

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**Aspectos reprodutivos e perfil metabólico de coelhas  
(*Oryctolagus cuniculus*) suplementadas com geleia real *in natura***

**PATRÍCIA ALVES DUTRA**

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
JULHO – 2011

**Aspectos reprodutivos e perfil metabólico de coelhas  
(*Oryctolagus cuniculus*) suplementadas com geleia real *in natura***

**PATRÍCIA ALVES DUTRA**

Médica Veterinária

Universidade Federal da Bahia, 2009.2

Dissertação submetida ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Larissa Pires Barbosa

Co-Orientador: Prof. Dr. Jair de Araujo Marques

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA**

**JULHO-2011**

## FICHA CATALOGRÁFICA

D978

Dutra, Patrícia Alves.

Aspectos reprodutivos e perfil metabólico de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) suplementadas com geleia real in natura / Patrícia Alves Dutra\_. Cruz das Almas, Ba, 2011.  
63f.; il.

Orientadora: Larissa Pires Barbosa.

Co-orientador: Jair de Araujo Marques.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Cunicultura. 2. Coelho – Reprodução animal - Avaliação.

I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 636.9322

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
PATRÍCIA ALVES DUTRA**

Profª Drª. Larissa Pires Barbosa  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro  
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dr. Lincoln da Silva Amorim  
Universidade Federal de Viçosa

**CRUZ DAS ALMAS**

**JULHO – 2011**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que participaram de sua execução, principalmente aos meus estagiários que calejaram suas mãos, acordaram de madrugada ou não dormiram, se superaram e se sacrificaram em nome do nosso experimento. À minha super mãe que tive o privilégio de escolher, Pró Larissa Pires Barbosa, minha orientadora. Ao meu irmão, de alma e coração, Bianor Neto.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que se fizeram presentes, que se preocuparam, foram solidárias e torceram por mim;

À Deus, por iluminar todos os momentos de minha vida e a Virgem Maria, que anda de mãos dadas comigo nesta estrada difícil e tortuosa;

Aos meus pais, Gilvanio e Jirdalia e meus irmãos, Paulo e Thiago, que me apoiaram sempre, acatando o meu silêncio, o meu estresse, o meu distanciamento do convívio diário;

À minha orientadora Profa. Dra. Larissa Pires Barbosa, a quem tenho profunda admiração e respeito, por ter me enveredado para os caminhos da pesquisa e docência, por participar ativamente do meu experimento e por ser um exemplo de ser humano e de liderança;

Aos meus amados e inesquecíveis estagiários, Claudinéia, Monna, Mariana, Raísa, Márcio-Big, Vinicius, Joelmo Junior, Wilian, Anderson-Cebola, Lígia, Cintia, por executar, muitas vezes de forma incansável, o nosso experimento e por me dar força em vários momentos difíceis;

À Aninha, por ser amiga acima de tudo, por rir e chorar comigo, por achar solução até para o que seria insolucionável, sem a qual este experimento não seria possível;

Ao grupo da geleia real, Mel, Mara, Renan, Aline, Alessandra, Iuran e Dene, que executaram o experimento com muita dedicação;

Ao amigo, Bianor Neto, pela cumplicidade, companheirismo, dedicação e sinceridade nas palavras;

À Pool (Carlos Adriano), que é meu alicerce emocional, pelo apoio, encorajamento e por achar sempre que sou até melhor do que realmente sou;

À Hudson pela ajuda em vários momentos de minha vida;

Às meninas do trio, Aninha, Cris e Lica, que me acolheram com muito carinho;

Aos funcionários, Elielson, Luiz Edmundo, Carmo, Jeremias, Luizinho, Tibério e Joel que sempre me ajudaram com boa vontade, por me fazer sorrir, mesmo nos momentos mais tempestuosos;

Aos funcionários do Setor de Cunicultura-UFRB, Henrique, Seu Zelito e Everaldo, pelo auxílio e amizade;

Aos queridos professores, Drs. da sala 9A, Jair, Evani, Alexandre e Ana Maria, pela enriquecedora convivência neste um ano de labuta;

Ao professor Grimaldo, que gentilmente cedeu o Setor de Cunicultura para a realização do experimento.

À Profa. Dra. Ana Karina, Profa. Msc. Cristiane Aguiar e Med. Vet. Rosiléia Souza, pela presença durante o período experimental;

À Profa. Dra. Meiby Carneiro de Paula Leite, pelas sugestões durante a execução da análise estatística dos dados;

À república do Bode, pela acolhida e momentos de descontração e muitas risadas, com as histórias de vovozinha e caldos;

À Capes, pelo financiamento da bolsa de mestrado, concedida nesse um ano de muito trabalho, sem a qual, não poderia ter me aventurado nestas terras.

Muito Obrigada!

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	13
<b>2.1. Geleia Real</b>	13
<b>2.1.1 Constituição da geleia real</b>	15
<b>2.2. Geleia real e seus efeitos nos processos reprodutivos</b>	16
<b>2.2.1 Influencia do tempo e dose de geleia real</b>	17
<b>2.3. Geleia real e seus efeitos nos metabólitos sanguíneos</b>	19
<b>2.4. Coelho (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) como modelo experimental</b>	23
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	26
<b>4. Capítulo 1: MORFOMETRIA DO APARELHO GENITAL, RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA E QUALIDADE EMBRIONÁRIA DE COELHAS (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) SUPLEMENTADAS COM GELEIA REAL <i>IN NATURA</i></b>	35
Introdução	38
Material e Métodos	39
Resultados e discussão	42
Conclusão	46
Referências Bibliográficas	47
<b>5. Capítulo 2: PERFIL METABÓLICO DE COELHAS (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) SUPLEMENTADAS COM GELEIA REAL <i>IN NATURA</i></b>	50
Introdução	53
Material e Métodos	54
Resultados e Discussão	56
Conclusão	60
Referências Bibliográficas	60
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	63

## **ASPECTOS REPRODUTIVOS E PERFIL METABÓLICO DE COELHAS (*Oryctolagus cuniculus*) SUPLEMENTADAS COM GELEIA REAL *IN NATURA***

**Autora: Patrícia Alves Dutra**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Larissa Pires Barbosa**

### **RESUMO:**

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação via oral de geleia real *in natura* sobre parâmetros reprodutivos e perfil metabólico de coelha (*Oryctolagus cuniculus*). Foram utilizadas 36 coelhas das raças Califórnia e Nova Zelândia, distribuídas em quatro grupos (G), sendo: Grupo 1 (n=9): sem suplementação com geleia real, Grupo 2, 3 e 4 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40 mg/dia de geleia real *in natura*. Os animais foram suplementados por 11 meses. As fêmeas foram superovuladas, submetidas à cobertura natural e eutanasiadas 72 horas após a cópula, para coleta dos embriões e do plasma sanguíneo. Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso do útero; peso, largura, comprimento e altura dos ovários; índice gonadossomático; comprimento e diâmetro da tuba uterina e corno uterino; número de folículos e de corpos lúteos nos ovários; taxa de recuperação embrionária; número de estruturas totais recuperadas, número de embriões viáveis e degenerados; qualidade morfológica dos embriões viáveis. Foram determinadas as concentrações plasmáticas de glicose, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos, uréia e creatinina. Para a análise estatística dos dados foi utilizada Análise de Variância, com 5% de probabilidade. Não houve diferença estatística para as variáveis analisadas ( $P > 0,05$ ). Conclui-se que a geleia real não apresentou efeito estimulador ou prejudicial sobre os órgãos reprodutivos de coelhas, sobre a qualidade embrionária e sobre os metabólitos sanguíneos na dosagem de até 40mg de geleia real *in natura*, por via oral.

**Palavras-Chave:** abelha, cunicultura, embrião, função renal, lipidograma

# REPRODUCTIVE ASPECTS AND METABOLIC PROFILE OF RABBITS (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) SUPPLEMENTED WITH *IN NATURA* ROYAL JELLY

**Author:** Patrícia Alves Dutra

**Advisor:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Larissa Pires Barbosa

## **ABSTRACT:**

The purpose of this paper was to assess the effect of oral supplementation of *in natura* royal jelly on reproductive parameters and metabolic profile of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). We used 36 rabbits of California and New Zealand breeds distributed in four groups (G), as it follows: Group 1 (n=9): no supplementation with royal jelly, Groups 2, 3 and 4 (n=9): supplementation with 10, 20 and 40 mg/day of *in natura* royal jelly. The animals were supplemented for 11 months. The females were superovulation, submitted to natural cover and euthanasiated 72 hours after copulation for the collection of embryos and bloody plasma. The following parameters were assessed: weight of womb; weight, width, length and height of ovaries; gonadosomatic index; length and diameter of the uterine tube and uterine horn; vagina length; number of follicles and corpora lutea in the ovary; embryonic recovery rate; number of total recovered structures; viable and degenerated embryos; morphological quality of viable embryos. It was determined plasma concentrations of glucose, total cholesterol, high density lipoprotein (HDL), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL), triglycerides, urea and creatinine. For the statistical analysis of data, the analysis of variance was used, with 5% of probability. There was no statistical difference for the analyzed variables ( $P > 0,05$ ). It was concluded that royal jelly did not present stimulatory or harmful effect on reproductive organs of rabbits, on embryonic quality or on blood metabolites at a dosage of up to 40 mg of *in natura* royal jelly, orally and chronically administered.

**Key-words:** bee, embryo, kidney function, lipid profile, rabbit breeding

## INTRODUÇÃO

A geleia real é uma substância produzida pelas glândulas mandibulares e hipofaríngeas das abelhas operárias e serve de alimento para todas as larvas nos primeiros três dias de vida. É o único alimento para a abelha rainha durante todo seu ciclo de vida (Schmidt, 1996), promovendo nesta, o aumento da massa corporal e o desenvolvimento de estruturas relacionadas à reprodução (Ohashi et al., 1997). Trata-se de uma emulsão de proteínas, açúcares, lipídios, água, elementos minerais e outras substâncias ainda não identificadas (Nagai & Inoue, 2004).

Esse produto da apicultura vem sendo difundido e utilizado como um alimento funcional, devido a sua ampla variedade de atividades farmacológicas. Dentre essas, pode-se destacar a atividade vasodilatadora e hipotensora (Tokunaga et al., 2004), anti-oxidante (Nagai & Inoue, 2004), antiinflamatória (Kohno et al., 2004), anti-fadiga (Kamahura et al., 2001), anti-bacteriana (Fujiwara et al., 1990), cicatrizante (Fuji et al., 1990), moduladora de respostas imunes (Okamoto et al., 2003), promotora da produção de colágeno (Koya-Miyata et al., 2004) e efeito estrogênico (Mishima et al., 2005).

Na reprodução, essa secreção tem sido usada, entre outras finalidades, para melhorar a fertilidade em codornas (Csuka et al., 1978), aumento da libido em homens e melhora de alguns parâmetros reprodutivos em coelhos (Khattab et al., 1989), ovelhas (Husein et al., 1999) e camundongos (Morais et al., 2009; Barbosa et al., 2009).

Os mecanismos exatos envolvidos na ação da geleia real sobre as funções reprodutivas ainda não foram totalmente elucidados, mas sabe-se que ela pode exercer seus efeitos por meio de substâncias semelhantes a hormônios ou por

alterar as secreções hormonais nos indivíduos que a recebem (Kridli & Khetib, 2006).

Husein e Kridli (2002) relataram que parâmetros reprodutivos, como a resposta ao estro e a taxa de prenhez, melhoraram em ovelhas quando se administrou geleia real associada ao tratamento com progesterona intravaginal. Kridli e Khetib (2006) demonstraram ainda, que a geleia real pode ter efeitos positivos sobre a gestação e taxa de nascidos, agindo de maneira a aumentar a resposta ao estro e a taxa de concepção, com o aumento do desenvolvimento folicular, resultando no aumento da produção de estrógeno.

Barbosa et al. (2009) estudaram a influencia de geléia real nas dosagens de 0,5 e 1,0 mg de geleia real sobre os embriões de camundongos superovulados e não encontraram diferenças significativas no número de estruturas viáveis e não-viáveis e na qualidade dos embriões recuperados.

A maioria dos estudos explorando os efeitos biológicos da geleia real, em outros organismos além das abelhas, foi desenvolvida empregando animais experimentais. Alguns animais são utilizados em experimentos visando posterior aplicação em seres humanos, dentre estes estão os coelhos (Elnagar et al., 2010) e camundongos (Barbosa et al., 2009).

De maneira benéfica, a comprovação científica dos efeitos da geleia real na reprodução de animais experimentais pode ampliar as possibilidades de estudos referentes aos seus efeitos em seres humanos, em animais elites de produção e para conservação de espécimes silvestres em extinção ou com problemas de reprodução em cativeiro.

Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação via oral de geleia real *in natura* sobre parâmetros reprodutivos e perfil metabólico de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*).

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Geleia Real

A geleia real é uma mistura heterogênea de néctar de flores, proteínas e açúcares; secretada pelas glândulas mandibulares e hipofaríngeas das abelhas operárias jovens, denominadas de nutrízes, entre o 5º e o 14º dia de vida. É uma substância viscosa, de coloração branco-amarelada ou branco-acinzentada, levemente opalescente, de odor e sabor *sui-generis*, com valores de pH entre 3,6 e 4,2 (Haydak, 1970; Lercker et al., 1992; Puttkammer, 1994; Eshraghi & Seifollahi, 2003; Nagai & Inoue, 2004; Scarselli et al., 2005).

A geleia real apresenta três funções conhecidas nas abelhas, serve para alimentação das larvas de abelhas operárias com até 90 horas de vida, é o único alimento da abelha rainha durante toda a sua vida (Wang, 1965; Schimidt, 1996) e para alimentação de zangões durante a sua fase larvária (Haydak, 1970).

A dieta larval possui uma importante função no polifenismo da abelha, sendo importante para a diferenciação das castas e por determinar características exclusivas da abelha rainha, como o aumento da massa corporal, longevidade e desenvolvimento de estruturas relacionadas à reprodução (Kubo et al., 1996; Ohashi et al., 1997). Sabe-se que a abelha rainha apresenta maior longevidade, aproximadamente 5 anos, enquanto as abelhas operárias sobrevivem em média 45 dias (Krell, 1996).

Kohno et al. (2004) mostraram que a geleia real inibe eficientemente a produção de citocinas pró-inflamatórias. Tem um efeito protetor contra riscos tóxicos da micotoxina chamada de fumonisina. Seu uso normalizou o quadro histológico e a reação histoquímica do fígado e dos rins de ratos (El-Nekeety et al., 2007). Assim, a geleia real é um suplemento alimentar eficaz para a melhoria

da qualidade de vida nas doenças auto-imune, pois inibe os macrófagos ativados (Kohno et al., 2004).

Outro efeito observado *in vitro* foi a existência de peptídeos anti-oxidativos derivados das proteínas da geleia real, que podem prevenir danos às células, induzidos pelo estresse oxidativo. Sua ação *in vivo* reduziu a incidência de doenças relacionadas com espécies reativas ao oxigênio (Guo et al., 2005). Em outro estudo, Guo et al. (2008) sugerem que os peptídeos de geleia real podem exercer atividade antioxidante por meio de efeitos contra as espécies reativas ao oxigênio, induzidos pela lipideperoxidação *in vivo* e *in vitro*. Concordando com Kohguchi et al. (2004), que observaram em hamsters suplementados com 500 µg de geleia real, uma diminuição significativa dos níveis séricos da lipideperoxidação, em comparação com o grupo controle.

Jamnik et al. (2007) utilizaram levedura *Saccharomyces cerevisiae* como organismo modelo em cultivo em meio com geleia real e observaram diminuição na oxidação intracelular nas células tratadas com geleia real comparado ao grupo controle, o que resultou em melhor vitalidade das células de levedura.

O tratamento com geleia real também demonstrou papel protetor contra o cádmio, metal pesado altamente tóxico, reduzindo o número de aberrações cromossômicas e inibindo o aumento da peroxidação lipídica e depleção de glutathione, reduzida pela toxicidade do cádmio, inibindo, desta forma, a genotoxicidade induzida por estresse oxidativo em ratos (Çavuşoğlu, 2009). Apresenta também um efeito hepatoprotetor, bem como, sobre o estresse oxidativo induzido pelo tetracloreto de carbono (Cemek et al., 2010).

Inoue et al. (2003) relataram que a geleia real reduziu o nível de 8-hidroxi-2-deoxiguanosina em camundongos, que é aceito como um indicador de estresse oxidativo no DNA.

Koya-Miyata et al. (2004) verificaram que a fração alcalina-solúvel da geleia real aumentou fortemente a produção de colágeno pelos fibroblastos de células humanas. Assim, a geleia real e o ácido 10-hidroxi-trans-2-decenóico (10-HDA),

podem estimular o aumento da produção de colágeno e melhorar a deposição de colágeno na derme.

As pesquisas relataram as vantagens da suplementação de geleia real, pois os estudos evidenciam benefícios para a saúde animal (Elnagar, 2010) e humana, por meio de testes *in vivo* e *in vitro* (Yildiz & Umudum, 2000).

### **2.1.1 Constituição da geléia real**

A geleia real é composta principalmente de proteínas; açúcares, incluindo frutose, glicose, sacarose e maltose (Sesta, 2006; Popescu et al., 2009), trealose, turanose e erlose (Mărghitaş et al., 2010); lipídios; vitaminas; aminoácidos livres; um grande número de substâncias bio-ativas (Howe et al., 1985; Koya-Miyata et al., 2004; Nagai & Inoue, 2004; Stocker et al., 2005); ácidos orgânicos; hormônios esteróides; fenóis; minerais (Pamplona et al., 2004); carboidratos e 10-HDA, cuja descrição foi feita por Baker et al., em 1959. É importante ressaltar, que esta composição é variável, dependendo do metabolismo e estado fisiológico das abelhas operárias (Lercker et al., 1992; Isidorov et al., 2011).

Mello (1989) relatou que a geleia real apresenta uma composição que varia também de acordo com a florada. O estudo sobre as vitaminas mostram que a geleia real apresenta vitaminas A, C, D, E (tocoferol), B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B6 (piridoxina), B12 (ácido fólico), ácido pantotênico, biotina, inositol e colina.

Há relatos na literatura, que a composição da geleia real é variável com base na sua matéria seca, pode ter 17-45% de proteína, 18-52% de carboidratos, 3,5-19% de lipídios e 2-3% de minerais. Embora a geléia real tenha variações, os componentes são relativamente constantes ao comparar as colônias, raças, de abelhas e tempo de coleta do ano (Krell, 1996). De acordo com Stocker et al. (2005), os principais minerais encontrados na geleia real são K, P, S, Ca, Al, Mg, Zn, Fe, Cu e Mn.

Yu et al. (2010) demonstraram que houve variações de geleia real entre as espécies *Apis mellifera ligustica* e *Apis mellifera cerana cerana*, sendo *Apis mellifera ligustica* a espécie que produziu geleia real com maior qualidade e quantidade de proteínas, além disso, apresentou também maior volume de produção.

A atividade antibiótica do 10-HDA foi inicialmente estudada por Blum et al., em 1959. Garcia-Amoedo e Almeida-Muradian (2003), pesquisadores brasileiros, foram os primeiros a publicar sobre o teor de 10-HDA em amostras de geleia real brasileira. No Brasil, o 10-HDA é utilizado para avaliar a qualidade da geleia real, de acordo com a Instrução Normativa nº3 de 2001 do Brasil.

Além do 10-HDA, foi encontrada na geleia real uma proteína antibacteriana denominada de royalisina, que possui atividade de amplo espectro sobre bactérias Gram-positivas. A royalisina participa na defesa do hospedeiro, protegendo o intestino da abelha contra a invasão de bactérias e ajuda na conservação da geleia real (Fujiwara et al., 1990). Esta substância foi encontrada na fração solúvel em éter de geleia real e possui também efeitos inibitórios sobre diferentes cepas de *Streptomyces* (Eshraghi & Seifollahi, 2003; Eshraghi, 2005).

## **2.2. Geleia real e seus efeitos nos processos reprodutivos**

Estudos relataram efeitos positivos da geleia real na reprodução animal (Husein et al., 1999; Khattab et al., 1989), exercendo seus efeitos por conter substâncias semelhantes a hormônios, ou por meio de alterações das secreções hormonais em indivíduos que a recebem (Kridli & Al-Khetid, 2006).

Foi identificado na geleia real atividade de hormônios esteróides podendo ter efeitos benéficos para a prevenção da osteoporose em humanos (Hidaka et al., 2006). Mishima et al. (2005) evidenciaram que a geleia real têm atividades estrogênicas através da interação com receptores de estrógeno seguidos por expressão de genes endógenos.

Suzuki et al. (2008) confirmaram que a geleia real de abelhas (*Apis mellifera*) tem atividade estrogênica fraca mediada pela interação com receptores de estrógeno, levando à alterações na expressão gênica e proliferação celular. Neste mesmo estudo foram isolados quatro compostos na geleia real que exibem atividade estrogênica. Estes compostos foram identificados como ácido 10-hidroxi-trans-2-decenóico, ácido 10-hidroxidecanóico, ácido trans-2-decenóico e 24-methilenecholesterol. Esta atividade estrogênica fraca mediada por interações com os receptores do estrogênio também foi confirmada em estudos *in vitro* e *in vivo*, realizados por Mishima et al. (2005) e Suzuki et al. (2008).

A exposição de ratos imaturos a esses compostos por via subcutânea induziu hipertrofia do epitélio luminal do útero, mas não foi associada a um aumento no peso do útero. Estes resultados fornecem evidências de que esses compostos contribuem para o efeito estrogênico da geleia real (Suzuki et al., 2008).

O estrógeno desempenha um papel importante no crescimento, diferenciação do aparelho reprodutor feminino, além disso, ele também tem uma variedade de funções farmacológicas, como de manutenção óssea, proteção cardiovascular e cerebral. Portanto, Suzuki et al. (2008) observaram que a geleia real concorreu com o  $17\beta$ -estradiol para se ligar ao receptor estrógeno  $\alpha$  humano, mas suas afinidades são fracas em comparação aos fitoestrogênios e dietilbestrol.

Estrógenos desempenham funções fundamentais na regulação da função de muitos tecidos e órgãos e a sinalização de estrógenos têm sido associadas com distúrbios do metabolismo lipídico, doenças cardiovasculares, auto-imunes, doenças inflamatórias, osteoporose, alterações menstruais e infertilidade (Deroo & Korach, 2006).

A geleia real pode afetar a função ovariana em animais. Ovelhas tratadas com geleia real oralmente expressaram pronunciadas respostas ao estro em comparação às ovelhas não tratadas, por meio do aumento do desenvolvimento folicular, resultando no aumento da produção de estrógeno (Kridli et al., 2003).

### **2.2.1 Influência do tempo e dose de geleia real**

Em coelhos submetidos ao estresse térmico por seis semanas, a concentração plasmática de testosterona aumentou na proporção de 133%, 143%, 124%, para níveis de 200, 400 e 800 mg de geleia real, respectivamente, em relação aos animais do grupo controle (Elnagar, 2010). Da mesma forma, Kohguchi et al. (2004) obtiveram aumento dose-dependente nas concentrações plasmáticas de testosterona livre intra-testicular de hamsters alimentados com geleia real por doze semanas.

O tratamento de ovelhas Awassi com geleia real na dosagem de 250 mg, juntamente com progesterona exógena, foi usado para indução do estro, verificando maior proporção de ovelhas em estro, menor intervalo entre a retirada da esponja e o início do estro e aumento no número de ovelhas gestantes ao primeiro estro, em relação ao grupo controle (Husein & Kridli, 2002; Kridli et al., 2003).

Husein e Haddad (2006) utilizaram 250 mg de geleia real em substituição à gonadotrofina coriônica equina (eCG), em protocolos de sincronização de estro por 12 dias e constataram que a geleia real produziu efeitos análogos àqueles promovidos pela eCG na resposta aos protocolos de sincronização, no que diz respeito à indução do estro, a taxa de gestação e a taxa de nascimento.

Morais et al. (2009) trabalharam suplementando camundongos com geleia real com doses de 0,1 e 0,2 mg por um período de 45 dias, observaram o aumento na proporção de células de Leydig, o que pode refletir consequentemente em maior concentração de andrógenos.

Kridli et al. (2003) suplementou ovelhas da raça Awassi com 250 mg de geleia real *in natura*, oralmente, durante 12 dias consecutivos, com objetivo de investigar o efeito da geleia real em combinação com a administração de GnRH e utilizando esponjas intravaginais impregnadas com acetato de fluorogestona na sincronização de estro e fertilidade de ovelhas Awassi, não foram detectadas interações entre a geleia real e administração de GnRH, segundo estes autores a

geléia real pode ter exercido seu efeito de forma semelhante aos das gonadotrofinas para melhorar a resposta da taxa de estro e concepção em ovinos.

Silici et al. (2009) realizaram uma pesquisa em ratos Wistar albino por dez dias, para investigar o efeito da geleia real nas dosagens de 50 e 100 mg/Kg como antioxidante sobre o uso da cisplatina, que é um agente antineoplásico usado no tratamento da quimioterapia. Estes pesquisadores observaram que a geleia real amenizou o efeito da cisplatina sobre os testículos, epidídimos, vesículas seminais e na próstata, juntamente com a concentração e a motilidade espermática. Portanto, a geleia real pode ajudar a evitar a toxicidade testicular manifestada pela quimioterapia com cisplatina.

Foi observado melhora na motilidade espermática de camundongos machos tratados com geleia real, em estudos realizados por Karacal e Aral (2008). Além disso, Kohguchi et al. (2004) demonstraram que hamsters tratados com geleia real por 32 semanas apresentaram espermatogênese mais eficiente do que o grupo controle, de maneira dose dependente. Com este estudo, conclui-se que a suplementação crônica com geleia real é capaz de inibir o declínio da função testicular em hamster.

A administração de geleia real nas doses de 200, 400 e 800 mg, por seis semanas para combater a infertilidade de verão melhorou o desempenho dos coelhos, com aumento dos níveis de testosterona, volume do ejaculado, frutose seminal, motilidade espermática e produção total dos espermatozóides, houve também diminuição de espermatozóides anormais e mortos (Elnagar, 2010).

Diante dos resultados mencionados na literatura, a geleia real é uma substância que exerce efeito não somente sobre a fertilidade da abelha rainha, como também apresenta efeitos na reprodução de coelhos (Elnagar et al., 2010), camundongos (Barbosa et al., 2009) e ovelhas (Husein & Haddad, 2006).

### **2.3. Geleia real e seus efeitos nos metabólitos sanguíneos**

Os metabólitos sanguíneos são importantes para o conhecimento de como a suplementação alimentar ou a dieta está interagindo no organismo animal (Ramos et al., 2007).

Dentre os importantes metabólitos sanguíneos, a glicose representa a via metabólica de energia, sua concentração sanguínea é pouco sensível as variações de energia na dieta, já que as concentrações plasmáticas são controladas por mecanismos hormonais. Portanto, condição de hipoglicemia somente será observada em condições de severo balanço energético negativo (González et al., 2000).

A glicose é o principal precursor energético utilizado pelas células foliculares, além disso, é considerada indicador do metabolismo energético no sistema nervoso central e se destaca como mediador dos efeitos nutricionais sobre a reprodução (Diskin et al., 2003). Foster e Nagatani (1999) sugerem que a glicose pode ser um sinal metabólico, que fornece informações para o controle da secreção de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

Há relatos que os embriões aumentam o seu consumo de glicose quando estão no processo de transição do embrião da tuba uterina para o útero (Thompson et al., 1996).

Elnagar (2010) trabalhou com coelhos submetidos a estresse térmico, recebendo suplementação de 200, 400 e 800 mg de geleia real, com apresentação de concentração de glicose significativamente maiores em relação ao grupo controle (fornecimento de água destilada).

O colesterol nos animais pode ser tanto de origem exógena, proveniente dos alimentos, como endógena, sendo sintetizado, a partir do acetil-CoA, no fígado, nas gônadas, no intestino, na glândula adrenal e na pele. A biossíntese de colesterol no organismo é inibida com a ingestão de colesterol exógeno. O colesterol circula no plasma ligado as lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) (González & Scheffer, 2002).

O colesterol apresenta uma participação importante na reprodução, pois é o precursor da secreção dos hormônios esteróides, sendo que a HDL e a LDL fornecem colesterol aos tecidos ovarianos para sínteses desses hormônios (Grummer & Carrol, 1991; Knobil & Neill, 1994).

Essa relação entre concentração plasmática de colesterol e aspectos reprodutivos pode ser evidenciada em muitos estudos. Segundo Lucy et al. (1992), o número e o tamanho dos folículos podem ser aumentados em animais que apresentam concentração mais alta de colesterol sanguíneo, sugerindo que o aumento da concentração de ácidos graxos na dieta pode ter efeitos positivo sobre a reprodução.

Nordoy et al. (1979) comprovaram a associação positiva entre os níveis de HDL e de testosterona em diversos estudos clínicos. As células de Leydig são as responsáveis pela produção de esteróides e convertem colesterol, predominantemente, através de ésteres de colesterol armazenados na matriz intracelular ou a partir do HDL. No testículo, cerca de 40% do colesterol utilizado pelas células esteroideogênicas é proveniente do sangue (Gebara et al., 2002).

Em fêmeas, o aumento do colesterol sérico demonstrou um aumento na secreção de progesterona, androstenediona, estradiol e da taxa estradiol:progesterona, em vacas 50-70 dias pós-parto (Zachut et al., 2008).

Em estudos realizados por Vittek (1995), a suplementação com geleia real diminuiu significativamente as concentrações de colesterol em ratos e coelhos e também retardou a formação de ateromas na aorta de coelhos alimentados com uma dieta hiperlipidêmica, este trabalho foi realizado com humanos com dosagem de 50 a 100 mg/dia, e houve uma redução significativa nos lipídeos totais e colesterol e a normalização de HDL e LDL, determinado pela diminuição de lipoproteínas.

Yildiz e Umudum (2000) estudaram o efeito da suplementação com 100mg/dia de geleia real, ingerida 15-30 minutos antes do café da manhã, por 4 semanas em

humanos saudáveis e constataram que o nível médio de colesterol sérico diminuiu cerca de 10% e 38% de triglicerídeos após quatro semanas de consumo de geleia real. Enquanto, Vittek (1995) encontrou diminuição dos níveis séricos de colesterol total, 14% em pacientes recebendo em torno de 50 a 100 mg/dia de geleia real.

Coelhos tratados com geleia real obtiveram uma redução significativa nas concentrações de colesterol e triglicerídeos, em comparação com o grupo controle (Elnagar et al., 2010), Al-Mufarrej & El-Sarag (1997) também encontraram uma redução do colesterol no sangue de frangos tratados com 200mg de geleia real.

Os valores de uréia e creatinina são indicados para avaliação da função renal dos animais domésticos, fornecendo subsídios, para o diagnóstico de inúmeras nefropatias (Kaneko, et al., 1997).

As concentrações plasmáticas de uréia refletem produto final do metabolismo protéico, é excretada principalmente pelos rins e, em menor grau, pelo intestino e o leite. A uréia também é o produto da detoxicação da amônia proveniente do metabolismo hepático de aminoácidos, utilizados na gliconeogênese (Tamminga, 2006). Elevadas concentrações plasmáticas de uréia afetam a qualidade do oócito (Leroy et al., 2006), bem como a viabilidade embrionária no útero (Rhoads et al., 2006).

A creatinina sérica é uma substância nitrogenada não protéica, formada a partir do metabolismo muscular da fosfocreatinina, não sendo influenciada, na sua formação, nem pela dieta ou pelo catabolismo protéico (Gregory et al., 2004).

Segundo Steven e Scott (2002), a creatinina é mais indicada para verificar a função renal, pois a quantidade de creatinina presente nos rins é mais constante e não é reabsorvida nos túbulos renais, como a uréia. Portanto, os níveis de creatinina plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que níveis altos de creatinina indicam uma deficiência na função renal.

Elnagar et al. (2010) demonstraram uma diminuição das concentrações plasmáticas de creatinina em coelhos sob estresse térmico, devido ao tratamento com geleia real, o que indica uma melhora na função renal dos coelhos submetidos a essas condições.

Estudos sobre o perfil metabólico e bioquímico sanguíneo de animais possibilitam entender as relações entre os componentes sanguíneos e eventos fisiológicos, bem como identificar animais com problemas metabólicos que afetam direta ou indiretamente a fertilidade e a produtividade dos rebanhos (Ramos et al., 2007).

#### **2.4 Coelho (*Oryctolagus cuniculus*) como modelo experimental**

A utilização de modelos experimentais é de grande importância nas pesquisas científicas, contribuindo em demasia para o desenvolvimento da ciência e tecnologia. Sua vasta contribuição nos diversos campos científicos promoveu ao longo dos anos, a descoberta de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres vivos, como o desenvolvimento de vacinas e produção de soros (Carneiro & Scapini, 2009).

A utilização desses modelos em estudos experimentais apresenta vantagens e facilidades se comparada aos experimentos com humanos. Dentre essas vantagens, pode-se destacar: a sua fácil manutenção e observação; permite que se trabalhe com um número grande de repetições; apresenta ciclos vitais curtos (prenhez, lactação, puberdade); permite padronização do ambiente e da genética; permite transplantes ou transmissão de tumores (Souza & Merusse, 1996).

Um levantamento nas bases de dados da Biblioteca Regional de Medicina sobre as espécies mais comumente utilizadas como modelos experimentais, demonstrou o rato (*Rattus rattus*) como o animal mais usado em pesquisa, seguido pelo camundongo (*Mus Musculus*), coelho (*Oryctolagus cuniculus*), cão (*Canis familiaris*), suíno (*Sus domesticus*) e primatas (*Macaca mulatta*) (Fagundes & Taha., 2004).

O coelho é uma espécie bastante utilizada pelos pesquisadores, como demonstrado na base de dados da Lilacs (8,5 %) e do Scielo (8,3%), ocupando segundo lugar na escolha dos pesquisadores para desenvolver trabalhos científicos (Fagundes & Taha, 2004).

Em 262.253 artigos em língua inglesa (Pub Med) os ratos (*Rattus rattus*) (113.589) e camundongos (*Mus Musculus*) (106.775) são as espécies mais comumente utilizadas em pesquisas envolvendo animais. Os coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) (17.185), os cães (*Canis familiaris*) (15.059) e suínos (*Sus domesticus*) (6.672) vêm a seguir, ficando os primatas (*Macaca mulatta*) (3.073) em último lugar. A literatura latino-americana (12.249) segue a mesma tendência, com maior utilização de ratos (*Rattus rattus*) (5.982) e camundongos (*Mus Musculus*) (2.663) em pesquisas, seguidos dos cães (*Canis familiaris*) (2.117) e dos coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) (1.051) (Fagundes & Taha, 2004).

O percentual de animais utilizados em pesquisas científicas de acordo com a CEC, (2005) foi de 2,3% de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), 6,6% animais de sangue frio, 4,7% de aves, 0,09% de macacos (*Macaca mulatta*), 54% de camundongos (*Mus Musculus*), 26,6% de ratos (*Rattus rattus*), 1% de outros roedores, 1,26% de artiodactyla e perissodactyla e 0,45% de outras espécies.

Estes levantamentos sobre a utilização de animais em pesquisa vêm provar que animais de várias espécies têm sido intensamente utilizados ao longo dos anos. Mesmo com as tendências atuais que preconizam a utilização de métodos alternativos (estudos *in vitro*, culturas de células), os modelos animais apresentam como principal vantagem o fornecimento de informações sobre o organismo como um todo, fato que não é conseguido com outros métodos, o que justifica o seu emprego em pesquisas científicas (Chorilli et al., 2007).

O coelho é um modelo experimental de eleição para pesquisas (Ferreira et al., 2005). Dentre as raças mais utilizadas para fins laboratoriais, destacam-se a Nova Zelândia, que possui reconhecida docilidade, fácil reprodução, manejo e uniformidade de reações nas provas experimentais (Andersen et al., 2004).

A raça Nova Zelândia é a mais criada no Brasil e a raça Califórnia é o resultado do cruzamento entre as raças Chinchila, Russa e Nova Zelândia Branco. O peso de ambas as raças oscila entre 4 a 5 Kg para animais adultos (Duarte, 1979).

Os coelhos são popularmente conhecidos pela sua criação fácil e de ciclo produtivo rápido. (Pearce et al., 2007). As coelhas podem ter sua ovulação induzida pela proximidade com os machos, estimulação mecânica ou quando montadas por outra fêmea. A gestação dura de 30 a 32 dias e a prolificidade é de 5 a 8 láparos. Uma fêmea é capaz de produzir seis ninhadas por ano, totalizando 40 a 50 filhotes por ano (Schanaider et al., 2004).

O coelho é um dos modelos experimentais responsáveis por descobertas que permitiram o uso terapêutico de antibióticos e o tratamento de várias doenças, evitando assim epidemias e epizootias, bem como o desenvolvimento de técnicas de transplantes de órgãos e técnicas cirúrgicas (Carneiro & Scapini, 2009). Os coelhos também são frequentemente utilizados para estudos em biotecnologia reprodutiva e modelagem genética (Viudes de Castro et al., 2009).

Neste contexto, a utilização de modelos experimentais tem sido importante não somente para o aperfeiçoamento e comprovação de técnicas e procedimentos já existentes, como também para o desenvolvimento de outros (Ferreira et al., 2005).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-MUFARREJ, S. I.; EL-SARAG, M. S. A. Effects of royal jelly on the humoral antibody response and blood chemistry of chickens. **Journal of Applied Animal Research**, Izatnagar, Índia, v. 12, p. 41- 47, 1997.

ANDERSEN, M. L.; et al. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. UNIFESP: São Paulo, v. 167, 2004.

BACHANOVÁ, K.; et al. Identification of honeybee peptide active against *Paenibacillus larvae larvae* though bacterial growth-inhibition assay on polyvacrylamide gel. **Apidogie**, France, v.33, p. 259-269, 2002.

BARBOSA, L. P.; et al. Qualidade embrionária de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geleia real. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, Brasil, v.10, p.146-152, 2009.

BAKER, S. A.; et al. Identification of 10-hidroxy-D2-decenoic acid in royal jelly. **Nature**, New York, NY, v. 183, n. 4666, p. 996-997, 1959.

BIGGERSTAFF, K. D.; WOOTEN, J. S. Understanding lipoproteins as transporters of cholesterol and other lipids. **Advances in physiology education**, United States, v. 28, p. 105-106, 2004.

BLUM, M. S.; NOVAK, A. F.; TABER, S. 10-hydroxy-D2-decenoic acid, antibiotic found in Royal Jelly. **Science**, Washington, v. 130, p. 452-453, 1959.

BRASIL, Leis e Decretos. Instrução Normativa nº 3, de 19 de janeiro de 2001. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de apitoxina, cera de abelha, geleia real, geleia real liofilizada, pólen apícola, própolis e extrato de própolis. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1798>

CARNEIRO, C. G.; SCAPINI, F. O Coelho como modelo experimental em Laringologia. **Arquivos Internacionais de Otorrinolaringologia**, São Paulo, v. 13, p. 146-150. 2009.

ÇAVUŞOĞLU, K.; YAPAR, K.; YALÇIN, E. Royal jelly (Honey bee) is a potential antioxidant against cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress in albino mice. **Journal of Medicinal Food**, USA, 12, p. 1286-1292, 2009.

CEC. Commission of the European Communities. Report from the Commission to the Council and the European Parliament on the development, validation and legal acceptance of the alternative methods to animal tests in the field of cosmetic. Brussels. p.11, 2005.

CEMEK, M.; et al. Protective potential of royal jelly against carbon tetrachloride induced-toxicity and changes in the serum sialic acid levels. **Food and Chemical Toxicology**, England, v. 48, p. 2827-2832, 2010.

CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: O camundongo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. São Paulo, Brasil, v. 28, p. 11-23, 2007.

CSUKA, J.; BAUMGARTNER, J.; DUBAY, J. The effect of Royal jelly on some reproductive characters of Japanese quail. **Zivocisna Vyroba**, República Checa, v. 23, n. 5, p. 395-400, 1978.

DEROO, B. J.; KORACH, K. S. Estrogen receptors and human disease. **The Journal of Clinical Investigation**, London, v. 116, n. 3, p. 561-570, 2006.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, Netherlands, v. 78. p. 345-370, 2003.

DUARTE, A. T. Cunicultura. 1. ed. Brasil. Livraria Clássica Editora, p. 413, 1979.

EL-BANBY, M. A.; et al. Pituitary-testicular function changes in royal jelly treated male rats. *Annals of Agricultural Science*, Ain Shams University. v. 32, p. 327–336, 1987.

ELNAGAR, S. A. Royal jelly counteracts bucks "summer infertility". **Animal Reproduction Science**, Netherlands, v. 121, p. 174-180, 2010.

ELNAGAR, S. A.; ELGHALID, O. A.; ABD-ELHADY, M. A. Royal jelly: can it reduce physiological strain of growing rabbits under Egyptian summer conditions? **The Animal Consortium**, United States. v.4, p. 1547-1552, 2010.

EL-NEKEETY, A. A. Efficact of royal jelly against the oxidative stress of fumonisin in rats. **Toxicon**, England, v. 50, p. 256-269, 2007.

ESHKAGHI, S.; SEIFOLLAHI, F. Antibacterial effects of Royal jelly on different strains of bacteria. **Journal of Public Health**, England, v. 32, p. 25-30, 2003.

ESHKAGHI, S. Anevaluation of the potent inhibitory effects of royal jelly fractions against streptomyces bacteria. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, Pakistan, v. 21, p. 63-68, 2005.

FAGUNDES, D. J; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, Brasil, v. 19, p. 59-65, 2004.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, Brasil, v. 20, 2005.

FOSTER, D. L.; NAGATANI, S. Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. **Biology of Reproduction**, United States, v. 60, p. 205–215, 1999.

FUJI, A.; et al. Augmentation of wound healing by royal jelly in streptozotocin-diabetic rats. **Japan Journal of Pharmacology**, Japan, v. 53, p. 331-337, 1990.

FUJIWARA, S.; et al. A Potent Antibacterial Protein in Royal Jelly. **The Journal of Biological Chemistry**, United States, v. 265, p. 11333-11337, 1990.

GARCIA-AMOEDO, L. H.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA) in royal jelly from São Paulo, Brazil. **Ciência. Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, Brasil, p. 62-65, 2003.

GEBARA, O. C. E.; et al. Efeitos cardiovasculares da testosterona. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, Brasil, v.79, n.6, p.644-649, 2002.

GHOREISHI, S. M.; et al. Effect of a calcium soap of fatty acids on reproductive characteristics and lactation performance of fat-tailed sheep. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Paquistão, v. 10, p. 2389-2395, 2007.

GONZÁLEZ, F.H.D. Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, p. 77, 2000.

GONZÁLEZ, F. D. C.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: Ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: 29º CONGRESSO NACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, **Anais...** Porto Alegre, Brasil, p. 5-15, 2002.

GREGORY, L.; et al. Valores de referência dos teores séricos da uréia e creatinina em bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. Influência dos fatores etários, sexuais e da infecção pelo vírus da leucose dos bovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, Brasil, v. 71, n. 3, p. 339-345, 2004.

GRUMMER, R. R.; CARROL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal Animal Science**. United States, v. 77, p. 1876-1884, 1991.

GUO, H.; et al. Royal jelly peptides inhibit lipid peroxidação in vitro and in vivo. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Japan, v. 54, p. 191-195, 2008.

GUO, H.; KOUZUMA, Y.; YONEKURA, M. Isolation and properties of antioxidative peptides from water-soluble royal jelly protein hydrolysate. **Food Science and Technology Research**. Japan, v.11, p. 222-230, 2005.

HAYDAK, M. H. Honey bee nutrition. *Annual Review of Entomology*, v.15, p.143-156, 1970.

HIDAKA, S; et al. Royal jelly prevents osteoporosis in rats: Beneficial effects in ovariectomy model and in bone tissue culture model. **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**. United States, v. 3, p. 339-348, 2006.

HOWE, S. R.; DIMICK, P. S.; BENTON, A. W. Composition of freshly harvested and commercial royal jelly. **Journal of Apicultural Research**., England, v. 24, p. 52-61. 1985.

HUSEIN, M. Q.; HADDAD, S. G. A new approach to enhance reproductive performance in sheep using royal jelly in comparison with equine chorionic gonadotropin. **Animal Reproduction Science**, Netherlands, v. 93, p. 24-33, 2006.

HUSEIN, M.Q.; KRIDLI, R.T. Reproductive responses following royal jelly treatment administered orally or intramuscularly into progesterone-treated Awassi ewes. **Animal Reproduction Science**. Netherlands, v.74, p.45-53, 2002.

HUSEIN, M. Q.; KRIDLI, R. T.; HUMPHREY, W. D. Effect of royal jelly on estrus synchronization and pregnancy rate of ewes using flourogestone acetate sponges. **Journal Animal Science**, United States, v. 77, p. 431, 1999.

INOUE, S.; et al. Royal jelly prolongs the life span of C3H/HeJ mice. Correlation with reduced DNA damage. **Experimental Gerontology**, England, v. 38, p. 965–969, 2003.

ISIDOROV, V. A.; et al. Determianation of Royal jelly acids in honey. **Food Chemistry**, England, v. 124, p. 387-391, 2011.

JAMNIK. P.; GORANOVIC, D.; RASPOR. P. Antioxidative action of Royal jelly in the cell. **Experimental gerontology**. England, v. 42, p. 594-600, 2007.

KAMAHURA, M.; et al. Antifatigue effect of fresh royal jelly in mice. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, Japan, v. 47, p. 394-401, 2001.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 5. ed. San Diego: Academic Press, p. 932,1997.

KARACAL, F.; ARAL, F. Effect of the royal jelly on spermquality in mice. **Indian Veterinary Journal**, Indian. v. 85, p. 331–332, 2008.

KHATTAB, M. M.; RADWAN, A. A.; AFIFI, E. A. Physiological effect of royal jelly on female reproductive capacity in rabbits. 4th International Conference on Apiculture Tropical Climates, 1989, Egypt. **Proceedings...** Cairo: Egypt, 1989.

KOYA-MIYATA, S.; et al. Identification of a collagen production-promoting factor from an extract of royal jelly and its possible mechanism. **Bioscience, Biotechnology, Biochemistry**, Japan, v. 68, p. 767-773, 2004.

KNOBIL, E.; NEILL, J. D. The Physiology of Reproduction. 2. ed. New York: Raven Press, p. 571-628, 1994.

KOHGUCHI, M.; et al. Effect of royal jelly diet on the testicular function of hamsters. **Food Science and Technology Research**, Japan, v. 10, p. 420–423, 2004.

KOHNO, K.; et al. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Japan, v. 68, p. 138-145, 2004.

KRELL, R. Value-added Products from Bee Keeping. Agricultural Service Bulletin No. 124, FAO, Rome. 1996.

KRIDLI, R. T.; AL-KHETIB, S. S. Reproductive responses in ewe treated with eCG or increasing doses of royal jelly. **Animal Reproduction science**, Netherlands, v. 92, p. 75-85, 2006.

KRIDLI, R. T.; HUSEIN, M. Q.; HUMPHREY, W. D. Effect of royal jelly and GnRH on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal sponges. **Small Ruminant. Research**, Netherlands, v. 49, p. 25–30, 2003.

KUBO, T.; et al. Change in the expression of hypopharyngeal-gland proteins of the worker honeybees (*Apis mellifera* L.) with age and/or role. **Journal of Biochemistry**, Japan, v. 119, p. 291-295, 1996.

LERCKER, G.; et al. Caratterizzazione dei principali costituenti della gelatina reale. *Apicoltura*, v. 8, p. 11-21, 1992.

LEROY, J. L. M. R. et al.; Typical metabolic changes in high producing dairy cows early postpartum and their consequence on oocyte and embryo quality. **Vlaams Diergeneeskunding Tijdschrift**, Netherlands, v. 75, p. 95-105, 2006.

LUCY, M.C.; et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal Animal Science**, United States, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

MĂRGHITAȘ, L. A. et al. Evaluation of fresh royal jelly in different larvae stage. **Animal Science and Biotechnologies**. Japan, v. 67, p. 29-36, 2010.

MELLO, N. B. **Guia Prático do Apicultor**. 1a ed. São Paulo: Graund, 1989. p.157

MISHIMA, S.; et al. Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. **Journal Ethnopharmacol**, Ireland, v. 101, p. 215–20, 2005.

MORAIS, A. C. T.; et al. Parâmetros morfofisiológicos testiculares de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geleia real. **Arquivo**

**Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, Brasil, v. 61, p.110-118, 2009.

NAGAI, T.; INOUE, R. Preparation and the functional properties of water and alkaline extract of royal jelly. **Food Chemistry**, England, v. 84, p. 181–186, 2004.

NORDOY A.; AAKVAAQ, A.; THELLE, D. Sex hormones and high density lipoproteins in healthy males. **Atherosclerosis**, Ireland, v. 34, p. 431-436, 1979.

OHASHI, K.; NATORI, S.; KUBO, T. Change in the mode of gene expression of the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the worker honeybee *Apis mellifera* L. **Journal of Biochemistry**, Japan, v. 249, p. 797-802, 1997.

OKAMOTO, I. et al. Mayor royal Jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. **Life Science**, United States v. 73, p. 2029-2045, 2003.

PAMPLONA, L. C. et al. Physicochemical analyses indicated to the quality control of royal jelly with honey. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 24, p. 608-612, 2004.

PEARCE, A. I.; et al. Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. **European Cells & Materials**, Scotland, v. 2, p. 1-10, 2007.

POPESCU, O.; et al. Sugar profile and total proteins contenido of fresh Royal jelly. Bulletin UASVM. **Animal Science and Biotechnologies**, Japan, v. 66, p. 265-269, 2009.

PUTTKAMMER, E. Geleia real - métodos e técnicas de produção, coleta e armazenamento, EPAGRI: Florianópolis, 1994.

RAMOS, A. F.; et al. Efeitos de diferentes protocolos de superovulação sobre a concentração plasmática de progesterona e de metabólitos lipídicos de vacas Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, São Paulo, Brasil, v. 59, p. 273-279, 2007.

RHOADS M. L.; et al. Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. **Animal Reproduction science**, Netherlands, v. 91, p. 1-10, 2006.

SCARSELLI, R. et al. Towards royal jelly proteome. **Proteomics**, Germany, v. 5, p. 1020-1030, 2005.

SCHANAIDER A, SILVA P. C. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cirrúgica Brasileira**, São Paulo, Brasil v. 9, p. 441-7, 2004.

SCHMIDT, J. O. Bee products: chemical composition and application. Mizrahi, H., Lensky, Y. (Eds.), *Bee Products: Properties, Applications and Apitherapy*. Plenum, New York, p. 15–26, 1996.

SESTA, G., Determination of sugars in royal jelly by HPLC. **Apidologie**, France, v. 37, p. 84-90, 2006.

SILICI, S. et al. A. Antioxidante effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. **Infertility. Urology**, Germany, v. 74, p. 545-551, 2009.

SOUZA, N. L.; MERUSSE, L. B. A utilização de animais de Laboratório In: Manual para Técnicos em Bioterismo. Capítulo 1. Coordenação: Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). 2. ed. São Paulo: EPM; p. 3-10, 1996.

STEVEN, L. S.; SCOTT, M. S. Urinary Sistem. In: *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Iowa: Iowa State, p. 277-336, 2002.

STOCKER, A. et al. Trace and mineral elements in royal jelly and homeostatic effects. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Germany, v. 19, p. 183–189, 2005.

SUZUKI, K.M. et al. Estrogenic activities of fatty acids and a sterol isolated from Royal jelly **Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM**. United States, v. 5, p. 295-302, 2008.

TAMMINGA, S. The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. **Anim. Reproductive Sciences**, United States, v. 96, p. 227-239, 2006.

TEIXEIRA P. J. et al. Total and regional fat and serum cardiovascular disease risk factors in lean and obese children and adolescents. **Obesity Research**, United States, v. 9, p. 432-442, 2001

TOKUNAGA, K.H. et al. Antihypertensive effect of peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, Japan, v. 27, p. 189-192, 2004.

THOMPSON, J. G. Defining the requirements for bovine embryo culture. **Theriogenology**, United States, v.45, p.27-40, 1996.

VITTEK, J. Effect of Royal Jelly on serum lipids in experimental animals and humans with atherosclerosis. **Birkhauser Verlag Basel**, Switzerland, v. 51, p. 927-935, 1995.

VIUDES DE CASTRO, M. P.; et al. Effect of recombinant gonadotropins on embryo quality in superovulated rabbit does and immune response after repeated treatments. **Theriogenology**, United States, v. 72, p. 655-662, 2009.

WANG, D. Growth rates of young queen and worker-honeybee larvae. **Journal of Apicultural Research**, England, v. 4, p. 3-5, 1965.

YILDIZ, L.; UMUDUM, Z. The effect of Royal Jelly on serum cholesterol and triglyceride levels. **Turkiye Klinikleri Journal Medical Sciences**, Turkiye, v. 20, p. 261-263, 2000.

YU, F.; MAO, F.; LIANKE, L. Royal jelly proteome comparison between *A. mellifera ligustica* and *A. cerana cerana*. **Journal of Proteome Research**, United States, v. 9, p. 2207-2215, 2010.

ZACHUT, M.; et al. Dietary unsaturated fatty acids influence preovulatory follicle characteristics in dairy cows. **Reproduction**, United States, v. 135, p. 683-692, 2008.

## CAPÍTULO 1

### **MORFOMETRIA DO APARELHO GENITAL, RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA E QUALIDADE EMBRIONÁRIA DE COELHAS (*Oryctolagus Cuniculus*) SUPLEMENTADAS COM GELEIA REAL *IN NATURA*<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup>Animal Reproduction Science)

1 **Morfometria do aparelho genital, resposta superovulatória e qualidade**  
2 **embrionária de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) suplementadas com geleia**  
3 **real *in natura***

4  
5 Morphometry of the genital tract, superovulatory response and embryonic quality  
6 in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) supplemented with *in natura* royal jelly

7  
8 Dutra<sup>1</sup>, P.A.; Barbosa<sup>1\*</sup>, L.P.; Santana<sup>1</sup>, A.L.A.; Aguiar<sup>1</sup>, C.S.; Souza<sup>1</sup>, R.S.;  
9 Cardoso Neto<sup>1</sup>, B.M.; Araújo<sup>1</sup>, M.L.; Araújo<sup>1</sup>, R.C.S.A

10  
11 <sup>1</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas BA.

12 \*Rua Rui Barbosa, 710 – Centro – Cruz das Almas/BA – 44.380-000. Telefone:  
13 (71) 9192 1177. larissa@ufrb.edu.br

14  
15 **Resumo**

16 Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com geleia real *in natura* sobre a  
17 morfometria do aparelho genital, resposta superovulatória e qualidade  
18 embrionária de coelhas adultas. Trinta e seis fêmeas foram distribuídas em quatro  
19 grupos (G), sendo: G1 (n=9): sem suplementação com geleia real, G2, G3 e G4  
20 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40 mg/dia de geleia real *in natura*, durante um  
21 período de 11 meses. O protocolo superovulatório consistiu na aplicação de uma  
22 dose de 40 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), seguida por uma dose  
23 de 40 UI de Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG), via intramuscular, 48 horas  
24 após, e submetidas à cobertura natural. Os animais foram eutanasiados e os  
25 embriões coletados 72 horas após a cópula. Não houve diferença estatística para  
26 as variáveis analisadas ( $P>0,05$ ). O peso médio para o aparelho genital feminino  
27 foi de 10,89g; o peso médio dos ovários direito e esquerdo foi de 0,29g e o índice  
28 gonadossomático, foi de 0,02g. O número de folículos do ovário direito foi de 23,  
29 26, 15 e 19; no ovário esquerdo foi de 19, 24, 17 e 14, para os grupos 1, 2, 3 e 4,  
30 respectivamente. O número de corpos lúteo no ovário direito foi de 6, 7, 7 e 5; e  
31 no ovário esquerdo foi de 8, 7, 5 e 7, para os grupos 1, 2, 3 e 4, respectivamente.  
32 O número de estruturas totais recuperadas foi de 7,8; 11; 9,9 e 12 para coelhas  
33 suplementadas com 0mg, 10mg, 20mg e 40mg, respectivamente. O número  
34 médio de embriões viáveis foi de 8,7 e de degenerados foi de 0,5. Os embriões

35 viáveis foram classificados morfológicamente como grau I: sendo, 5,6; grau II: 2,3;  
36 grau III: 0,8 para os grupos G1 (0mg), G2 (10mg), G3 (20mg) e G4 (40mg),  
37 respectivamente. A geleia real não apresentou efeito estimulador sobre os órgãos  
38 relacionados com a reprodução de coelhas, nem foi eficiente em melhorar a  
39 qualidade embrionária das mesmas nas dosagens de até 40mg de geleia real *in*  
40 *natura*.

41

42 **Palavras-chave:** coelho, embrião, reprodução, superovulação

43

#### 44 **Abstract**

45 The purpose of this paper was to assess the effect of supplementation of *in natura*  
46 royal jelly on the morphometry of the genital tract, superovulatory response and  
47 embryonic quality in adult rabbits. We used 36 rabbits distributed in four groups  
48 (G), as it follows: Group 1 (n=9): no supplementation with royal jelly, Groups 2, 3  
49 and 4 (n=9): supplementation with 10, 20 and 40 mg/day of *in natura* royal jelly  
50 over a period of 11 months. The superovulatory protocol consisted in the  
51 application of a dose of 40 UI of Equine Chorionic Gonadotrophin (eCG), followed  
52 by a dose of UI of Human Chorionic Gonadotrophin (HCG), intramuscularly, 48  
53 hours later, and submitted to natural cover. The animals were euthanasiated and  
54 the embryos collected 72 hours after copulation. There was no statistical  
55 difference for the analyzed variables ( $P>0,05$ ). The average weight for the female  
56 genital tract was 10,89g; the average weight of right and left ovaries was 0,29g  
57 and the average gonadosomatic index rate was 0,02g. The number of follicles in  
58 the right ovary was 23, 26, 15 and 19; in the left ovary was 19, 24, 17 and 14, four  
59 groups 1, 2, 3 and 4, respectively. The number of corpus luteus in the right ovary  
60 was 6, 7, 7 and 5; in the left ovary was 8, 7, 5 and 7, for the groups 1, 2, 3 and 4,  
61 respectively. The number of total recovered structures was 8, 10, 8 and 10, with  
62 recovery rate of 43, 57, 57 and 68% of rabbits supplemented with 0 mg, 10 mg, 20  
63 mg and 40 mg, respectively. The average number of viable embryos was 10,86  
64 and of degenerated embryos was 0,64. Viable embryos were morphologically  
65 classified as degree I: being 7,07; degree II: 2,93; degree III: 1,04, for groups G1  
66 (0mg), G2 (10mg), G3 (20mg) and G4 (40mg), respectively. Royal jelly did not  
67 present stimulatory effect on organs related to the reproduction of rabbits, nor was

68 it effective to improve their embryonic quality at dosages of up to 40 mg of *in*  
69 *natura* royal jelly.

70

71

72 **Key words:** embryo, rabbit, reproduction, superovulation

73

74

## 75 **Introdução**

76

77 A geleia real é uma secreção das glândulas mandibulares e hipofaríngeas  
78 produzida pelas abelhas operárias, é utilizada para alimentar as larvas das  
79 abelhas operárias e de zangões, durante seus primeiros três dias de vida e a  
80 abelha rainha, por toda a sua vida. É um líquido cremoso, branco-opaco e seus  
81 principais componentes são ácidos carboxílicos, incluindo o 10-hidroxi-2-  
82 decenóico, aminoácidos livres, proteínas, açúcares, sais minerais e vitaminas  
83 (Lercker et al., 1982).

84

85 Para a abelha rainha a geleia real é importante para sua diferenciação, como o  
86 aumento da massa corporal, longevidade e desenvolvimento de estruturas  
87 relacionadas à reprodução (Ohashi et al., 1997). No entanto, os efeitos  
88 fisiológicos da geleia real nos seres humanos e em outros mamíferos ainda não  
89 estão elucidados, mas já existem trabalhos demonstrando efeitos na reprodução  
90 humana (Khattab et al., 1989) e em animais (Elnagar, 2010).

91

92 Husein et al. (1999) relataram uma melhora nos parâmetros reprodutivos de  
93 ovelhas tratadas com esponjas intravaginais impregnadas com acetato de  
94 flurogesterona e 250 mg de geleia real diariamente por 12 dias. Em outro estudo,  
95 Kridli et al. (2003) demonstraram que a geleia real em conjunto com progesterona  
96 exógena, influencia positivamente a incidência de estro e melhora a taxa de  
97 prenhez em ovelhas.

98

99 Husein e Haddad (2006), dando continuidade ao seu trabalho, avaliaram a  
100 substituição de gonadotrofina coriônica equina (eCG) por geleia real em

101 protocolos de sincronização de estro, constatando efeitos análogos aos da eCG  
102 em protocolos de sincronização de ovulação em ovelhas.

103

104 A geleia real é uma substância que está sendo estudada com objetivo de  
105 melhorar problemas de subfertilidade, principalmente a da espécie humana  
106 (Khattab et al., 1989). Por esse motivo vem se usando modelos experimentais  
107 como coelhos (Elnagar et al., 2010) e camundongos (Barbosa et al., 2009), para  
108 avaliar as alterações na fisiologia da reprodução.

109

110 Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com geleia real *in*  
111 *natura* sobre a morfometria do aparelho genital, resposta superovulatória e  
112 qualidade embrionária de coelhas adultas.

113

#### 114 **Material e Métodos**

115

116 O experimento foi realizado no Setor de Cunicultura do Centro de Ciências  
117 Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da  
118 Bahia (UFRB), em Cruz das Almas – BA, no período de agosto de 2009 a junho  
119 de 2010. A cidade de Cruz das Almas encontra-se a 200m acima do nível do mar,  
120 apresenta clima tropical quente e úmido, segundo a classificação de Köppen, com  
121 pluviosidade média anual de 1.224 mm, com maior incidência de chuvas no  
122 período compreendido entre março e junho. A umidade relativa do ar é de  
123 aproximadamente 80% e a temperatura média anual é de 24,5°C.

124

125 Foram utilizadas 36 coelhas das raças Califórnia e Nova Zelândia, selecionadas  
126 após a desmama, com 30 dias de idade. Os animais foram mantidos dentro de  
127 gaiolas suspensas de arame galvanizado, providas de comedouros e bebedouros,  
128 recebendo água, ração comercial (Primor®, Ba - Brasil) (Composição: Farelo de  
129 trigo, farelo de milho, farelo de soja, casca de arroz, calcário moído, premix  
130 vitamínico mineral e cloreto de sódio) e rami (*Boehmeria nivea*) *ad libitum*.

131

132 As fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos (G), sendo: G1  
133 (n=9): sem suplementação com geleia real (grupo controle); G2 (n=9), G3 (n=9) e  
134 G4 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40mg/dia de geleia real *in natura*. A geleia

135 real foi diluída previamente em água destilada, armazenada em microtubos de  
 136 polietileno graduado e estocada em freezer a -20°C (Kamakura et al., 2001). A  
 137 geleia real utilizada foi comercial (Cia do Mel®, Ba - Brasil) (Tabela 1).

138

139 Tabela 1. Composição bromatológica da geleia real

Ingredientes	Valores em percentuais (%)
Água	60
Proteína	12-18
Carboidratos	13-25
Lipídeos	5
Vitaminas (B1, 2, 3, 5, 6, 8, 9,12, A, C, D, E e Hormônios sexuais)	3
Sais minerais (Mg, Fe, S, Zn, Cu, Mn)	1

140 Geleia real *in natura* (Cia do Mel®, Ba - Brasil).

141

142 A geleia real foi administrada por via oral, com o auxílio de seringa desprovida de  
 143 agulha. Os animais do grupo controle receberam água por via oral, os animais  
 144 experimentais não foram contidos para a administração da suplementação.

145

146 A suplementação foi iniciada 24 horas após o desmame das fêmeas com 30 dias  
 147 de idade, diariamente, sempre ao amanhecer, até a desmama do segundo parto,  
 148 totalizando um período de 11 meses consecutivos. Após 30 dias do segundo  
 149 parto, as fêmeas foram submetidas à superovulação e a cobertura natural. O  
 150 protocolo superovulatório consistiu na aplicação de uma dose de 40 UI de  
 151 gonadotrofina coriônica equina (eCG), por via intramuscular (IM), 24 horas após a  
 152 desmama e, 48 horas após, as coelhas receberam 40 UI de gonadotrofina  
 153 coriônica humana (hCG) IM e em seguida foram submetidas à três coberturas. Os  
 154 embriões foram coletados 72 horas após a cópula.

155

156

157

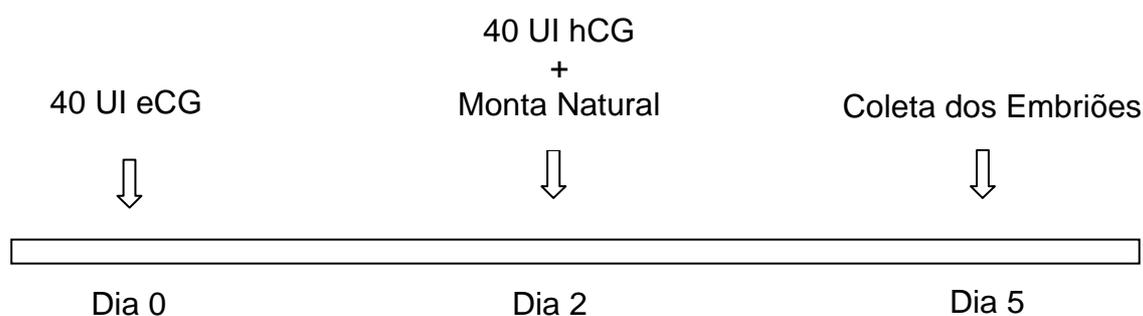
158

159

160

161

162



163 **Figura 1.** Protocolo da superovulação e coleta de embriões de coelhas  
164 suplementadas com geleia real *in natura*.

165

166

167 As coelhas foram pesadas em balança digital com cinco dígitos (Felizola®) e em  
168 seguida eutanasiadas utilizando pentobarbital sódico, 27 mg/kg intravenoso (i.v),  
169 para sedação e posterior uso de cloreto de potássio, para o sacrifício, respeitando  
170 a resolução nº 714, de 20 de junho de 2002, sobre os procedimentos e métodos  
171 de eutanásia de animais recomendados pelo Conselho Federal de Medicina  
172 Veterinária.

173

174 Após eutanásia, foi realizada uma incisão na região abdominal e abertura do  
175 peritônio. Após a abertura da cavidade, os intestinos foram removidos com o  
176 auxílio de uma pinça, removendo o tecido adiposo que envolve o aparelho genital,  
177 com posterior retirada do mesmo.

178

179 Em seguida, o aparelho genital feminino foi pesado em balança digital de precisão  
180 (Radwag®), utilizando paquímetro (Messen®), fez-se a avaliação dos seguintes  
181 parâmetros morfométricos: comprimento e diâmetro da tuba uterina, comprimento  
182 e diâmetro dos cornos uterinos, largura e altura dos ovários, procedendo-se em  
183 seguida a pesagem dos mesmos, para posterior cálculo do índice  
184 gonadossomático (IGS),  $IGS = [(peso\ das\ gônadas / peso\ total) \times 100]$ .

185

186 Os ovários foram levados ao estereomicroscópio com aumento de 20X, para  
187 contagem do número de folículos e de corpos lúteos. Os dois cornos uterinos  
188 foram separados e lavados com solução fisiológica em temperatura ambiente com  
189 auxílio de um escalpe número 23. Foram realizadas três lavagens por corno  
190 uterino com 20 mL de solução fisiológica em temperatura ambiente no sentido  
191 ápice do corno para a base. Os cornos uterinos foram levemente massageados e  
192 o efluente recolhido em placas de petri quadriculadas.

193

194 Após este procedimento, os embriões foram identificados e classificados com o  
195 auxílio de um estereomicroscópio com aumento de 40X, quanto ao estágio de  
196 desenvolvimento e quanto ao aspecto morfológico, segundo a classificação

197 proposta pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS)  
 198 (Stringfellow e Givens, 2010). A taxa de recuperação embrionária foi calculada  
 199 segundo a fórmula: [(número de estruturas coletadas/número de corpos lúteos  
 200 totais) x 100] (Boiti et al., 1996).

201

202 As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do programa  
 203 computacional SAS (2004), utilizando Análise de Variância através do  
 204 procedimento GLM, com 5% de probabilidade.

205

## 206 **Resultados e Discussão**

207

208 A suplementação das coelhas com 0, 10, 20 e 40mg de geleia real *in natura* não  
 209 influenciou ( $P>0,05$ ) nos pesos uterino e ovariano e no índice gonadossomático  
 210 (Tabela 2).

211

212 Tabela 2. Peso uterino, ovariano e índice gonadossomático de coelhas  
 213 suplementadas com geleia real *in natura*

Variáveis	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)	Média
Peso corporal (g)	3171±110	2910±58	2821±57	3100±90	3003±46
Peso uterino (g)	11,14±0,86	12,06±0,71	9,70±0,46	10,62±0,83	10,88±0,38
Peso ovariano direito (g)	0,29±0,02	0,27±0,02	0,27±0,01	0,34±0,05	0,29±0,01
Peso ovariano esquerdo (g)	0,27±0,02	0,27±0,02	0,27±0,02	0,34±0,04	0,29±0,01
IGS (%)	0,01±0,0	0,01±0,0	0,01±0,0	0,02±0,0	0,02±0,0

214 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real; G3=  
 215 suplementação com 20mg de geleia real e G4= suplementação com 40mg de geleia real.

216 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância ( $P>0,05$ ).

217

218 A atividade estrogênica apresentada pela geleia real (Mishima et al., 2005; Suzuki  
 219 et al., 2008) nas doses utilizadas, provavelmente não foi suficiente para promover  
 220 diferenças no desenvolvimento do aparelho genital das fêmeas e  
 221 conseqüentemente em seus pesos.

222

223 O IGS corresponde à proporção do peso corporal alocada em ambos os ovários,  
 224 sendo um dado auxiliar para a observação da influencia da geleia real sobre o  
 225 aparelho genital das fêmeas. O valor médio encontrado para o IGS nos quatro  
 226 grupos foi de 0,02%.

227

228 Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os grupos para morfometria ovariana, por  
 229 meio das mensurações de largura, comprimento e altura dos ovários direito e  
 230 esquerdo, independente das concentrações de geleia real utilizadas (Tabela 3).

231

232 Tabela 3. Morfometria ovariana de coelhas suplementadas com geleia real *in*  
 233 *natura*

Variáveis (cm)	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)	Média
Largura do ovário Direito	0,44±0,0	0,38±0,0	0,42±0,0	0,44±0,0	0,42±0,0
Largura do ovário esquerdo	0,47±0,0	0,41±0,0	0,36±0,0	0,44±0,0	0,42±0,0
Comprimento do ovário direito	1,57±0,1	1,62±0,0	1,55±0,1	1,71±0,1	1,61±0,0
Comprimento do ovário esquerdo	1,56±0,1	1,58±0,0	1,50±0,0	1,60±0,1	1,56±0,0
Altura ovário do direito	0,17±0,0	0,16±0,0	0,30±0,0	0,20±0,0	0,21±0,0
Altura do ovário esquerdo	0,17±0,0	0,17±0,0	0,26±0,0	0,20±0,0	0,20±0,0

234 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real; G3=  
 235 suplementação com 20mg de geleia real e G4= suplementação com 40mg de geleia real.

236 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância ( $P>0,05$ ).

237

238 A geleia real possui importância fundamental para a diferenciação das castas e  
 239 por determinar características exclusivas à abelha rainha, como o aumento da  
 240 massa corporal, longevidade e desenvolvimento de estruturas relacionadas à  
 241 reprodução (Ohashi et al., 1997). Desta forma, esperava-se um maior  
 242 desenvolvimento dos ovários das coelhas suplementadas com geleia real *in*  
 243 *natura* devido principalmente à atividade esteroideogênica presente na geleia real  
 244 (Kridli & Al-Khetid, 2006), podendo influenciar positivamente na reprodução das  
 245 coelhas, com o aumento da função ovariana.

246

247 Não houve diferença para o comprimento e diâmetro da tuba uterina e dos cornos  
248 uterinos com a suplementação de geleia real *in natura* ( $P>0,05$ ) (Tabela 4).

249

250 Tabela 4. Morfometria da tuba uterina e cornos uterinos de coelhas  
251 suplementadas com geleia real *in natura*

252

Variáveis (cm)	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)	Média
Comprimento da tuba uterina	9,92±0,5	9,40±0,7	9,75±0,3	11,11±0,4	10,06±0,2
Diâmetro da tuba uterina	1,77±0,2	1,76±0,2	1,88±0,2	2,11±0,2	1,88±0,1
Comprimento dos cornos uterinos	13,35±1,2	12,32±0,6	12,05±1,6	10,58±1,6	12,07±0,4
Diâmetro dos cornos uterinos	0,52±0,0	0,58±0,0	0,53±0,0	0,58±0,0	0,55±0,0

253 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real; G3=  
254 suplementação com 20mg de geleia real; G4= suplementação com 40mg de geleia real.

255 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância ( $P>0,05$ ).

256

257 As doses utilizadas de geleia real não foram eficientes em promover  
258 desenvolvimento do aparelho genital das fêmeas, portanto, incapazes em alterar  
259 parâmetros morfométricos da tuba uterina e cornos uterinos, provavelmente a  
260 quantidade de hormônios esteróides (Hidaka et al., 2006) ou substâncias  
261 semelhantes aos hormônios, como o ácido 10-hidroxi-trans-2-decenoico, ácido  
262 10-hidroxidecanoico, ácido trans-2-decenoico e 24-methilene colesterol, que estão  
263 presentes na geleia real e exibem atividade estrogênica (Suzuki et al., 2008),  
264 provavelmente foram insuficientes em causar essas alterações em coelhas.

265

266 Para resposta superovulatória não foi encontrada diferença significativa ( $P>0,05$ )  
267 entre os grupos, por meio das avaliações do número de folículos dos ovários  
268 direito e esquerdo, número de corpos lúteos do ovário direito e esquerdo, número  
269 de corpo lúteo total, estruturas totais recuperadas (Tabela 5).

270

271 Tabela 5. Resposta superovulatória de coelhas suplementadas com geleia real *in*  
272 *natura*

Variáveis	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)	Média
Número de folículo no ovário direito	23,0±3,6	26,0±6,6	15,0±2,4	19,0±3,1	20,9±1,9

Número de folículo no ovário esquerdo	19,0±2,9	24,0±6,8	17,0±1,7	14,0±4,3	18,8±1,8
Número de corpo lúteo no ovário direito	6,0±1,9	7,0±1,8	7,8±1,2	5,0±3,5	6,8±0,8
Número de corpo lúteo no ovário esquerdo	8,0±1,8	7,0±0,5	5,0±0,8	7,0±4,4	7,2±0,6
Número de corpo lúteo total	14,0±3,7	14,0±2,2	13,0±1,7	13,0±6,6	14,0±1,2

273 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real; G3=  
274 suplementação com 20mg de geleia real; G4= suplementação com 40mg de geleia real.

275 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância (P>0,05).

276

277 O número de folículos encontrado (Tabela 5) nos ovários direito e esquerdo foi  
278 superior ao encontrado por Andreazzi et al. (2006) que observaram 2,0 folículos  
279 no ovário direito e 3,1 no ovário esquerdo de coelhas Nova Zelândia,  
280 superovuladas com 40 UI de eCG. O número de corpos lúteos do ovário direito foi  
281 de 11,7 e de 11,6 no ovário esquerdo, sendo a taxa de recuperação de 38%,  
282 enquanto esta pesquisa obteve taxa de recuperação média de 57±6,5%.

283

284 Os dados desta pesquisa diferem do estudo realizado por Kridli et al. (2003), que  
285 suplementou ovelhas com 250 mg/dia de geleia real também pela via oral,  
286 obtendo um aumento do desenvolvimento folicular, resultando do aumento da  
287 produção de estrógeno nesses animais. Apesar da quantidade de geleia real  
288 ingerida pelas ovelhas ter sido uma quantidade menor, proporcionalmente em  
289 comparação com a suplementação das coelhas desta pesquisa, foi observado  
290 alterações no trabalho de Kridli et al. (2003), provavelmente devido a espécie  
291 animal ser diferente, sendo as ovelhas ruminantes e os coelhos monogástricos.  
292 Entretanto, Kridli et al. (2003) sugere que a dose de 250 mg de geleia real por 12  
293 dias utilizada em seu trabalho pode ter sido insuficiente para aumentar a taxa de  
294 ovulação.

295

296 Não foi encontrada diferença significativa (P>0,05) para número de embriões  
297 viáveis, degenerados e embriões grau I, II e III, independente dos níveis de  
298 suplementação utilizados (Tabela 6).

299

300 Tabela 6. Qualidade embrionária de coelhas superovuladas suplementadas com  
301 geleia real *in natura*

Variáveis	G1(0mg)	G2(10mg)	G3(20mg)	G4(40mg)	média
Embriões viáveis	7,8±3,8	10,4±2,9	8,4±1,8	11,6±2,6	8,7±1,4
Embriões Degenerados	0,0±0,0	0,6±0,3	1,5±2,7	0,4±0,5	0,5±0,2
Embriões Grau I	4,3±1,7	6,0±1,8	4,4±3,1	9,5±5,7	5,6±0,8
Embriões Grau II	2,7±1,7	2,3±1,1	2,6±2,3	2,1±2,9	2,3±0,5
Embriões Grau III	0,8±0,5	2,1±0,7	1,4±1,3	0,0±0,0	0,8±0,2
Estruturas totais	7,8±3,6	11±3,0	9,9±1,8	12±2,7	9,2±1,4

302 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real; G3=  
303 suplementação com 20mg de geleia real; G4= suplementação com 40mg de geleia real.  
304 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância (P>0,05).  
305

306 Os resultados encontrados corroboram com o estudo realizado por Barbosa et al.  
307 (2009), que também não encontraram diferenças entre o número total de  
308 estruturas viáveis por coleta de camundongas superovuladas e suplementadas  
309 com geleia real, sendo encontradas 15,6; 20,2 e 17,8 estruturas viáveis para os  
310 animais do grupo controle e suplementados com 0,5 e 1,0 mg de geleia real,  
311 respectivamente.

312

313 Andreazzi et al. (2006) encontraram em sua pesquisa com coelhas  
314 superovuladas, número de embriões degenerados de 0,2±0,9, para o grupo  
315 suplementado com óleo de soja, dados que se assemelha com o presente  
316 trabalho. Enquanto Barbosa et al. (2009) encontraram 8,4±4,3; 9,3±7,3; 5,2±2,4  
317 embriões degenerados para camundongas superovuladas do grupo controle e  
318 suplementadas com 0,5 e 1,0 mg de geleia real, respectivamente. O número de  
319 embriões viáveis também corroboram com os achados de Barbosa et al. (2009).

320

321 Para qualidade morfológica dos embriões viáveis, Barbosa et al. (2009) também  
322 não encontraram diferenças para embriões Grau I, II e III, com valores de 9,25;  
323 2,75; 3,62 (Grupo controle), de 10,69; 3,92; 5,61 (0,5mg de geleia real) e de  
324 10,22; 2,77 e 4,88 (1,0 mg de geleia real).

325

## 326 **Conclusão**

327

328 A suplementação de geleia real *in natura*, administrada por um período de 11  
329 meses, nas doses de 10, 20 e 40mg/dia, não apresenta ação estimuladora sobre  
330 os órgãos relacionados com a reprodução de coelhas, nem foi eficiente em  
331 melhorar a resposta superovulatória e a qualidade embrionária das mesmas.

332 **Referências**

333

334 Andreazzi, M.A., Rigolon, L.P., Cavalieri, F.L.B., Scapinello, C., Moraes, G.V.,  
335 Faria, H.G., 2006. Superovulação em coelhas alimentadas com ração, contendo  
336 diferentes fontes de óleos vegetais. Acta Scientiarum. Animal Sciences. v.28,  
337 p.295-300.

338

339 Barbosa, L.P., Rodrigues, M.V., Balarini, M.K., Neves, M.M., Melo, B.E.S., Moraes,  
340 D.B., 2009. Qualidade embrionária de camundongos (*Mus musculus*)  
341 suplementados com geleia real. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal.  
342 v.10, p.146-152.

343

344 Boiti, C., Canali, C., MONACI, M., Stradaiol, I G., Verini Supplizi, A., Vacca, C.,  
345 Castellini, C., Facchin, E., 1996. Effect of postpartum progesterone levels on  
346 receptivity ovarian response, embryo quality and development in rabbits. In:  
347 World Congress Of Animal Feeding, 6., 1996, Toulouse. Proceedings...Toulouse:  
348 ACAF,. p. 45-49.

349

350 Elnagar, S.A., 2010. Royal jelly counteracts bucks “summer infertility” Animal  
351 Reproduction Science. v. 121, p. 174-180.

352

353 Elnagar, S.A., Elghalid, O.A., Abd-Elhady, M.A., 2010. Royal jelly: can it reduce  
354 physiological strain of growing rabbits under Egyptian summer conditions? The  
355 Animal Consortium. v. 4, p. 1547-1552.

356

357 Hidaka, S., Okamoto, Y., Uchiyama, S., Nakatsuma, A., Hashimoto, K., Ohnishi,  
358 S.T., Yamaguchi, M., 2006. Royal jelly prevents osteoposis in rats: Beneficial  
359 effects in ovariectomy model and in bone tissue culture model. eCAM, v. 3, p.339-  
360 348.

361

362 Husein, M.Q., Kridli, R.T., Humphrey, W.D., 1999. Effect of royal jelly on estrus  
363 synchronization and pregnancy rate of ewes using flourogestone acetate sponges.  
364 Journal Animal Science. v. 77 (Suppl. 1), p. 431.

365

- 366 Husein, M.Q., Haddad, S.G., 2006. A new approach to enhance reproductive  
367 performance in sheep using royal jelly in comparison with equine chorionic  
368 gonadotropin. *Animal. Reproduction. Science.*, v.93, p.24-33.  
369
- 370 Kamakura, M.; Fukuda, T.; Fukushima, M.; Yonekura, M., 2001, "Storage-  
371 dependent degradation of 57-kDa protein in Royal Jelly: a Possible Marker for  
372 Freshness". 2001.*Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, Vol.65, pp.277-  
373 284.  
374
- 375 Khattab, M.M., Radwan, A.A., Afifi, E.A., 1989. Physiological effect of royal jelly on  
376 female reproductive capacity in rabbits. *Proceedings of the 4th International  
377 Conference on Apiculture Tropical Climates*, 6–10 November, Cairo, Egypt.  
378
- 379 Kridli, R.T., Al-Khetib, S.S., 2006. Reproductive responses in ewe treated with  
380 eCG or increasing doses of royal jelly. *Animal Reproduction science*. v. 92, p.75-  
381 85.  
382
- 383 Kridli, R.T., Husein, M.Q., Humphrey, W.D., 2003. Effect of royal jelly and GnRH  
384 on the estrus synchronization and pregnancy rate in ewes using intravaginal  
385 sponges. *Small Ruminant. Research*. v. 49, p. 25–30.  
386
- 387 Lercker, G., Capella, P., Conte, L.S., Ruini, F., Giordani, G., 1982. Components of  
388 royal jelly II. The lipid fraction, hydrocarbons and sterols. *Journal of apicultural  
389 research*. v.21, p.178-184.  
390
- 391 Mishima, S., Suzuki, K.M., Isohama, Y., Kuratsu, N., Araki, Y., Inoue, M., 2005.  
392 Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *Journal Ethnopharmacol*. v.  
393 101. p. 215–20.  
394
- 395 Ohashi, K., Natori, S., Kubo, T., 1997. Change in the mode of gene expression of  
396 the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the worker  
397 honeybee *Apis mellifera* L. *Journal of Biochemistry*. v. 249, p. 797-802.  
398
- 399 SAS INSTITUTE. SAS/STAT® user's guide. Versão 9.1.3. Cary: 2004. (CD-ROM).  
400

- 401 Stringfellow, D.A., Givens, M.D, 2010. Manual da Sociedade Internacional de  
402 Transferência de Embriões (IETS). 4. ed.  
403
- 404 Suzuki, K.M., Isohama, Y., Maruyama, H., Yamada, Y., Narita, Y., Ohta, S., Araki,  
405 Y., Miyata, T., Mishima, S., 2008. Estrogenic activities of fatty acids and a sterol  
406 isolated from Royal jelly. Evidence-based complementary and alternative  
407 medicine: eCAM. v. 5, p. 295-302.

## CAPÍTULO 2

### **PERFIL METABÓLICO DE COELHAS (*Oryctolagus cuniculus*) SUPEROVULADAS E SUPLEMENTADAS COM GELEIA REAL *IN NATURA*<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup> Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia)

1 **Perfil metabólico de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) superovuladas e**  
2 **suplementadas com geleia real *in natura***

3  
4 Metabolic profile of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) supplemented with *in natura*  
5 royal jelly

6  
7 Dutra<sup>1</sup>, P.A.; Barbosa<sup>1\*</sup>, L.P.; Santana<sup>1</sup>, A.L.A.; Mendes<sup>1</sup>, C.S.; Souza<sup>1</sup>, L.L.;  
8 Silva<sup>1</sup>, M.A.A.; Pinheiro<sup>1</sup>, A.M

9 <sup>1</sup>Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas BA.

10 \*Rua Rui Barbosa, 710 – Centro – Cruz das Almas/BA – 44.380-000. Telefone:  
11 (71) 9192 1177. larissa@ufrb.edu.br

12  
13 **RESUMO**

14 Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com geleia real *in natura* sobre  
15 o perfil metabólico de coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) adultas superovuladas.  
16 Foram utilizadas 36 coelhas distribuídas aleatoriamente em quatro grupos,  
17 sendo: Grupo 1 (n=9): sem suplementação com geleia real; Grupo 2, 3 e 4  
18 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40mg/dia de geleia real *in natura*, via oral.  
19 A suplementação com geleia real foi iniciada após o desmame das fêmeas com  
20 30 dias de idade, diariamente, até o segundo parto, totalizando 11 meses. As  
21 fêmeas foram eutanasiadas 30 dias após o segundo parto, tendo o sangue  
22 coletado sempre pela manhã com os animais em jejum imediatamente após a  
23 eutanásia, em tubos a vácuo contendo anticoagulante EDTA e fluoreto de  
24 sódio. Foram determinadas as concentrações plasmáticas, pelo método de  
25 colorimetria, de glicose, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL),  
26 lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade  
27 (VLDL), triglicerídeos, uréia e creatinina. A suplementação com geleia real,  
28 independente das doses utilizadas, não influenciou (P>0,05) as concentrações  
29 plasmáticas dos metabólitos avaliados. A concentração de glicose apresentou-  
30 se acima dos valores de referência, com 132,1; 145,8; 154,1 e 141,9 mg/dL,  
31 para os grupos que receberam 0, 10, 20 e 40mg de geleia real,  
32 respectivamente. O lipidograma apresentou concentrações dentro dos valores

33 de referência para a espécie cunícula. As concentrações plasmáticas de uréia  
34 e creatinina apresentaram valores normais com médias de  $32,5 \pm 1,32$  e  $1,30 \pm$   
35  $0,16$  respectivamente. A suplementação prolongada de até 40mg de geleia real  
36 *in natura* não altera o perfil de glicose, lipídico e não promove alteração na  
37 atividade renal de coelhas adultas.

38

39 **Palavras-chave:** coelho, função renal, lipidograma

40

41

### ABSTRACT

42 The purpose of this paper was to assess the effect of chronic supplementation  
43 of *in natura* royal jelly on the metabolic profile of adult rabbits (*Oryctolagus*  
44 *cuniculus*). We used 36 rabbits distributed at random in four groups as it  
45 follows: Group 1 (n=9): no supplementation with royal jelly; Groups 2, 3 and 4  
46 (n=9): supplementation with 10, 20 and 40 mg/day of *in natura* royal jelly, orally.  
47 The supplementation with royal jelly started when breastfeeding period had  
48 finished, 30 days old, daily, until the second delivery, making a total of 11  
49 months. The females were euthanasiated 30 days after the second delivery,  
50 blood being always collected in the morning with animals going without eating  
51 immediately after euthanasia, in vacuum tubes with anti-coagulant EDTA and  
52 sodium fluoride. By the method of colorimetry, we could determine  
53 concentrations of plasma, glucose, total cholesterol, high density lipoprotein,  
54 low density lipoprotein, very low density lipoprotein, triglycerides, urea and  
55 creatinine. The supplementation with royal jelly, regardless of the dosages  
56 used, did not influence ( $P>0,05$ ) the plasma concentrations of metabolites  
57 assessed. The concentration of glucose was over reference values, with 132.1;  
58 145.8; 154.1 and 141.9 mg/dL for the groups that received 0, 10, 20 and 40 mg  
59 of royal jelly, respectively. The lipid profile presented concentrations according  
60 to the reference values for the *cuniculus* species. Plasma concentrations of  
61 urea and creatinine values were normal with a mean of  $32.5 \pm 1.32$  and  $1.30 \pm$   
62  $0,16$  respectively. The longer supplementation of up to 40 mg of *in natura* royal  
63 jelly does not alter lipidic and glucose profiles, and does not change kidney  
64 function in adult rabbits.

65

66 **Key words:** function kidney, lipid profile, rabbit

67

68

## INTRODUÇÃO

69

70 A geleia real é secretada pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares das  
71 abelhas operárias (Nagai & Inoue, 2004), esse produto da colméia é o principal  
72 alimento da abelha rainha, desde seu estágio larval, sendo fundamental para a  
73 diferenciação de características exclusivas, como o aumento da massa  
74 corporal, longevidade e desenvolvimento de estruturas relacionadas à  
75 reprodução (Ohashi et al., 1997).

76

77 Devido aos benefícios da geleia real sobre a abelha rainha, surgiu o interesse  
78 em estudar o seu efeito em seres humanos e em modelos experimentais,  
79 inicialmente, por meio de ensaios biológicos em animais experimentais, como  
80 os coelhos (Elnagar et al., 2010) e camundongos (Barbosa et al., 2009).

81

82 Esse produto da apicultura vem sendo difundido e utilizado como um alimento  
83 funcional, devido a sua ampla variedade de atividades farmacológicas. Dentre  
84 elas, pode destacar-se a atividade vasodilatadora e hipotensora (Tokunaga et  
85 al., 2004), anti-oxidante (Nagai & Inoue, 2004), antiinflamatória (Kohno et al.,  
86 2004), anti-fadiga (Kamahura et al., 2001), anti-bacteriana (Fujiwara et al.,  
87 1990), cicatrizante (Fuji et al., 1990) e modulação de respostas imunes  
88 (Okamoto et al., 2003).

89

90 O estudo de possíveis alterações bioquímicas, por meio de mensurações dos  
91 metabólitos sanguíneos, é importante para identificar as modificações  
92 causadas pela suplementação com geleia real, para avaliar prováveis lesões  
93 teciduais e perturbações no funcionamento de órgãos.

94

95 Além disso, é importante o estudo do perfil lipídico de animais usados para  
96 reprodução, uma vez que o colesterol apresenta uma participação importante

97 na reprodução, pois é o precursor da secreção dos hormônios esteróides,  
98 sendo que a HDL e a LDL fornecem colesterol aos tecidos ovarianos para  
99 sínteses desses hormônios (Grummer & Carrol, 1991; Knobil & Neill, 1994).

100

101 Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com geleia real *in*  
102 *natura* no perfil metabólico de coelhas adultas (*Oryctolagus cuniculus*).

103

104

## MATERIAL E MÉTODOS

105

106 O experimento foi realizado no Setor de Cunicultura do Centro de Ciências  
107 Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da  
108 Bahia (UFRB), em Cruz das Almas – BA, no período de agosto de 2009 a junho  
109 de 2010. A cidade de Cruz das Almas encontra-se a 200m acima do nível do  
110 mar, apresenta clima tropical quente e úmido, segundo a classificação de  
111 köppen, com pluviosidade média anual de 1.224 mm, com maior incidência de  
112 chuvas no período compreendido entre março e junho. A umidade relativa do ar  
113 é de aproximadamente 80% e a temperatura média anual é de 24,5°C.

114

115 Foram utilizadas 36 coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) das raças Califórnia e  
116 Nova Zelândia, selecionadas na desmama com 30 dias de idade. Os animais  
117 foram mantidos em gaiolas suspensas de arame galvanizado, providas de  
118 comedouros e bebedouros, recebendo água, ração comercial (Primor®, BA-  
119 Brasil) (Composição básica da ração: farelo de trigo, milho, farelo de soja,  
120 casca de arroz, calcário moído, premix vitamínico mineral, cloreto de sódio) e  
121 rami (*Boehmeria nivea*) *ad libitum*.

122

123 As fêmeas foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos (G), sendo: G1  
124 (n=9): sem suplementação com geleia real (grupo controle); G2 (n=9), G3 (n=9)  
125 e G4 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40mg/dia de geleia real *in natura*  
126 diluída, a geleia real era comercial (Cia do Mel®, Ba - Brasil) (Tabela 1). A  
127 geleia real foi diluída previamente em água destilada, armazenada em

128 microtubos de polietileno graduado e estocada em freezer a -20°C (Kamakura  
129 et al., 2001).

130

131 Tabela 1. Composição bromatológica da geleia real

Ingredientes	Valores em percentuais (%)
Água	60
Proteína	12-18
Carboidratos	13-25
Lipídeos	5
Vitaminas (B1, 2, 3, 5, 6, 8, 9,12, A, C, D, E e Hormônios sexuais)	3
Sais minerais (Mg, Fe, S, Zn, Cu, Mn)	1

132 Geleia real *in natura* (Cia do Mel®, Ba - Brasil).

133

134 A geleia real foi administrada por via oral, com o auxílio de uma seringa  
135 desprovida de agulha. Os animais do grupo sem suplementação com geleia  
136 real receberam água por via oral, os animais não foram contidos para realizar a  
137 suplementação.

138

139 A suplementação foi iniciada 24 horas após o desmame das fêmeas com 30  
140 dias de idade, diariamente, sempre ao amanhecer, até a desmama do segundo  
141 parto, totalizando um período de 11 meses consecutivos. Após 30 dias do  
142 segundo parto, as fêmeas foram submetidas à superovulação e a cobertura  
143 natural. O protocolo superovulatório consistiu na aplicação de uma dose de 40  
144 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG), por via intramuscular (i.m), 24  
145 horas após a desmama e, 48 horas após, as coelhas receberam 40 UI de  
146 gonadotrofina coriônica humana (hCG) i.m e em seguida foram submetidas à  
147 três coberturas, intervaladas por 8 horas.

148

149 A coleta de sangue foi feita pela manhã com os animais em jejum, 30 dias após  
150 o segundo parto, sendo o sangue coletado da veia jugular em dois tubos  
151 vacuolizados, com anticoagulante EDTA e fluoreto de sódio

152

153 Imediatamente após as coletas, as amostras foram encaminhadas ao  
154 laboratório, sendo centrifugadas a 1500 rpm por 15 minutos. O plasma

155 sanguíneo foi armazenado em microtubos de polietileno graduado e  
156 conservado a -20°C, até o momento da realização das análises laboratoriais.

157

158 As amostras de plasma foram submetidas a dosagens em triplicata pelo  
159 método de colorimetria utilizando kits comerciais (Doles®) conforme as  
160 recomendações do fabricante, usando o espectrofotômetro (Femto® 700 plus)  
161 para determinar a concentração plasmática de glicose, colesterol total,  
162 lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL),  
163 lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos, uréia e creatinina.

164

165 As análises estatísticas foram realizadas com a utilização do programa  
166 computacional SAS (2004), utilizando Análise de Variância através do  
167 procedimento GLM, com 5% de probabilidade.

168

169

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

170

171 A suplementação de coelhas com 0, 10, 20 e 40mg de geleia real não  
172 influenciou ( $P>0,05$ ) as concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL,  
173 LDL, VLDL e triglicerídeos (Tabela 2).

174

175 Tabela 2. Perfil lipídico e concentração de glicose de coelhas superovuladas e  
176 suplementadas com geleia real *in natura*

Variáveis (mg/dL)	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)
Glicose	132,1±6,9	145,8±12,4	154,1±22,0	141,9±7,0
Colesterol	88,9±22,0	67,9±10,0	66,4±5,9	75,7±6,2
HDL	35,2±5,5	30,3±2,7	31,6±2,7	30,3±2,5
LDL	41,2±15,4	31,2±8,1	26,7±5,7	37,8±6,2
VLDL	12,5±1,6	7,2±1,9	8,1±1,4	7,4±0,9
Triglicerídeos	62,6±8,2	36,2±9,8	40,6±7,1	37,4±4,9

177 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real;  
178 G3= suplementação com 20mg de geleia real; G4= suplementação com 40mg de geleia real.  
179 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando de Análise de Variância  
180 ( $P>0,05$ ).

181

182 As concentrações plasmáticas de glicose encontradas (Tabela 2) estão acima  
183 dos níveis de referência para a espécie cunícula, segundo Kaneco (1997), de

184 50,0 a 93,2 mg/dL. Elnagar et al. (2010) encontraram aumento significativo na  
185 concentração plasmática de glicose entre os grupos de coelhos submetidos ao  
186 estresse térmico, suplementados com geleia real nas quantidades de 0 (grupo  
187 controle) 200, 400 e 800 mg, com concentrações de  $107,9 \pm 2,21$ ;  $125,6 \pm 1,65$ ;  
188  $134,7 \pm 1,32$  e  $129,9 \pm 7,65$  mg/dL, respectivamente.

189

190 No entanto, Münstedt et al. (2009) avaliaram o efeito da ingestão de 20g de  
191 geleia real sobre o metabolismo de glicose de seres humanos saudáveis por  
192 via oral, com redução de 11,9% da concentração de glicose plasmática,  
193 segundo os mesmos autores isso foi possível devido à atividade semelhante à  
194 insulina presente na geleia real. Portanto os resultados deste estudo fornecem  
195 evidências de que a geleia real contém substâncias que influenciam os níveis  
196 séricos de glicose.

197

198 Os resultados de colesterol total (Tabela 2) estão de acordo com os valores de  
199 referência para espécie em estudo, com amplitude de 5,3 a 71,0 mg/dL  
200 (Kaneco, 1997). Diferindo dos resultados encontrados no presente estudo,  
201 Elnagar et al. (2010) encontraram uma diminuição significativa de colesterol  
202 total em coelhos machos suplementados com 200, 400 e 800 mg de geleia  
203 real, em relação ao grupo controle. Esses resultados corroboram com o estudo  
204 realizado por Al-Mufarrej e El-Sarang (1997), com frangos recebendo 200mg  
205 de geleia real, com redução da concentração plasmática de colesterol total.

206

207 No presente trabalho as frações de colesterol HDL, VDL e VLDL (Tabela 2) não  
208 se alteraram com a suplementação de geleia real, estando de acordo com os  
209 níveis de referência para a espécie cunícula. Como encontrado por Lima et al.  
210 (2010) em coelhos Nova Zelândia, o valor de  $30,75 \pm 11,74$  mg/dL de HDL.

211

212 Os resultados do presente estudo para os níveis séricos de triglicerídeos  
213 (Tabela 2) estão abaixo dos níveis referenciados por Kaneco (1997), de 122,0  
214 mg/dL. Provavelmente por se tratar de animais de outro clima e alimentação.

215

216 Elnagar et al. (2010) descreveram que o tratamento com geleia real para  
 217 coelhos machos submetidos a estresse térmico reduziu significativamente os  
 218 níveis séricos de triglicérides em comparação com o controle, sendo 142,7;  
 219 110,7; 95,19; 111,7 mg/dL para as dosagens de 0 (grupo controle), 200, 400 e  
 220 800mg de geleia real, respectivamente.

221

222 Vittek (1995) também relatou uma redução de lipídeos em ratos, coelhos e  
 223 humanos tratados com geleia real. Da mesma forma, Kanbur et al. (2009)  
 224 observaram em ratos suplementados com 50 mg de geleia real por kg de peso  
 225 corporal, por um período de 7 dias, foi suficiente para alterar os níveis séricos  
 226 de colesterol, triglicérides e glicose.

227

228 Estudos com humanos saudáveis usando 100 mg/dia de geleia real por via  
 229 oral, 15-30 minutos antes do café da manhã durante quatro semanas,  
 230 obtiveram uma diminuição de 10% do nível médio de colesterol sérico e de  
 231 38% de triglicérides (Yildiz & Umudum, 2000), evidenciando uma boa ação do  
 232 efeito da geleia real sobre os níveis séricos de lipídeos.

233

234 O presente estudo diferiu destes autores provavelmente devido às dosagens  
 235 usadas, que foram consideravelmente menores, podendo ter sido insuficientes  
 236 para causar alterações no metabolismo das coelhas superovuladas.

237

238 A utilização de geleia real, nos níveis utilizados, não influenciou ( $P>0,05$ ) as  
 239 concentrações plasmáticas de uréia e creatinina (Tabela 3).

240

241 Tabela 3. Concentrações plasmáticas de uréia e creatinina de coelhas  
 242 suplementadas com geleia real *in natura*

Variáveis (mg/dL)	G1 (0mg)	G2 (10mg)	G3 (20mg)	G4 (40mg)
Uréia	29,2±4,1	35,2±2,5	30,5±1,5	34,3±3,0
Creatinina	1,7±0,2	1,1±0,2	1,3±0,4	1,1±0,1

243 G1= grupo controle, recebendo água destilada; G2= suplementação com 10mg de geleia real;  
 244 G3= suplementação com 20mg de geleia real; G4= suplementação com 40mg de geleia real.  
 245 Não houve diferença significativa entre os tratamentos utilizando Análise de Variância ( $P>0,05$ ).

246

247 As concentrações de uréia e creatinina não se alteraram com a suplementação  
248 de geleia real por 11 meses consecutivos, denotando que não se trata de uma  
249 substancia nociva aos órgãos e tecidos, portanto não influencia negativamente  
250 a função renal, de acordo com os metabólitos estudados.

251

252 Sabe-se que a eliminação excessiva de uréia e creatinina estão relacionadas  
253 às desordens renais. Os níveis séricos de uréia estão acima dos níveis de  
254 referência relatados na literatura por Kaneco. (1997), de  $14,3 \pm 3,0$  mg/dL. No  
255 entanto, estão de acordo com o trabalho de Emanuelli et al. (2008) que  
256 utilizaram 45 animais, sendo três amostras por coelho, totalizando 135  
257 amostras. Com objetivo de estudar os metabólitos de coelhos para gerar níveis  
258 de referência locais e subsidiar dados de animais de laboratório em  
259 experimentos científicos, sendo que a uréia em coelhos variou de 9,24 a 66,06  
260 mg/dL, com média de 36,44 mg/dL, corroborando com Silva et al. (2007) que  
261 encontraram 38,60 mg/dL.

262

263 Os níveis de creatinina deste estudo (Tabela 3) estão de acordo com Kaneco  
264 (1997), que relatou  $1,59 \pm 0,34$  mg/dL de creatinina para a espécie cunícula.  
265 Emanuelli et al. (2008) encontraram níveis séricos médio para creatinina de  
266 0,94/dL, com variação de 0,51 a 1,53mg/dL, resultados similares aos  
267 encontrados por Silva et al. (2007), de 1,17mg/dL.

268

269 Elnagar et al. (2010) encontraram uma redução significativa dos níveis séricos  
270 de creatinina para coelhos submetidos a estresse térmico com suplementação  
271 de geleia real de 0, 200, 400 e 800mg por seis semanas, de  $1,18 \pm 0,07$ ;  $0,93 \pm$   
272  $0,02$ ;  $0,83 \pm 0,04$  e  $0,97 \pm 0,05$  mg/dL, respectivamente. A creatinina mostrou  
273 uma redução de 14, 25 e 18% em relação ao grupo controle, indicando uma  
274 melhora da função renal após quatro semanas de uso de geleia real.

275

276

## CONCLUSÃO

277

278 A suplementação com geleia real nas dosagens utilizadas não alterou o  
279 metabolismo dos animais experimentais. Provavelmente a quantidade de geleia  
280 real foi insuficiente para causar alterações na glicemia e perfil sérico de lipídios  
281 estudados e o seu uso crônico não causou danos na função renal de coelhas  
282 superovuladas nas dosagens de até 40mg de geleia real *in natura*.

283

284

## REFERÊNCIAS

285

286 AL-MUFARREJ, S.I.; EL-SARAG, M.S.A. Effects of royal jelly on the humoral  
287 antibody response and blood chemistry of chickens. *J. Appl. Anim. Res.* v.12,  
288 p.41-47, 1997.

289

290 BARBOSA, L.P.; RODRIGUES, M.V.; BALARINI, M.K. et al. Qualidade  
291 embrionária de camundongos (*Mus musculus*) suplementados com geleia real.  
292 *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, v.10, p.146-152, 2009.

293

294 ELNAGAR, S.A. Royal jelly counteracts bucks "summer infertility" *Anim.*  
295 *Reprod. Sci.* v. 121, p. 174-180, 2010.

296

297 ELNAGAR, S.A.; ELGHALID, O.A.; ABD-ELHADY, M.A. Royal jelly: can it  
298 reduce physiological strain of growing rabbits under Egyptian summer  
299 conditions? *Ani. Consort.* v. 4, p. 1547-1552, 2010.

300

301 EMANUELLI, M.P.; LOPES, S.T.A.; MARCIEL, R.M. et al. Concentração sérica  
302 de fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, uréia e creatinina em coelhos  
303 (*Oryctolagus cuniculus*). *Ci. Anim. Bra.* v. 9, p. 251-255, 2008.

304

305 FUJI, A.; KOBAYASHI, S.; KUBOYAMA, N. et al. Augmentation of wound healing  
306 by royal jelly in streptozotocin-diabetic rats. *Jpn. Pharmacol.* v. 53, p. 331-337,  
307 1990.

308

- 309 FUJIWARA, S.; IMAI, J.; FUJIWARA, M. et al., A Potent Antibacterial Protein in  
310 Royal Jelly. *J. Biol. Chem.* v. 265, p. 11333-11337, 1990.  
311
- 312 GRUMMER, R. R.; CARROL, D. J. Effects of dietary fat on metabolic disorders  
313 and reproductive performance of dairy cattle. *J Anim Sci*, v. 77, p. 1876-1884,  
314 1991.  
315
- 316 KAMAKURA, M.; MITANI, N.; FUKUDA, T. et al. M. Antifatigue effect of fresh  
317 royal jelly in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* v. 47, p. 394-401. 2001.  
318
- 319 KANBUR, M.; ERASLAN,G.; SILICI, S. et al. Effects of sodium fluoride  
320 exposure on some biochemical parameters in mice: Evaluation of the  
321 ameliorative effect of royal jelly applications on these parameters.  
322 *Food Chem. Toxicol.* v. 47, p. 1184-1189, 2009.  
323
- 324 KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. Clinical biochemistry of domestic  
325 animals. 5.ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.  
326
- 327 KNOBIL, E.; NEILL, J. D. The Physiology of Reproduction. 2. ed. New York:  
328 Raven Press, p. 571-628, 1994.  
329
- 330 KOHNO, K.; OKAMOTO, I.; SANO, O. et al. Royal jelly inhibits the production of  
331 proinflammatory cytokines by activated macrophages. *Biosci.Biotechnol.*  
332 *Biochim.* v. 68, p. 138-145, 2004.  
333
- 334 LIMA, L.R.P.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. et al Efeito de flavonóides e de  
335 corantes do urucum sobre a hiperlipidemia induzida em coelhos. *RBAC*, v.42,  
336 p. 69-74, 2010.  
337
- 338 MÜNSTEDT, K.; BARGELLO, M.; HAUENSCHILD, A. Royal jelly reduces the  
339 serum glucose levels in healthy subjects. *J Med Food.* v. 12, p. 1170-1172,  
340 2009.  
341

- 342 NAGAI, T.; INOUE, R. Preparation and the functional properties of water and  
343 alkaline extract of royal jelly. *Food Chem.* v. 84, p.181–186. 2004.  
344
- 345 OHASHI, K.; NATORI, S.; KUBO, T. Change in the mode of gene expression of  
346 the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the  
347 worker honeybee *Apis mellifera* L. *Eur. J. Biochem.* v. 249, p. 797-802, 1997.  
348
- 349 OKAMOTO, I.; TANIGUCHI, Y.; KUNIKATA, T. et al. Major royal Jelly protein 3  
350 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sci.* v. 73, p. 2029-  
351 2045, 2003.  
352
- 353 SAS INSTITUTE. SAS/STAT® user's guide. Versão 9.1.3. Cary: 2004. (CD-  
354 ROM).  
355
- 356 SILVA, A.S.; COSTA, M.M.; CARGNELUTTI, J.F. et al. Alterações bioquímicas  
357 em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. *Rev Bras*  
358 *Parasitol Vet.* v. 16, p.43-46, 2007.  
359
- 360 TOKUNGA, K.H.; YOSHIDA, C.; SUZUKI, K.M. et al. Antihypertensive effect of  
361 peptides from royal jelly in spontaneously hypertensive rats. *Biol. Pharm. Bull.* v.  
362 27, p. 189-192, 2004.  
363
- 364 VITTEK, J. Effect of Royal Jelly on serum lipids in experimental animals and  
365 humans with atherosclerosis. *Birkhauser Verlag Basel.* v. 51, p. 927-935, 1995.  
366
- 367 YILDIZ, L.; UMUDUM, Z. The effect of Royal Jelly on serum cholesterol and  
368 triglyceride levels. *T Klin J Med Sci.* v. 20, p. 261-263, 2000

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação crônica de geleia real *in natura*, nas doses de 10, 20 e 40mg/dia, não promove alteração no desenvolvimento dos órgãos relacionados com a reprodução de coelhas, nem foi eficiente em melhorar a resposta superovulatória e a qualidade embrionária das mesmas.

A suplementação crônica de geleia real *in natura*, nas doses de 10, 20 e 40mg/dia, não promove alterações na glicemia, no metabolismo lipídico e na função real de coelhas.