendo os resultados mostrado que queimaduras tratadas com própolis apresentaram uma menor inflamação e mais rápida cicatrização, quando comparado com os que foram tratados com sulfadiazina de prata (Gregory, Piccolo, Piccolo, Piccolo, & Heggors, 2002).

Segundo Anjum et al. (2018), o própolis tem a capacidade de reparar tecidos e regenerar as lesões, devido às suas características imunomoduladoras, anti-inflamatórias e antimicrobianas.

Observou também que o própolis diminui a quantidade de radicais livres na lesão inflamatória e aumenta o desenvolvimento do colagénio e dos seus constituintes.

Contudo, a grande maioria desses estudos foram realizados *in vitro* ou usando animais. Assim, este trabalho teve como principal objetivo o estudo *in vivo* e em humanos da capacidade regeneradora e cicatrizante de formulações de própolis.

Assim, foi utilizado, como modelo de lesão, um dano controlado e de espessura parcial na pele que consiste na remoção sistemática de camadas sucessivas da epiderme com fita adesiva- um processo conhecido como *tape-stripping*. Devido à remoção do estrato córneo, a função de barreira da pele é temporariamente comprometida. Embora seja uma lesão superficial, é suficiente para desencadear os processos de reparação epidérmicos (Gao, Wang, Chen, Li, & Liu, 2013).

No entanto, este tipo de lesão é variável e depende de vários fatores metodológicos, tal como a adesividade da fita, a pressão exercida quando se aplica a fita sobre a pele, a velocidade e a direção da remoção da mesma e, o mais importante, o número das tiras de fita que são aplicados, tendo sido, neste trabalho, todos estes fatores padronizados (Wilhelm et al., 2017).

Tendo em conta os objetivos do presente estudo, a função da “barreira” foi avaliada através da perda transepidérmica de água (PTEA), obtida por evaporimetria, a hidratação superficial epidérmica foi medida através de capacitância e, por fim, a avaliação do grau de eritema e da luminosidade através dos valores de a^* e L , respetivamente, obtidos através de colorimetria.

2.2. Material e métodos

O estudo foi realizado em cinco voluntários saudáveis do sexo feminino com idade média de $25,40 \pm 2,61$ anos, após consentimento informado. O estudo foi realizado de acordo com os princípios estipulados na Declaração de Helsínquia e suas atualizações posteriores.

Formulações

Foram preparadas duas formulações diferentes contendo extratos de própolis:

EC – Extrato de Própolis H5® (Espires, França)

P – Extrato de Própolis Nativo (região de Caramulo, Portugal)

Foi ainda preparada uma outra formulação de carbómero (Formulação Branco), tal como detalhado na **Tabela 7**.

Tabela 7 – Composição qualitativa e quantitativa em % (p/p) das diferentes formulações usadas no estudo.

Componentes	Formulações		
	Branco	EC	P
Água	Q.b.p. 100	Q.b.p. 100	Q.b.p. 100
Carbómero	1	1	1
Trietanolamina	0,5	0,5	0,5
PEG-40-hidrogenada, óleo de castor, etoxidiglicol	-	10	-
Propilenoglicol	10	-	10
Extrato de Própolis	-	0,5	0,5

Protocolo Experimental

A área anatómica escolhida para o estudo foi a parte interna do antebraço dos voluntários por ser um local quase desprovido de pilosidade e ser de fácil acesso, tendo sido aleatorizado o antebraço esquerdo e direito.

Em cada voluntário foram delineadas 4 áreas de estudo:

1. Controlo não tratado;
2. Aplicação de formulação Branco;
3. Aplicação de formulação EC;
4. Aplicação de formulação P.

Os voluntários foram sujeitos às medições basais para a descrição quantitativa das propriedades cutâneas e das respetivas funções de “barreira” e de “envelope” antes de efetuar a metodologia designada *tape-stripping*.

As propriedades biomecânicas da pele foram avaliadas com os seguintes parâmetros:

Perda Transepidérmica de Água (PTEA): é obtida por evaporimetria, através do equipamento Tewameter® TM300 (*Courage Khazaka Eletronic GmbH*, Colónia, Alemanha), que se expressa em $g/h \cdot m^2$. A PTEA é um indicador objetivo comumente utilizado para descrever a função de “barreira” epidérmica. (M. M. Pereira, Saraiva, & Monteiro Rodrigues, 2011)

A PTEA é o termo usado para indicar a quantidade de água capaz de atravessar o estrato córneo por difusão passiva, isto é, refere-se à quantidade total de vapor de água que atravessa a pele seguindo o seu gradiente de concentração (Rodrigues, Contreiras Pinto, & Pereira, 2003; Wa & Maibach, 2010).

O Tewameter® TM300 é um evaporímetro de bioengenharia cutânea que permite detetar com precisão este parâmetro, quer em situações basais, quer após aplicação de substâncias que alteram a eficácia da barreira cutânea. Consiste num método de câmara aberta cujo princípio de funcionamento se baseia na Lei de difusão de Fick, que permite determinar a água transportada por uma área definida e em determinado período de tempo (Farahmand, Tien, Hui, & Maibach, 2009; Pinnagoda, Tupkek, Agner, & Serup, 1990; Rosado, Ferreira, Contreiras Pinto, & Monteiro Rodrigues, 2012).

A Lei de difusão de Fick é definida pela seguinte equação,

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

em que:

$\frac{dm}{dt}$ – Corresponde ao fluxo de difusão expresso em $g / h / m^2$, representando a massa(m) de água transportada em gramas num determinado período de tempo (t) em horas;

D – Corresponde à constante de difusão do vapor de água no ar atmosférico ($D = 0,0877 g / m(h(mmHg))$);

A – Corresponde à área de superfície de contacto (m^2);

$\frac{dp}{dx}$ – Corresponde à pressão de vapor atmosférico (p) em mmHg em função do comprimento entre o local de medição e o local da superfície da pele em metros.

(“Tewameter® Courage-Khazaka-Scientific-Devices.”, 2020)

O Tewameter® TM300, **Figura 7**, consiste numa sonda cilíndrica, aberta nas duas extremidades, ligada a um processamento de sinal, que pode ser ligada a um computador para gestão de dados. A sonda apresenta dois pares de sensores, dois sensores de humidade emparelhados com dois sensores de temperatura, quando aplicada a sonda, esta deve estar colocada perpendicularmente sobre a zona da pele a analisar (Du Plessis et al., 2013; Rogiers & Group, 2001).

A determinação da PTEA apresenta algumas condicionantes tais como a turbulência, a humidade relativa ambiental, a temperatura, a má colocação/pressão da sonda sobre a pele e, por fim, a calibração do equipamento, que devem ser cuidadosamente monitorizados de forma a garantir a precisão dos resultados (Du Plessis et al., 2013).



Figura 7 – Tewameter® TM300.
(“Tewameter® Courage-Khazaka-Scientific-Devices.”, 2020)

Hidratação superficial epidérmica: pode basear-se na medição elétrica da capacitância, da condutância ou da impedância. Neste trabalho foi utilizado um equipamento que mede capacitância – Corneometer® CM825 (*Courage Khazaka Eletronik GmbH*, Colónia, Alemanha), que se expressa em U.A. (Rosado, Barbosa, Fernando, Antunes, & Rodrigues, 2015).

A capacitância é uma grandeza elétrica que é determinada pela quantidade de energia elétrica que pode ser acumulada pela pele e pela quantidade de corrente alternada que a atravessa numa determinada frequência. Quanto maior for o teor de água no SC maior será a capacitância epidérmica (Terazawa, Karita, Kumagai, & Sasaki, 2018).

O conteúdo hídrico do estrato córneo influencia as suas propriedades e funções, desde a integridade da barreira cutânea, assim como o comportamento biomecânico (elasticidade, força tênsil). Quando o SC apresenta uma quantidade adequada de água mantém a sua função de

“barreira”, apresentando-se lisa, macia, flexível e saudável (Gérald E. Piérard, 1999; Rosado et al., 2015).

Apesar da natureza lipofílica do SC, este tem a capacidade de reter água devido às ligações entre os corneócitos, às regiões polares lipídicas e ao Fator Humectante Natural (NMF). O NMF consiste numa mistura de substâncias hidrocópias (ureia, aminoácidos, sais minerais) que permitem a fixação de água nos corneócitos (Arezki, Williams, Cobb, & Brown, 2017; Rosado et al., 2015; Soltanipoor et al., 2018).

A hidratação cutânea é influenciada por vários fatores, tais como, a capacidade de retenção de água no SC, a percentagem de água que atinge o SC através das camadas mais profundas e pela quantidade que evapora à superfície cutânea. Contudo, o sebo e o NMF também influenciam o grau de hidratação da pele, assim como o envelhecimento cutâneo, que reduz a formação do NMF (Lee et al., 2018; Rosado et al., 2015).

A hidratação do SC é um importante fator quer no estado normal quer em situações patológicas, tais como, uma lesão cutânea ou de exposição a agentes “agressores”.

Desta forma, a função de “barreira” foi avaliada através do aparelho Corneometer® CM825 (*Courage Khazaka Eletronic GmbH*, Colónia, Alemanha).

O equipamento que mede a hidratação, **Figura 8**, consiste numa sonda onde se encontram dois circuitos paralelos (condensador) que, quando aplicado sobre a pele, emite um campo elétrico que atinge o SC promovendo mudanças na capacitância do mesmo (“Corneometer®- Courage-Khazaka-Scientific-Devices”, 2020).

A capacitância da superfície cutânea é convertida em U.A. que, teoricamente, varia entre 0 U.A. (pele desidratada) e 120 U.A. (pele hidratada) (“Measurement units - Corneometer®- Courage-Khazaka-Scientific-Devices”, 2020).

A medicação da mesma apresenta alguns fatores que podem influenciar a determinação da hidratação cutânea, tais como, fatores relacionados com o ambiente (temperatura e humidade relativa), fatores inerentes ao indivíduo (idade, género e zona anatómica) e, por fim, fatores relacionados com o próprio equipamento (má posição ou pressão com a sonda sobre a pele e calibração) (Park, Lee, Choe, & Ahn, 2012).

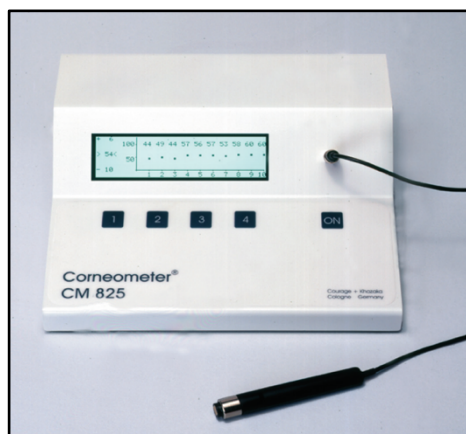


Figura 8 – Corneometer® CM825
 (“Corneometer®- Courage-Khazaka-Scientific-Devices”, 2020)

Colorimetria cutânea: consistiu na avaliação do grau de eritema (estimado a partir dos valores de a^* , que refletem a intensidade da cromaticidade vermelha) e da luminosidade (L^*) baseado no princípio da absorção através do equipamento Chromameter® CR-300 (Minolta, Osaka, Japão), em que os seus valores são expressos em U.A. (Pinto & Rodrigues, 2006).

A cor da pele resulta da absorção e da reflexão seletiva de radiações com comprimentos de onda específicos, a olho nu está compreendido entre 400-700nm, seguido da interpretação subjetiva do cérebro. A cor percebida é uma combinação dos registos de azul, vermelho e verde (G. E. Piérard, 1998).

Porém, a coloração da pele deve-se, essencialmente, à presença de diferentes pigmentos, tais como, a melanina, presente na epiderme, que confere à pele a tonalidade amarela a castanha e também à presença da hemoglobina, presente na derme, que é responsável pelas tonalidades azul e vermelha (Fullerton et al., 1996; G. E. Piérard, 1998).

A coloração cutânea é um indicador importante para avaliar a recuperação das propriedades de “barreira” cutânea após uma lesão. Nesse sentido, este trabalho baseou-se na colorimetria cutânea através do equipamento Chromameter® CR-300. Este equipamento utiliza o modelo CIELab (Pinto & Rodrigues, 2006; Polo, Montero, & Casado, 2019).

O modelo CIELab foi definido pelo sistema da CIE (Comissão Internacional de Iluminação), em 1976, sendo que este espaço representa as cores básicas em três unidades (L^* , a^* , b^*). O parâmetro L^* refere-se ao brilho da cor e à luminosidade, e está compreendido entre o valor 0 para o preto total e 100 para o branco total. O parâmetro a^* exprime a gama que vai do verde ao vermelho, numerados de -100 (valores negativos indica o verde) a +100 (valores positivos indica a quantidade de vermelho). Por fim, o parâmetro b^* exprime a gama do azul ao amarelo,

numerados de -100 (valores negativos indica o azul) a +100 (valores positivos indica a quantidade de amarelo) (Polo et al., 2019).

O Chromameter® CR-300, **Figura 9**, baseia-se numa sonda em que somente a luz refletida perpendicularmente à superfície cutânea é coletada pelo cabo de fibra ótica para análise de cor. Posteriormente, os dados são processados num microcomputador onde apresenta digitalmente os valores obtidos para L*, a* e b* (“Chromameter® CR-300 - Konica Minolta Sensing Americas, Inc.”, 2020).



Figura 9 – Chromameter® CR-300.
(“Chromameter® CR-300 - Konica Minolta Sensing Americas, Inc.”, 2020)

Todas as medições foram realizadas numa sala climatizada, em condições de temperatura e humidade controladas (22 ± 2 °C ; 40-60%), após um período de aclimação de cerca de 20 minutos, para garantir a adaptação dos voluntários e das suas funções cutâneas às condições ambiente.

Posteriormente às medições basais dos parâmetros referidos, foi utilizada a metodologia designada *tape-stripping* que provoca uma lesão controlada da epiderme, como já foi referido anteriormente. Em cada uma das 4 áreas previamente delineadas, procedeu-se 20 vezes à remoção de camadas sucessivas da epiderme com o auxílio de fita adesiva (3M, USA). Sendo que foi padronizada a quantidade de fita e força mecânica a aplicar em cada aplicação.

De seguida, foram aplicadas as formulações anteriormente descritas na respetiva área durante 7 dias, usando adesivos semi-oclusivos (TruMed Technologies, Inc., MN, EUA), tendo sido, durante esse período, realizadas medições diárias dos parâmetros cutâneos anteriormente referidos.

2.3. Resultados e discussão

Neste estudo, todos os dados evidenciados nos gráficos foram analisados com a razão entre os valores obtidos nos diferentes momentos após o tratamento com as formulações e os valores basais, para, desta forma, minimizar o efeito da variabilidade interindividual.

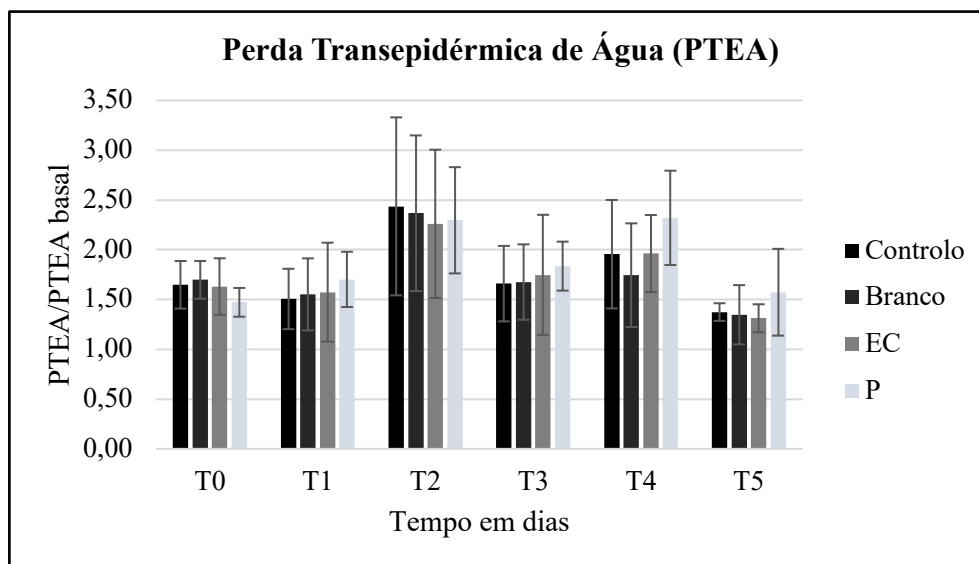


Figura 10 – Gráfico da evolução da PTEA após lesão cutânea. (n=5, média \pm DP)

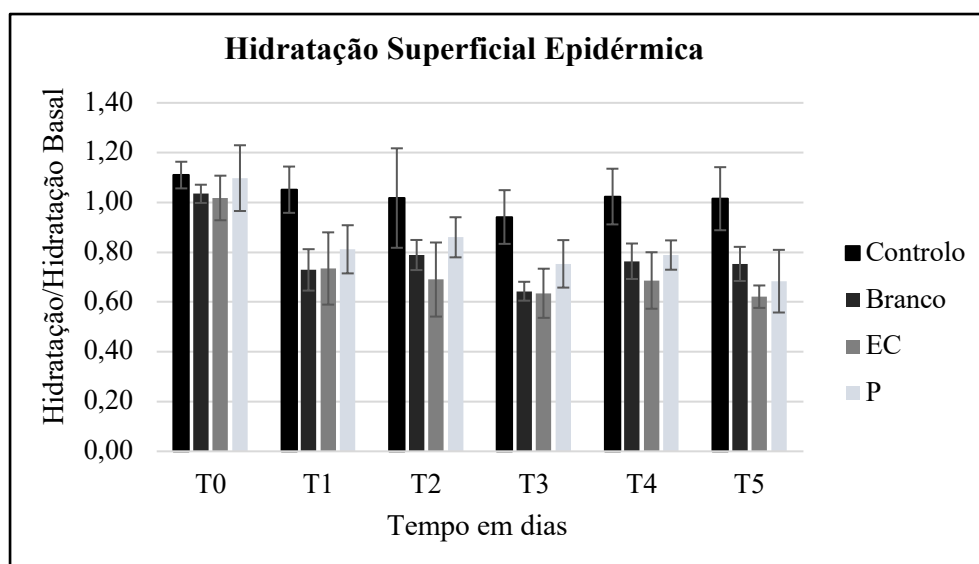


Figura 11 – Gráfico da evolução da hidratação superficial epidérmica após lesão cutânea. (n=5, média \pm DP)

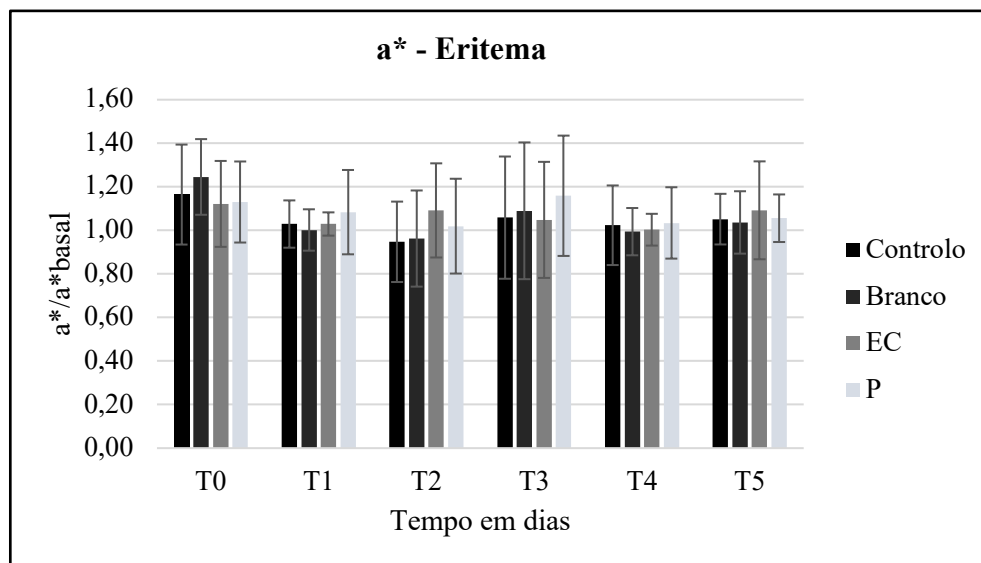


Figura 12 – Gráfico da evolução do grau de eritema (a^*) após lesão cutânea. (n=5, média \pm DP)

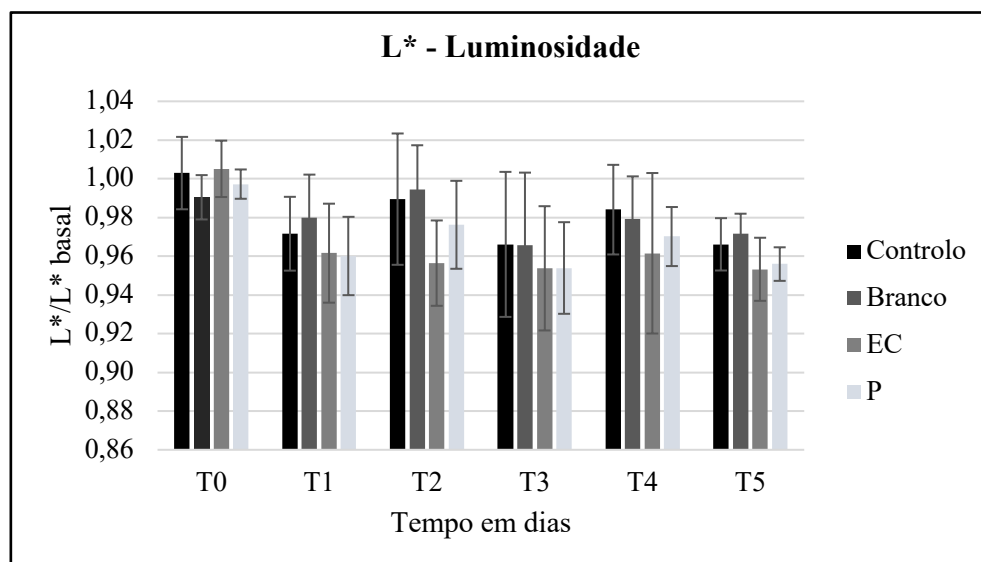


Figura 13 – Gráfico da evolução do grau de luminosidade (L^*) após lesão cutânea. (n=5, média \pm DP)

No que diz respeito à perda transepidérmica de água (PTEA), é possível observar na **Figura 10** que, no 2.º dia, se verifica um aumento significativo nos valores de PTEA, o que demonstra que a “barreira” cutânea se encontra danificada e, desta forma, permite uma elevação na taxa de permeação de vapor de água. Contudo, no 5.º dia continua-se sem se verificar recuperação da barreira cutânea em nenhum dos locais em estudo, o que evidencia que esta talvez possa ser considerada a metodologia mais sensível na aferição da evolução do processo de regeneração cutânea.

Relativamente à hidratação superficial epidérmica, **Figura 11**, verificou-se uma diminuição nos pontos tratados com a formulação Branco e com as formulações contendo própolis, observado logo a partir do dia 1. A formulação Branco não contém própolis na sua formulação, desta forma é razoável pensar que o que pode estar a causar esta diminuição na hidratação são os outros constituintes da formulação, tais como, o carbómero, a trietanolamina ou o propilenoglicol. No entanto, quer o propilenoglicol, quer o carbómero são normalmente referenciados como tendo ação humectante. Por outro lado, esta diminuição da hidratação não foi acompanhada por alterações no valor de L^* como demonstra a **Figura 13**. Estes parâmetros relacionam-se, dado que a pele, com valores de hidratação baixos, se apresenta com uma coloração branca mais intensa, o que normalmente faz com que os valores de L^* aumentem. Por fim, nos resultados obtidos nos parâmetros de a^* e L^* , **Figura 12** e **Figura 13** respetivamente, não foram observadas diferenças significativas entre os valores obtidos na área de estudo controlo e nas áreas tratadas. Desta forma, sabendo que a cicatrização de lesões cutâneas é um processo complexo e dinâmico seria desejável a continuação do estudo por mais dias para se tirarem conclusões mais definidas, e reforçar aos voluntários a importância de, na sua rotina, evitar molhar o antebraço, visto que a água, neste local, vai influenciar os valores de PTEA, assim como os de hidratação superficial epidérmica.

III – AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FORMULAÇÕES CONTENDO PRÓPOLIS

3.1. Introdução

Como já foi mencionado anteriormente, encontram-se várias referências na literatura incidindo sobre o estudo da atividade antioxidante de própolis. No entanto, a maioria destes trabalhos apenas faz uma avaliação *in vitro* e em culturas de células, e os ensaios *in vivo* foram realizados em animais (Curti et al., 2019; Kocot, Kielczykowska, Luchowska-Kocot, Kurzepa, & Musik, 2018).

Barros et al. (2008), num estudo *in vivo* realizado em ratos, demonstraram que a administração oral de própolis (60 mg/Kg durante 14 dias) reduziu os efeitos tóxicos de fármacos de quimioterapia. O própolis modulou a renovação da GST, que é uma das proteínas produzidas pelo corpo para proteger a célula, tecido ou órgão dos radicais livres, isto é, contribuiu para a captura dos metabolitos reativos, reduzindo assim a sua toxicidade.

Noutro trabalho, demonstrou-se que os extratos de própolis protegem a mucosa gástrica do stress oxidativo, impedindo a formação de úlceras, devido, principalmente, à presença do ácido *p*-cumárico e ácido cinâmico, assim como apresentam atividade espasmolítica e efeito protetor de lesões nessa mucosa induzidas pelo etanol (Curti et al., 2019; Liu, Lin, Lin, Lin, & Lin, 2002).

Em relação aos estudos *in vivo* em humanos, Mujica et al. (2017) avaliaram, numa população humana em Talca, no Chile, os efeitos da administração oral (15 gotas, duas vezes ao dia durante 90 dias) de Beepolis® que é um produto com própolis, disponível no mercado, indicado para fortalecer o sistema imunitário. A suplementação de própolis durante 90 dias resultou numa diminuição de substâncias reativas e um aumento nos níveis de GSH. Para além disso, também foi observado, ao 90.º dia, um aumento na concentração de lipoproteína de alta densidade (HDL) (mencionado popularmente como o colesterol “bom”), quando comparado com o valor basal. Esta redução contribui para um risco reduzido de doença cardiovascular (Mujica et al., 2017).

Existindo poucos estudos *in vivo* em humanos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante de formulações de própolis. Foi utilizada uma abordagem baseada no efeito de uma molécula vasodilatadora, nicotinato de etilo, que induz um eritema, permitindo avaliar a microcirculação cutânea através de um equipamento de Fluxometria Laser Doppler (FLD).

Portanto, a avaliação *in vivo* do efeito antioxidante basear-se-á na capacidade das formulações de diminuir a extensão de uma resposta induzida por eritema (Rosado, Lourenço, & Rodrigues, 2008).

A microcirculação cutânea é um parâmetro importante para compreensão dos processos fisiológicos envolvidos na lesão cutânea assim como na sua reparação. A alteração da integridade cutânea pode provocar alterações significativas neste parâmetro (Berardesca et al., 2002).

3.2. Material e métodos

O estudo foi realizado em dezasseis voluntários saudáveis de ambos os sexos, com idade média de $25,88 \pm 3,77$ anos, após consentimento informado. O estudo foi realizado de acordo com os princípios estipulados na Declaração de Helsínquia e suas atualizações posteriores.

Formulações

Foram estudadas as formulações já mencionadas na **Tabela 7**.

Protocolo Experimental

A área anatômica escolhida para este estudo foi, também, a parte interna do antebraço dos voluntários, tendo sido também aleatorizado o antebraço esquerdo e direito.

Em cada voluntário foram delineadas 4 áreas de estudo:

1. Controlo não tratado;
2. Aplicação de formulação Branco;
3. Aplicação de formulação EC;
4. Aplicação de formulação P.

A metodologia seguida compreendeu três fases (fase de pré-tratamento, fase de indução de eritema local e fase de medição da perfusão sanguínea).

A medição de perfusão sanguínea, ou seja, a microcirculação cutânea foi identificada e quantificada por Fluxometria Laser Doppler (LDF) através do equipamento PeriFlux System® 5000 (Perimed, Estocolmo, Suécia), que se expressa em unidades arbitrárias de perfusão sanguínea (BPU's).

A LDF é uma técnica não invasiva, baseada na emissão de uma luz de baixa potência e monocromática que, ao atravessar a pele, colide com várias estruturas, e apenas as estruturas que estiverem em movimento, como é o caso dos glóbulos vermelhos, é que refletem a luz a uma frequência diferente da que foi emitida. O efeito Doppler é o nome que se dá a este desvio de frequências (Bircher, Boer, Agner, Wahlberg, & Serup, 1994).

O PeriFlux System® 5000 (**Figura 14**) utiliza uma sonda, colocada diretamente sobre a superfície da pele, que permite avaliar uma área de superfície com cerca de 1mm^2 e uma perfusão cutânea de 0,5 a 1,5 mm (Low, Jones, Cable, Alexander, & Kenney, 2020).

A determinação da microcirculação cutânea por LDF pode ser afetada por fatores relacionados com o voluntário, tendo este que estar o mais imóvel possível durante a medição; o ambiente onde são realizadas as medições deve respeitar as condições ambientais normalizadas já que,

por exemplo, as correntes de ar frio podem baixar significativamente a temperatura da pele e afetar o fluxo sanguíneo. É de salientar que todas as medições deste estudo foram realizadas em condições de temperatura e humidade controladas (22 ± 2 °C ; 40-60%). Também fatores relacionados com o equipamento devem ser acautelados, tal como a má colocação da sonda sobre a pele (Pinnagoda et al., 1990).

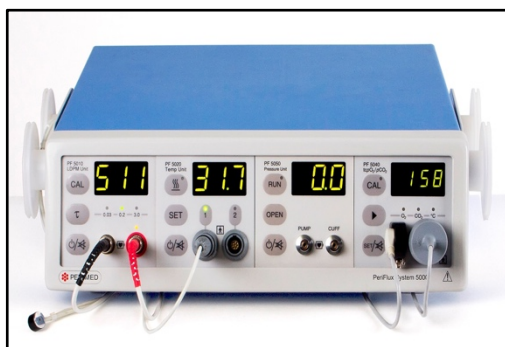


Figura 14 – PeriFlux System® 5000.
 (“PeriFlux System® 5000 - Perimed”, 2020)

Delineadas as áreas de estudo, foi iniciada a fase de pré-tratamento que consistiu na aplicação das formulações no antebraço dos voluntários durante 2 horas com o auxílio de adesivos semi-oclusivos (TruMed Technologies, Inc., MN, EUA).

Passadas as 2 horas, procedeu-se à fase de indução de eritema local com o voluntário sentado, aplicando-se uma solução de nicotinato de etilo (0,5% v/v) através de um pedaço de papel de filtro com 4cm² em cada área delineada separadamente. A grande maioria dos estudos utiliza nicotinato de metilo, contudo, neste trabalho utilizou-se como vasodilatador o nicotinato de etilo que, sendo uma molécula maior, apresenta uma permeação mais lenta através da pele, permitindo uma melhor distinção de eventuais diferenças na barreira cutânea (Rosado et al., 2008; Silva, Rosado, Antunes, & Monteiro Rodrigues, 2014).

Imediatamente após os 60 segundos, prosseguiu-se para a fase de medições da perfusão sanguínea, colocando a sonda do equipamento PeriFlux System® 5000 sobre a zona onde se encontrava o eritema com o auxílio de fita adesiva (3M, USA) durante 15 minutos em cada área. Os parâmetros seleccionados para análise foram os seguintes: tempo de latência para aparecimento de eritema (t_{onset}), a área sob a curva (AUC) e por fim a tangente do ângulo de inclinação da hiperémia.

3.3. Resultados e discussão

Os dados evidenciados nos gráficos abaixo foram analisados com a razão entre os valores obtidos nas áreas de estudo e os valores obtidos na área de controlo, para, desta forma, minimizar o efeito da variabilidade interindividual.

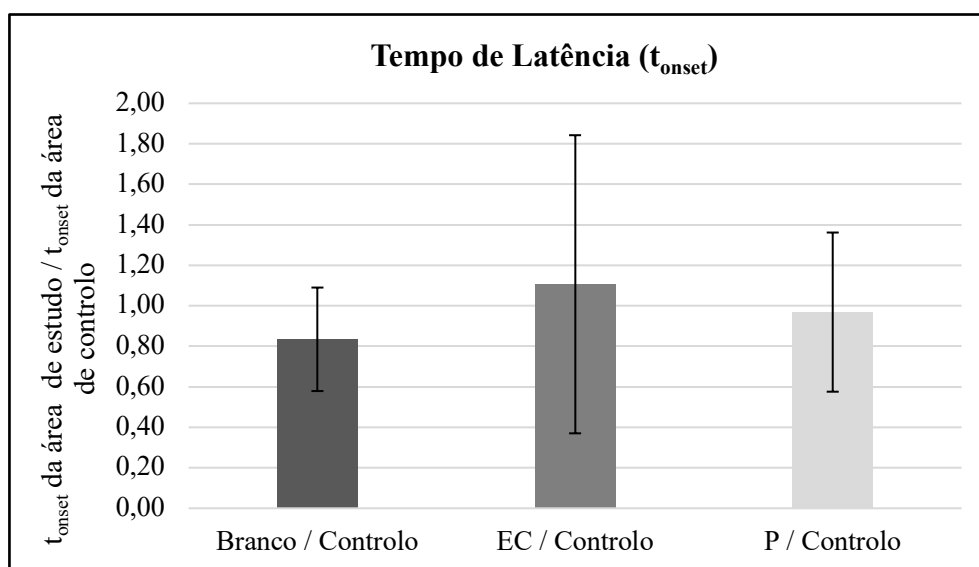


Figura 15 – Gráfico do tempo de latência para aparecimento de eritema (t_{onset}) observado nas diferentes áreas de estudo. (n=16, média \pm DP)

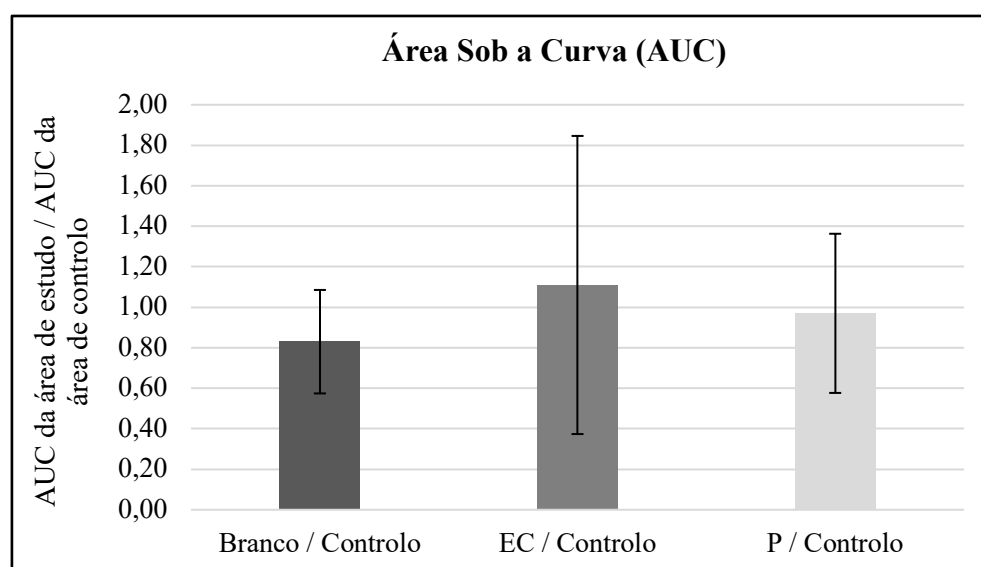


Figura 16 – Gráfico da área sob a curva (AUC) observado nas diferentes áreas de estudo. (n=16, média \pm DP)

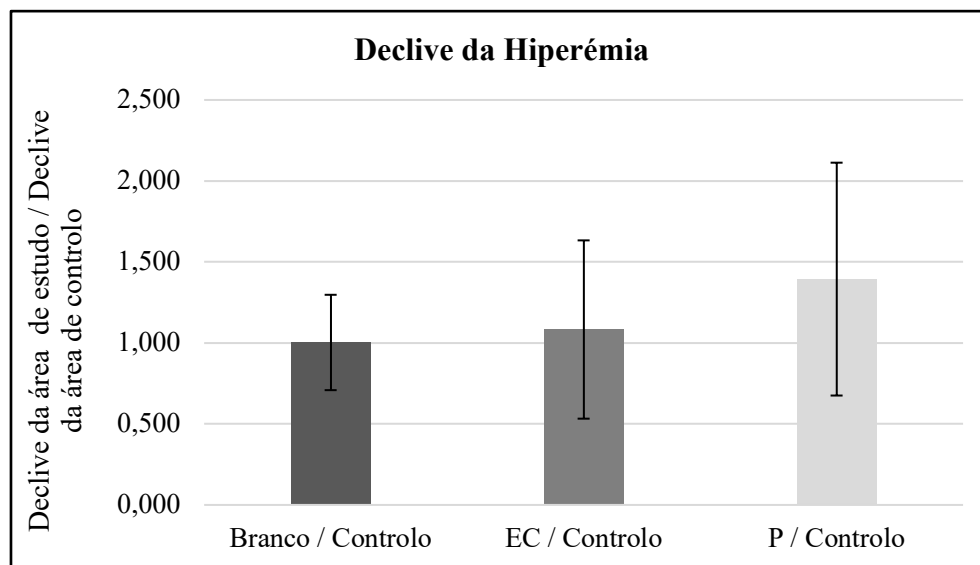


Figura 17 – Gráfico do declive/tangente do ângulo de inclinação da hiperémia observado nas diferentes áreas de estudo. (n=16, média ± DP)

No que diz respeito à avaliação da capacidade antioxidante das formulações contendo própolis, os resultados obtidos não evidenciaram diferenças estatisticamente significativas entre as áreas de estudo tratadas com as formulações contendo própolis e a formulação Branco.

Relativamente ao tempo de latência para aparecimento de eritema (t_{onset}), é possível observar na **Figura 15** que a formulação EC e a formulação P apresentaram tempos de latências mais longos, quando comparado com a formulação Branco que apresenta um tempo de latência mais curto, ou seja, na formulação Branco o aparecimento do eritema foi mais rápido.

Na **Figura 16** é possível verificar que, quanto à AUC, o Branco/Controlo teve valores mais baixos, inferiores a 1, enquanto que o EC se encontra superior a 1 e, por fim, o P encontra-se muito próximo de 1. (Martinez, Louzada-Neto, & Pereira, 2003) Estes resultados indiciam que a intensidade do eritema produzido na formulação sem própolis foi ligeiramente mais baixa.

Relativamente ao declive da hiperémia, **Figura 17**, não se verificam grandes diferenças entre as 3 formulações, havendo, no entanto, uma tendência para um declive mais acentuado na formulação P.

Tendo em conta estes dados, não é possível concluir quanto à capacidade antioxidante do própolis. Para obter diferenças estatisticamente significativas, seria desejável alargar o estudo a um maior número de voluntários.

IV – CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

O própolis é um produto de origem natural e tem vindo a ser amplamente estudado devido à sua bioatividade e consequentes aplicações. As formas de apresentação mais estudadas até ao momento referem a administração de extratos de própolis nas mais variadas concentrações, através de veículos como a pastas de dentes, elixires, pastilhas, cápsulas, comprimidos, xaropes, champôs ou até máscaras faciais.

No âmbito deste trabalho, pretendeu-se avaliar *in vivo* e em humanos a aplicação tópica de duas formulações contendo própolis, a formulação EC proveniente da região de Espires, França e a formulação P da região de Caramulo, Portugal.

Numa primeira parte foi avaliada em 5 voluntários, a capacidade cicatrizante e regeneradora das formulações após lesão cutânea através do método *tape-stripping*. Nesse âmbito, as variáveis biométricas escolhidas foram a Perda Transepidermica de Água (PTEA), a hidratação superficial epidérmica e, por fim, a colorimetria cutânea. A metodologia escolhida pareceu ser adequada à descrição dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes à alteração da função da “barreira” cutânea, contudo, os dados obtidos não permitem tirar conclusões definidas e, sendo a cicatrização de lesões cutâneas um processo complexo e dinâmico, seria desejável o estudo por um período de tempo mais alargado e com mais voluntários.

Numa segunda parte, foi avaliada a capacidade antioxidante das formulações em dezasseis voluntários de ambos os sexos, após eritema cutâneo induzido por uma molécula vasodilatadora, nicotinato de etilo. Nesta parte, foi avaliada a microcirculação cutânea por Fluxometria Laser Doppler, e os resultados obtidos não produziram evidência significativa entre as áreas de estudo tratadas com as formulações contendo própolis e o controlo. Apenas no parâmetro de tempo de latência para aparecimento de eritema (t_{onset}) se observou na área tratada com a formulação Branco um tempo de t_{onset} mais curto, ou seja, o aparecimento de eritema nessa área foi mais rápido do que nas áreas tratadas com as formulações contendo própolis. Assim, pode-se afirmar que a formulação EC e a formulação P evidenciaram alguma capacidade antioxidante.

Concluindo, os resultados obtidos após aplicação de formulações tópicas contendo própolis não produziram evidências de um impacto significativo na cicatrização cutânea após lesão controlada, ou de capacidade antioxidante.

Na continuação deste trabalho, seria importante aprofundar o conhecimento e obter uma composição química mínima para melhor explicar as propriedades terapêuticas do própolis, visto que a sua composição é muito variável como referido ao longo do trabalho.

Relativamente à avaliação *in vivo*, seria interessante continuar este trabalho num número mais alargado de voluntários, bem como continuar a determinação de todas as variáveis envolvidas até à recuperação dos valores basais em todas as áreas de estudo, para, desta forma, obter resultados com maior clareza, tendo em conta que a recuperação da integridade cutânea é um processo demorado e complexo.

VI – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbasi, A. J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S. M., Ghadirian, H., Seifi, H., ... Bahrami, N. (2018). Applications of Propolis in Dentistry: A Review. *Ethiopian journal of health sciences*, 28(4), 505–512. <https://doi.org/10.4314/ejhs.v28i4.16>
- ABOCA® - Empresa. (2020). Recuperado 5 de março de 2020, de <https://www.aboca.com/pt-pt/empresa/>
- ABOCA® - Propol2 EMF Comprimidos orodispersíveis. (2020). Recuperado 5 de março de 2020, de <https://www.aboca.com/product/propol2-emf/>
- ABOCA® - Propol2 EMF Spray Forte. (2020). Recuperado 5 de março de 2020, de <https://www.aboca.com/product/propol2-emf/>
- Albuquerque, F., Romeiro, S., Figueiredo, P., & Atl, U. (2013). Própolis: Apenas Um Suplemento Alimentar? *Studia*, 13(August 2015), 9.
- Alizadeh, A. M., Afrouzan, H., Dinparast-Djadid, N., Sawaya, A. C. H. F., Azizian, S., Hemmati, H. R., ... Erfani, S. (2015). Chemoprotection of MNNG-initiated gastric cancer in rats using Iranian propolis. *Archives of Iranian Medicine*, 18(1), 18–23.
- Andrade Carvalho, W., Sales Carvalho, R. D., & Rios-Santos, F. (2004). Analgésicos inibidores específicos da ciclooxigenase-2: Avanços terapêuticos. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 54(3), 448–464. <https://doi.org/10.1590/s0034-70942004000300017>
- Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., ... Dash, C. K. (2018). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1695–1703. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.08.013>
- APIVITA®- Máscara Purificante para pele oleosa. (2020). Recuperado 3 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/cuidados-de-rosto/purifying-face-mask-for-oily-skin>
- APIVITA®- Pastilhas Eucalipto & Própolis. (2020). Recuperado 3 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/pastilles-for-sore-throat-cough-relief>
- APIVITA® - Champô Anticaspa Seca. (2020). Recuperado 3 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/cuidados-capilares/champos/dry-dandruff-shampoo-2644>
- APIVITA® - Elixir Natural. (2020). Recuperado 3 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/natural-mouthwash>
- APIVITA® - Glossário de Ingredientes. (2020). Recuperado 2 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/ingredient-glossary>

- APIVITA® - Pasta dentífrica - Proteção Total. (2020). Recuperado 3 de março de 2020, de <https://www.apivita.com/portugal/total-protection-toothpaste>
- APIVITA - História. (2020). Recuperado 2 de março de 2020, de https://www.apivita.com/portugal/our_history
- Araújo, J. R., Gonçalves, P., & Martel, F. (2011). Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. *Nutrition Research*, 31(2), 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2011.01.006>
- Arezki, N. R., Williams, A. C., Cobb, A. J. A., & Brown, M. B. (2017). Design, synthesis and characterization of linear unnatural amino acids for skin moisturization. *International Journal of Cosmetic Science*, 39(1), 72–82. <https://doi.org/10.1111/ics.12351>
- ARKOCÁPSULAS®. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkocapsulasr%0A>
- ARKOCÁPSULAS® Própolis. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkocapsulasr-propolis>
- ARKOPHARMA® - História. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/historia>
- ARKOREAL®. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkorealr>
- ARKOREAL® Protect Júnior. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkorealr-protect-junior>
- ARKOVOX®. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkovoxr>
- ARKOVOX® Própolis+VitaminaC - Sabor a menta. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkovoxr-propolis-vit-c-menta-24-comprimidos>
- ARKOVOX® Própolis Xarope. (2020). Recuperado 4 de março de 2020, de <https://www.arkopharma.com/pt-PT/arkovoxr-propolis-xarope>
- Artika, I., Susilo, H., Setyo, A. V. D., & Zainal, A. E. (2011). Antibacterial Activity of Propolis Supplemented-Chewing Candy Against *Streptococcus mutans*. *Microbiology Indonesia*, 5(2), 99–102. <https://doi.org/10.5454/mi.5.3.1>
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal*

- of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 114–117. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.004>
- Bankova, V., Popova, M., Bogdanov, S., & Sabatini, A. G. (2002). Chemical composition of European propolis: Expected and unexpected results. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 57(5–6), 530–533. <https://doi.org/10.1515/znc-2002-5-622>
- Banskota, A. H., Nagaoka, T., Sumioka, L. Y., Tezuka, Y., Awale, S., Midorikawa, K., ... Kadota, S. (2002). Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(1), 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00022-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00022-3)
- Barros, M. P. de, Lemos, M., Maistro, E. L., Leite, M. F., Sousa, J. P. B., Bastos, J. K., & Andrade, S. F. de. (2008). Evaluation of antiulcer activity of the main phenolic acids found in Brazilian Green Propolis. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 372–377. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.015>
- Beecher, G. R. (2003). Proceedings of the Third International Scientific Symposium on Tea and Human Health : Role of Flavonoids in the Diet Metabolism of Tea Flavonoids in the Gastrointestinal Tract 1 , 2. *The Journal of nutrition*, 133(27), 3255–3261. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17073577>
- Berardesca, E., Lévêque, J. L., Masson, P., Piérard, G. E., Rodrigues, L., Rogiers, V., ... Paye, M. (2002). EEMCO guidance for the measurement of skin microcirculation. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 15(6), 442–456. <https://doi.org/10.1159/000066451>
- Bircher, A., Boer, E., Agner, T., Wahlberg, L., & Serup, J. (1994). Guidelines for measurement of cutaneous blood flow by laser Doppler fluwmetry. *Contact Dermatitis*, 30(2), 65–72.
- Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A., Capasso, F., & Ialenti, A. (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*, 73(SUPPL. 1). [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00191-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00191-0)
- Bragazzi, N. L., Sellami, M., Salem, I., Conic, R., Kimak, M., Pigatto, P. D. M., & Damiani, G. (2019). Fasting and its impact on skin anatomy, physiology, and physiopathology: A comprehensive review of the literature. *Nutrients*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020249>
- Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 36(4), 347–363. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)00145-2](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)00145-2)

- Bureau, I. (2011). Wo 2u11/141uu7 a2, (12).
- Campos, J. F., Das Santos, U. P., Da Rocha, P. D. S., Damião, M. J., Balestieri, J. B. P., Cardoso, C. A. L., ... Dos Santos, E. L. (2015). Antimicrobial, Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities of Propolis from the Stingless Bee *Tetragonisca fiebrigi* (Jataí). *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/296186>
- Carvalho, A. A., Finger, D., MacHado, C. S., Schmidt, E. M., Costa, P. M. Da, Alves, A. P. N., ... Torres, Y. R. (2011). In vivo antitumoural activity and composition of an oil extract of Brazilian propolis. *Food Chemistry*, 126(3), 1239–1245. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.035>
- Casaca, J. D. (2010). Manual de produção de pólen e própolis. *FNAP - Federação Nacional dos Apicultores de Portugal*.
- Chang, R. K., Raw, A., Lionberger, R., & Yu, L. (2013). Generic development of topical dermatologic products: Formulation development, process development, and testing of topical dermatologic products. *AAPS Journal*, 15(1), 41–52. <https://doi.org/10.1208/s12248-012-9411-0>
- Chen, Y. J., Huang, A. C., Chang, H. H., Liao, H. F., Jiang, C. M., Lai, L. Y., ... Chiang, J. (2009). Caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, protects peripheral blood mononuclear cells of competitive cyclists against hyperthermal stress. *Journal of Food Science*, 74(6), 162–167. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01199.x>
- Chromameter® CR-300 - Konica Minolta Sensing Americas, Inc. (2020).
- Coelho, G. R., Mendonça, R. Z., De SennaVilar, K., Figueiredo, C. A., Badari, J. C., Taniwaki, N., ... Negri, G. (2015). Antiviral action of hydromethanolic extract of geopropolis from *scaptotrigona postica* against antih herpes simplex virus (HSV-1). *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/296086>
- Corneometer®- Courage-Khazaka-Scientific-Devices. (2020). Recuperado 5 de maio de 2020, de <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/probe-systems/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/183-corneometer-e>
- Costa, G., Francisco, V., C. Lopes, M., T. Cruz, M., & T. Batista, M. (2012). Intracellular Signaling Pathways Modulated by Phenolic Compounds: Application for New Anti-Inflammatory Drugs Discovery. *Current Medicinal Chemistry*, 19(18), 2876–2900. <https://doi.org/10.2174/092986712800672049>
- Curti, V., Zaccaria, V., Sokeng, A. J. T., Dacrema, M., Masiello, I., Mascaro, A., ... Daglia, M.

- (2019). Bioavailability and in vivo antioxidant activity of a standardized polyphenol mixture extracted from brown propolis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms20051250>
- Czyzewska, U., Siemionow, K., Zareba, I., & Miltyk, W. (2016). Proapoptotic activity of propolis and their components on human tongue squamous cell carcinoma cell line (CAL-27). *PLoS ONE*, 11(6), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157091>
- De Mendonça, R. J., & Coutinho-Netto, J. (2009). Aspectos celulares da cicatrização. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 84(3), 257–262. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000300007>
- Dihal, A. A., Woutersen, R. A., Ommen, B. van, Rietjens, I. M. C. M., & Stierum, R. H. (2006). Modulatory effects of quercetin on proliferation and differentiation of the human colorectal cell line Caco-2. *Cancer Letters*, 238(2), 248–259. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.07.007>
- Du Plessis, J., Stefaniak, A., Eloff, F., John, S., Agner, T., Chou, T. C., ... Holness, L. (2013). International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Research and Technology*, 19(3), 265–278. <https://doi.org/10.1111/srt.12037>
- Falcão, S. I., Freire, C., & Vilas-Boas, M. (2013). A proposal for physicochemical standards and antioxidant activity of Portuguese propolis. *JAOCs, Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(11), 1729–1741. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2324-y>
- Falcão, S. I., Tomás, A., Vale, N., Gomes, P., Freire, C., & Vilas-Boas, M. (2012). Phenolic quantification and botanical origin of Portuguese propolis. *Industrial Crops and Products*, 49, 805–812. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.021>
- Falcão, S. I., Vale, N., Cos, P., Gomes, P., Freire, C., Maes, L., & Vilas-Boas, M. (2014). In vitro evaluation of portuguese propolis and floral sources for antiprotozoal, antibacterial and antifungal activity. *Phytotherapy Research*, 28(3), 437–443. <https://doi.org/10.1002/ptr.5013>
- Falcão, S. I., Vale, N., Gomes, P., Domingues, M. R. M., Freire, C., Cardoso, S. M., & Vilas-Boas, M. (2013). Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: Uncommon propolis rich in flavonoid glycosides. *Phytochemical Analysis*, 24(4), 309–318. <https://doi.org/10.1002/pca.2412>
- Falcão, S. I., Vilas-Boas, M., Estevinho, L. M., Barros, C., Domingues, M. R. M., & Cardoso, S. M. (2010). Phenolic characterization of Northeast Portuguese propolis: Usual and

- unusual compounds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396(2), 887–897. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3232-8>
- Farahmand, S., Tien, L., Hui, X., & Maibach, H. I. (2009). Measuring transepidermal water loss: A comparative in vivo study of condenser-chamber, unventilated-chamber and open-chamber systems. *Skin Research and Technology*, 15(4), 392–398. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2009.00376.x>
- Federico, M. P., Akemi, R., Sakata, P., Figueiredo, P., Pinto, C., Henrique, G., & Furtado, C. (2017). Noções sobre parâmetros farmacocinéticos / farmacodinâmicos e sua utilização na prática médica, 15(3), 201–205.
- Filho, J. S. P., Bicalho, L., & Silva, D. A. da. (2012). Uso de própolis associada a outros componentes no tratamento de feridas oncológicas após excisão. *Acta Biomedica Brasiliensia*, 3(2), 15–25.
- Fokt, H., Pereira, a, Ferreira, a M., Cunha, a, & Aguiar, C. (2010). How do bees prevent hive infections? The antimicrobial properties of propolis. *Applied Microbiology*, 481–493. <https://doi.org/citeulike-article-id:8880846>
- Franchin, M., Colón, D. F., Da Cunha, M. G., Castanheira, F. V. S., Saraiva, A. L. L., Bueno-Silva, B., ... Rosalen, P. L. (2016). Neovestitol, an isoflavonoid isolated from Brazilian red propolis, reduces acute and chronic inflammation: Involvement of nitric oxide and IL-6. *Scientific Reports*, 6(February), 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep36401>
- Fullerton, A., Fischer, T., Lahti, A., Wilhelm, K. P., Takiwaki, H., & Serup, J. (1996). Guidelines for measurement of skin colour and erythema. *Contact Dermatitis*. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1996.tb02258.x>
- Gao, Y., Wang, X., Chen, S., Li, S., & Liu, X. (2013). Acute skin barrier disruption with repeated tape stripping: An in vivo model for damage skin barrier. *Skin Research and Technology*, 19(2), 162–168. <https://doi.org/10.1111/srt.12028>
- Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J. R., & Peterson, P. K. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4+ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(2), 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.045>
- Gilroy, D., & Lawrence, T. (2008). The resolution of acute inflammation : A ‘ tipping point ’ in the, 1–18.
- Gratieri, T., Martins, G., Fonseca, R., & Lopez, V. (2008). Revisão, 31(6), 1490–1498.
- Gregory, S. R., Piccolo, N., Piccolo, M. T., Piccolo, M. S., & Heggors, J. P. (2002). Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: A naturopathic alternative to antibiotics in

- treatment of minor burns. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8(1), 77–83. <https://doi.org/10.1089/107555302753507203>
- Haghdoost, N. S., Salehi, T. Z., Khosravi, A., & Sharifzadeh, A. (2016). Activité antifongique et l'influence de propolis contre la formation de germ tube, facteur de virulence critique d'isolats cliniques de *Candida albicans*. *Journal de Mycologie Medicale*, 26(4), 298–305. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.11.004>
- Harborne, J. B., & Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(5), 481–504.
- Hoşnuter, M., Gürel, A., Babuççu, O., Armutcu, F., Kargi, E., & Işıkdemir, A. (2004). The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns*, 30(2), 121–125. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2003.09.022>
- Hu, F., Hepburn, H. R., Li, Y., Chen, M., Radloff, S. E., & Daya, S. (2005). Effects of ethanol and water extracts of propolis (bee glue) on acute inflammatory animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3), 276–283. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.044>
- Huang, S., Zhang, C. P., Wang, K., Li, G. Q., & Hu, F. L. (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12), 19610–19632. <https://doi.org/10.3390/molecules191219610>
- Jepps, O. G., Dancik, Y., Anissimov, Y. G., & Roberts, M. S. (2013). Modeling the human skin barrier - Towards a better understanding of dermal absorption. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(2), 152–168. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.04.003>
- Khurshid, Z., Naseem, M., Zafar, M. S., Najeeb, S., & Zohaib, S. (2017). Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects*, 11(4), 265–274. <https://doi.org/10.15171/joddd.2017.046>
- Kilic, A., Masur, C., Reich, H., Knie, U., Dähnhardt, D., Dähnhardt-Pfeiffer, S., & Abels, C. (2019). Skin acidification with a water-in-oil emulsion (pH 4) restores disrupted epidermal barrier and improves structure of lipid lamellae in the elderly. *Journal of Dermatology*, 46(6), 457–465. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.14891>
- Kim, W. K., Bang, M. H., Kim, E. S., Kang, N. E., Jung, K. C., Cho, H. J., & Park, J. H. Y. (2005). Quercetin decreases the expression of ErbB2 and ErbB3 proteins in HT-29 human colon cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(3), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.10.010>
- Kocot, J., Kielczykowska, M., Luchowska-Kocot, D., Kurzepa, J., & Musik, I. (2018). Antioxidant potential of propolis, bee pollen, and royal jelly: Possible medical application.

- Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7074209>
- Kumazawa, S., Nakamura, J., Murase, M., Miyagawa, M., Ahn, M. R., & Fukumoto, S. (2008). Plant origin of Okinawan propolis: Honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95(8), 781–786. <https://doi.org/10.1007/s00114-008-0383-y>
- Kumazawa, Shigenori, Yoneda, M., Shibata, I., Kanaeda, J., & Hamasaka, T. (2003). Direct evidence for the plant origin of Brazilian propolis by observation of honeybee behavior and phytochemical analysis. *Journal of Ethnopharmacology*, 51(6), 740–742.
- Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., Balwierz, R., & Stojko, J. (2020). Bee products in dermatology and skin care. *Molecules*, 25(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules25030556>
- Kuropatnicki, A. K., Szliszka, E., & Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/964149>
- Lane, M. E. (2011). Nanoparticles and the skin applications and limitations. *Journal of Microencapsulation*, 28(8), 709–716. <https://doi.org/10.3109/02652048.2011.599440>
- Lee, H. J., Jeong, S. E., Lee, S., Kim, S., Han, H., & Jeon, C. O. (2018). Effects of cosmetics on the skin microbiome of facial cheeks with different hydration levels. *MicrobiologyOpen*, 7(2), 1–14. <https://doi.org/10.1002/mbo3.557>
- Liu, C. F., Lin, C. C., Lin, M. H., Lin, Y. S., & Lin, S. C. (2002). Cytoprotection by propolis ethanol extract of acute absolute ethanol-induced gastric mucosal lesions. *American Journal of Chinese Medicine*, 30(2–3), 245–254. <https://doi.org/10.1142/S0192415X02000387>
- Low, D. A., Jones, H., Cable, N. T., Alexander, L. M., & Kenney, W. L. (2020). Historical reviews of the assessment of human cardiovascular function: interrogation and understanding of the control of skin blood flow. *European Journal of Applied Physiology*, 120(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s00421-019-04246-y>
- Lu, J., Zhao, Z., Xu, C., Duan, A., & Zhang, P. (2005). Effects of calcination temperature on the acidity and catalytic performances of HZSM-5 zeolite catalysts for the catalytic cracking of n-butane. *Journal of Natural Gas Chemistry*, 14(4), 213–220. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.017>
- Lukaski, H. C., Vega Diaz, N., Talluri, A., & Nescolarde, L. (2019). Classification of hydration in clinical conditions: Indirect and direct approaches using bioimpedance. *Nutrients*,

- 11(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu11040809>
- Lustosa, S. R., Galindo, A. B., Nunes, L. C. C., Randau, K. P., & Rolim Neto, P. J. (2008). Própolis: Atualizações sobre a química e a farmacologia. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(3), 447–454. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000300020>
- Malaquias, T. S. M. (2015). Tratamentos não convencionais para feridas: revisão integrativa da literatura, 22–29.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- Marcucci, Maria Cristina. (1996). Propriedades Biológicas e Terapêuticas dos Constituintes Químicos da Própolis. *Química Nova*.
- Marcucci, MC C. (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2), 83–99. <https://doi.org/10.1051/apido:19950202>
- Martinez, E. Z., Louzada-Neto, F., & Pereira, B. D. B. (2003). A Curva ROC para Testes Diagnósticos. *Cadernos Saúde Coletiva*, 11(1), 7–31. <https://doi.org/1414-462X>
- Mattila, P., & Hellström, J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(3–4), 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.05.007>
- Measurement units - Corneometer®- Courage-Khazaka-Scientific-Devices. (2020). Recuperado 5 de maio de 2020, de <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/probe-systems/12-faq/234-corneometer-faq-e>
- Menon, G. K., Cleary, G. W., & Lane, M. E. (2012). The structure and function of the stratum corneum. *International Journal of Pharmaceutics*, 435(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.06.005>
- Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M., & Antunes, M. D. (2010). Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3418–3423. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.014>
- Mirzoeva, O. K., & Calder, P. C. (1996). The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55(6), 441–449. [https://doi.org/10.1016/S0952-3278\(96\)90129-5](https://doi.org/10.1016/S0952-3278(96)90129-5)
- Morawiec, T., Mertas, A., Wojtyczka, R. D., Niedzielska, I., Dziedzic, A., Bubilek-Bogacz, A.,

- ... Król, W. (2015). The assessment of oral microflora exposed to 3% ethanolic extract of brazilian green propolis preparation used for hygiene maintenance following minor oral surgeries. *BioMed Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/869575>
- Moreira, L., Dias, L. G., Pereira, J. A., & Estevinho, L. (2008). Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3482–3485. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.08.025>
- Mujica, V., Orrego, R., Pérez, J., Romero, P., Ovalle, P., Zúñiga-Hernández, J., ... Leiva, E. (2017). The Role of Propolis in Oxidative Stress and Lipid Metabolism: A Randomized Controlled Trial. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4272940>
- Mutlu Sariguzel, F., Berk, E., Koc, A. N., Sav, H., & Demir, G. (2016). Antifungal Activity of Propolis Against Yeasts Isolated From Blood Culture: In Vitro Evaluation. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(5), 513–516. <https://doi.org/10.1002/jcla.21889>
- Nascimento, A. P., Ferreira, N. U., Barizon, E. A., Rocha, B. A., Vaz, M. M. O. L. L., & Berretta, A. A. (2013). Methodologies for the evaluation of the antibacterial activity of propolis. *African Journal of Microbiology Research*, 7(20), 2344–2350. <https://doi.org/10.5897/ajmr12.2362>
- Nguyen, A. V, & Soulika, A. M. (2019). Molecular Sciences The Dynamics of the Skin's Immune System, 1–53. <https://doi.org/10.3390/ijms20081811>
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E. C., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. M. (2001). Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4), 418–425.
- Park, H. J., Lee, Y. W., Choe, Y. B., & Ahn, K. J. (2012). Skin characteristics in patients with pityriasis versicolor using non-invasive method, MPA5. *Annals of Dermatology*, 24(4), 444–452. <https://doi.org/10.5021/ad.2012.24.4.444>
- Peranovich, D. S.; Orlando, G.; Candelleiro, A.; Orsi, R. O.; Gomes, S. M. A. (2009). Peranovich, D.S., Orlando, G., Candelleiro, A. et al. Eficiência de três métodos na extração e purificação da cera apícola. PUBVET, Londrina, V. 3, N. 13, Art#555, Abr2, 2009. *PUBVET*.
- Pereira A.S., Seixas F.R.M.S., A. N. F. (2002). Própolis: 100 anos de pesquisa e suas perspectivas futuras., *Quim Nova*(2), 321–326.
- Pereira, M. M., Saraiva, J., & Monteiro Rodrigues, L. (2011). The Impact of Occlusion on in vivo Skin Integrity Recovery: Acerca do Impacto da Oclusão na Reparação in vivo da

- Integridade Cutânea. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 8(2), 313–319. <https://doi.org/10.19277/bbr.8.2.19>
- Pereira, R. F., & Bártolo, P. J. (2016). Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Advances in Wound Care*, 5(5), 208–229. <https://doi.org/10.1089/wound.2013.0506>
- PeriFlux System® 5000 - Perimed. (2020). Recuperado 22 de maio de 2020, de <https://www.perimed-instruments.com/content/periflux-5000-6000-laser-doppler/>
- Piccinelli, A. L., Mencherini, T., Celano, R., Mouhoubi, Z., Tamendjari, A., Aquino, R. P., & Rastrelli, L. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of Algerian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(21), 5080–5088. <https://doi.org/10.1021/jf400779w>
- Piérard, G. E. (1998). EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 10(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S0926-9959\(97\)00183-9](https://doi.org/10.1016/S0926-9959(97)00183-9)
- Piérard, Gérald E. (1999). EEMCO Guidance to the in vivo Assessment of Tensile Functional Properties of the Skin. *Skin Pharmacology and Physiology*, 12(6), 352–362. <https://doi.org/10.1159/000029897>
- Pinnagoda, J., Tupkek, R. A., Agner, T., & Serup, J. (1990). Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. *Contact Dermatitis*, 22(3), 164–178. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1990.tb01553.x>
- Pinto, P. C., & Rodrigues, L. M. (2006). Desenvolvimento de um modelo experimental in vivo para avaliação da capacidade protectora e/ou reparadora de formulações tópicas utilizadas na prevenção e tratamento da ferida cutânea.
- Polo, C. G., Montero, J., & Casado, A. M. M. (2019). Proposal for a gingival shade guide based on in vivo spectrophotometric measurements. *Journal of Advanced Prosthodontics*, 11(5), 239–246. <https://doi.org/10.4047/jap.2019.11.5.239>
- Popova, M. P., Graikou, K., Chinou, I., & Bankova, V. S. (2010). GC-MS profiling of diterpene compounds in mediterranean propolis from Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 3167–3176. <https://doi.org/10.1021/jf903841k>
- Popova, M., Trusheva, B., Antonova, D., Cutajar, S., Mifsud, D., Farrugia, C., ... Bankova, V. (2011). The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta. *Food Chemistry*, 126(3), 1431–1435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.130>
- Rafieian-kopaei, M., Setorki, M., Douidi, M., Baradaran, A., & Nasri, H. (2014). Atherosclerosis : Process , Indicators , Risk Factors and New Hopes Background :

- Methods : Results : Conclusions : *International Journal of Preventive Medicine*, 5(8), 927–946.
- Ramalho, M. P., Santos, S. L. F., Castro, N. M. de, Vasconcelos, L. M. de O., Morais, I. C. de O., & Pessoa, C. V. (2018). Plantas Medicinais No Processo De Cicatrização De Feridas: Revisão De Literatura. *Revista Expressão Católica Saúde*, 3(2), 64. <https://doi.org/10.25191/recs.v3i2.2429>
- Ramos, S. (2008). Cancer chemoprevention and chemotherapy: Dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52(5), 507–526. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700326>
- Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., & Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
- Righi, A. A. (2008). Perfil químico de amostras de própolis brasileiras, 1–102.
- Rodrigues, L. M., Contreiras Pinto, P., & Pereira, L. M. (2003). Quantitative description of human skin water dynamics by a disposition-decomposition analysis (DDA) of trans-epidermal water loss and epidermal capacitance. *Skin Research and Technology*, 9(1), 24–30. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2003.0343.x>
- Rogiers, V., & Group, E. (2001). EEMCO Guidance for the Assessment of Transepidermal Water Loss in. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 14, 117–128.
- Rosado, C., Barbosa, R., Fernando, R., Antunes, F., & Rodrigues, L. M. (2015). Study of the effect of epidermal overhydration by occlusion, on the skin biomechanical behaviour assessed in vivo with the systems Cutometer® , Reviscometer® and CutiScan®. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 12(2), 203–213. <https://doi.org/10.19277/bbr.12.2.117>
- Rosado, C., Ferreira, J., Contreiras Pinto, P., & Monteiro Rodrigues, L. (2012). Skin Barrier Function Evaluation by Bi-compartmental Analysis of TEWL Dynamical Measurements: Validation of New Analytical Conditions. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 9(2), 183–189. <https://doi.org/10.19277/bbr.9.2.40>
- Rosado, C., Lourenço, A., & Rodrigues, L. M. (2008). Estudo da acção de um creme hidratante através de métodos estáticos e dinâmicos. *Revista Lusófona de Ciências e Tecnologia da Saúde*, 1(5), 53–59.
- S Gad, S. (2018). Effect of Ginger as Anti-Inflammatory Agent on Serum Nitric Oxide, Tumor Necrotic Factor α (TNF- α) and Interleukin 4 (IL-4) in Albino Rats with Carrageenan

- Induced Paw Edema. *Virology & Immunology Journal*, 2(8), 1–15.
<https://doi.org/10.23880/vij-16000179>
- Saghazadeh, S., Rinoldi, C., Schot, M., Kashaf, S. S., Sharifi, F., Jalilian, E., ... Khademhosseini, A. (2018). Drug delivery systems and materials for wound healing applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 127, 138–166.
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.008>
- Saldaña, M. D. A., Tomberli, B., Guigard, S. E., Goldman, S., Gray, C. G., & Temelli, F. (2007). Determination of vapor pressure and solubility correlation of phenolic compounds in supercritical CO₂. *Journal of Supercritical Fluids*, 40(1), 7–19.
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.05.001>
- Sartori, G., Pesarico, A. P., Pinton, S., Dobrachinski, F., Roman, S. S., Pauletto, F., ... Prigol, M. (2012). Protective effect of brown Brazilian propolis against acute vaginal lesions caused by herpes simplex virus type 2 in mice: Involvement of antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. *Cell Biochemistry and Function*, 30(1), 1–10.
<https://doi.org/10.1002/cbf.1810>
- Sawicka, D., Car, H., Borawska, M. H., & Nikliński, J. (2012). The anticancer activity of propolis. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 50(1), 25–37.
<https://doi.org/10.5603/FHC.2012.0004>
- Schnitzler, P., Neuner, A., Nolkemper, S., Zundel, C., Nowack, H., Sensch, H. K., & Reichling, J. (2010). Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytotherapy Research*, 24(1), S20–S28. <https://doi.org/10.1002/ptr>
- Seeley, R. R., D.Stephens, T., & Tate, P. (2011). *Anatomia e Fisiologia*, 8ª Edição. (E. Lusociência, Org.) (8ª Edição).
- Seo, K. W., Park, M., Song, Y. J., Kim, S. J., & Yoon, K. R. (2003). The protective effects of propolis on hepatic injury and its mechanism. *Phytotherapy Research*, 17(3), 250–253.
<https://doi.org/10.1002/ptr.1120>
- Sforcin, J. M. (2007). Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.05.012>
- Sforcin, José M. (2016). Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytotherapy Research*, 30(6), 894–905. <https://doi.org/10.1002/ptr.5605>
- Sforcin, José Maurício, & Bankova, V. (2011). Propolis: Is there a potential for the development of new drugs? *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 253–260.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.032>

- Shimizu, T., Hino, A., Tsutsumi, A., Yong, K. P., Watanabe, W., & Kurokawa, M. (2008). Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, *19*(1), 7–13. <https://doi.org/10.1177/095632020801900102>
- Silva-Carvalho, R., Baltazar, F., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: A Complex Natural Product with a Plethora of Biological Activities That Can Be Explored for Drug Development. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, *2015*. <https://doi.org/10.1155/2015/206439>
- Silva, H., Rosado, C., Antunes, J., & Monteiro Rodrigues, L. (2014). Exploring human in vivo microcirculation with methyl nicotinate in different perfusion conditions. *Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research*, *11*(2), 207–214. <https://doi.org/10.19277/bbr.11.2.92>
- Soltanipoor, M., Stilla, T., Riethmüller, C., Thyssen, J. P., Sluiter, J. K., Rustemeyer, T., ... Angelova-Fischer, I. (2018). Specific barrier response profiles after experimentally induced skin irritation in vivo. *Contact Dermatitis*, *79*(2), 59–66. <https://doi.org/10.1111/cod.12981>
- Terazawa, M., Karita, M., Kumagai, S., & Sasaki, M. (2018). Respiratory motion sensor measuring capacitance constructed across skin in daily activities. *Micromachines*, *9*(11), 2–9. <https://doi.org/10.3390/mi9110543>
- Tewameter® Courage-Khazaka-Scientific-Devices. (2020). Recuperado 4 de maio de 2020, de <https://www.courage-khazaka.de/en/16-wissenschaftliche-produkte/alle-produkte/172-tewameter-e>
- Uzel, A., Sorkun, K., Önçağ, Ö., Çoğulu, D., Gençay, Ö., & Salih, B. (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological Research*, *160*(2), 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.002>
- Valença, I., Morais-Santos, F., Miranda-Gonçalves, V., Ferreira, A. M., Almeida-Aguiar, C., & Baltazar, F. (2013). Portuguese propolis disturbs glycolytic metabolism of human colorectal cancer in vitro. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *13*. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-184>
- Valente, M. J., Baltazar, A. F., Henrique, R., Estevinho, L., & Carvalho, M. (2011). Biological activities of Portuguese propolis: Protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. *Food and Chemical*

- Toxicology*, 49(1), 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.10.001>
- Velikova, M., Bankova, V., Marcucci, M. C., Tsvetkova, I., & Kujumgiev, A. (2000). Chemical composition and biological activity of propolis from Brazilian Meliponinae. *Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 55(9–10), 785–789.
- Venus, M., Waterman, J., & McNab, I. (2011). Basic physiology of the skin. *Surgery*, 29(10), 471–474. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2011.06.010>
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*, 73(9), 117–124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00966.x>
- Vollmer, D. L., West, V. A., & Lephart, E. D. (2018). Enhancing skin health: By oral administration of natural compounds and minerals with implications to the dermal microbiome. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 5–8. <https://doi.org/10.3390/ijms19103059>
- Vynograd, N., Vynograd, I., & Sosnowski, Z. (2000). A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes (HSV). *Phytomedicine*, 7(1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(00\)80014-8](https://doi.org/10.1016/S0944-7113(00)80014-8)
- Wa, C. V., & Maibach, H. I. (2010). Mapping the human face: Biophysical properties. *Skin Research and Technology*, 16(1), 38–54. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2009.00400.x>
- Wagh, V. D. (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/308249>
- Wang, K., Ping, S., Huang, S., Hu, L., Xuan, H., Zhang, C., & Hu, F. (2013). Molecular mechanisms underlying the in vitro anti-inflammatory effects of a flavonoid-rich ethanol extract from chinese propolis (poplar type). *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/127672>
- Wilhelm, K. P., Wilhelm, D., & Bielfeldt, S. (2017). Models of wound healing: an emphasis on clinical studies. *Skin Research and Technology*, 23(1), 3–12. <https://doi.org/10.1111/srt.12317>
- Wong, R., Geyer, S., Weninger, W., Guimberteau, J. C., & Wong, J. K. (2016). The dynamic anatomy and patterning of skin. *Experimental Dermatology*, 25(2), 92–98. <https://doi.org/10.1111/exd.12832>
- Xiang, D., Wang, D., He, Y., Xie, J., Zhong, Z., Li, Z., & Xie, J. (2006). Caffeic acid phenethyl ester induces growth arrest and apoptosis of colon cancer cells via the β -catenin/T-cell

factor signaling. *Anti-Cancer Drugs*, 17(7), 753–762.
<https://doi.org/10.1097/01.cad.0000224441.01082.bb>

Yousef, H., Alhaji, M., & Sharma, S. (2017). Anatomy , Skin (Integument), Epidermis, (December).

Zhang, T., Omar, R., Siheri, W., Al Mutairi, S., Clements, C., Fearnley, J., ... Watson, D. (2014). Chromatographic analysis with different detectors in the chemical characterisation and dereplication of African propolis. *Talanta*, 120, 181–190.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.094>

Zheng, Y., Wu, Y., Chen, X., Jiang, X., Wang, K., & Hu, F. (2018). Chinese propolis exerts anti-proliferation effects in human melanoma cells by targeting NLRP1 inflammatory pathway, inducing apoptosis, cell cycle arrest, and autophagy. *Nutrients*, 10(9).
<https://doi.org/10.3390/nu10091170>

ANEXO 1 – FOLHA DO VOLUNTÁRIO

FOLHA DO VOLUNTÁRIO	
CÓDIGO ID	
SEXO	
DATA DE NASCIMENTO	
ANTEBRAÇO	

The diagram illustrates the anatomical area for application, showing the forearm and hand. A box labeled 'COTOVELO' (Elbow) is at the top, and a box labeled 'MÃO' (Hand) is at the bottom. A vertical rectangle contains four numbered points (1, 2, 3, 4) from top to bottom, each with an arrow pointing to the right.

ANEXO 2 – RECOLHA DE DADOS

- RECOLHA DE DADOS - AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CICATRIZANTE E REGENADORA

Perda Transepidérmica de Água (PTEA) - TEMAMETER®

	Basal	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Controlo							
Branco							
EC							
P							

Hidratação Superficial Epidérmica - CORNEOMETER®

	Basal	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Controlo							
Branco							
EC							
P							

**- RECOLHA DE DADOS -
AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE CICATRIZANTE E REGENADORA**

Colorimetria Cutânea - Grau de eritema a* - Chromameter®

	Basal	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Controlo							
Branco							
EC							
P							

Colorimetria Cutânea - Luminosidade L* Chromameter®

	Basal	T0	T1	T2	T3	T4	T5
Controlo							
Branco							
EC							
P							