

Perfil metabólico de coelhas superovuladas e suplementadas com geleia real *in natura*

Metabolic profile of rabbits superovulated and supplemented with royal jelly *in natura*

Patrícia A. Dutra, Larissa P. Barbosa*, Ana Lúcia A. Santana, Claudinéia S. Mendes, Lígia L. Souza, Mariana A. A. Silva, Alexandre M. Pinheiro e Mérole S. F. da Silva

Resumo

Objetivou-se avaliar o efeito da suplementação com geleia real *in natura* no perfil metabólico de coelhas adultas superovuladas. Foram utilizadas 36 coelhas distribuídas em quatro grupos, sendo: Grupo 1 sem suplementação com geleia real; Grupo 2, 3 e 4: suplementação com 10, 20 e 40mg/dia de geleia real, via oral, durante 11 meses. As fêmeas foram eutanasiadas no dia da coleta dos embriões, tendo o sangue coletado sempre pela manhã com os animais em jejum imediatamente após a eutanásia. Foram determinadas as concentrações plasmáticas, pelo método de colorimetria, de glicose,

colesterol total, lipoproteína de alta densidade, lipoproteína de baixa densidade, lipoproteína de muito baixa densidade, triglicerídeos, uréia e creatinina. A suplementação com geleia real não influenciou as concentrações plasmáticas dos metabólitos avaliados. A concentração de glicose apresentou-se acima dos valores de referência, com 132,1; 145,8; 154,1 e 141,9mg/dL, para os grupos que receberam 0, 10, 20 e 40mg de geleia real, respectivamente. O lipidograma apresentou concentrações dentro dos valores de referência para a espécie cunícula. As concentrações plasmáticas de uréia e creatinina

apresentaram valores normais. A suplementação prolongada de até 40mg de geleia real *in natura* não altera o perfil de glicose, lipídico e de uréia e creatinina de coelhas.

Palavras-chave: função renal; lipidograma; *Oryctolagus cuniculus*

Abstract

The purpose of this paper was to assess the effect of supplementation of royal jelly on the metabolic profile of rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). 36 rabbits were distributed at random in four groups as it follows: Group 1 no supplementation with royal jelly; Groups 2, 3 and 4: supplementation with 10, 20 and 40 mg/day of *in natura* royal jelly, orally. The females were euthanasiated 30 days after the second delivery, blood being always collected in the morning with animals going without eating immediately after euthanasia. By the method of colorimetry, we could determine concentrations of plasma, glucose,

total cholesterol, high density lipoprotein, low density lipoprotein, very low density lipoprotein, triglycerides, urea and creatinine. The supplementation with royal jelly did not influence the plasma concentrations of metabolites assessed. The concentration of glucose was over reference values, with 132.1, 145.8, 154.1 and 141.9mg/dL for the groups that received 0, 10, 20 and 40 mg of royal jelly, respectively. The lipid profile, urea and creatinine presented concentrations according to the reference values for the *cuniculus* species. The longer supplementation of up to 40mg of *in natura* royal jelly does not alter lipidic and glucose profiles and does not change the concentrations of urea e creatinine in adult rabbits.

Key words: kidney function; lipid profile; *Oryctolagus cuniculus*

Introdução

A geleia real é secretada pelas glândulas hipofaríngeas e mandibulares das abelhas operárias (HASSAN & KHATER, 2006) e é o principal alimento da abelha rainha, desde seu estágio larval, sendo fundamental para a diferenciação de características exclusivas, como o aumento da massa corporal, longevidade e desenvolvimento de estruturas relacionadas à reprodução (VAN TOOR, 2006; BROCKMANN et al., 2006)

Esse produto da apicultura vem sendo difundido e utilizado como um alimento funcional, devido a sua atividade farmacológica. Dentre estas, pode destacar-se a atividade antibacteriana, anti-inflamatória, atividades vasodilatadoras e hipotensores, ação desinfetante, atividade antioxidante e atividade anti-tumoral. Todas estas atividades são atribuídas em particular ao conteúdo lipídico e proteico com a presença de ácido-10-hidroxi-2-

decenóico (10-HDA) e proteínas de alto peso molecular (LOPES, 2014).

O estudo de possíveis alterações bioquímicas por meio de mensurações dos metabólitos sanguíneos é importante para identificar as modificações causadas pela suplementação com geleia real, para avaliar prováveis lesões teciduais e alterações no funcionamento de órgãos. Além disso, deve-se estudar do perfil lipídico de animais usados para reprodução, uma vez que, o colesterol apresenta participação importante na reprodução, pois é o precursor da síntese dos hormônios esteróides, sendo a lipoproteína de alta densidade (HDL) e a lipoproteína de baixa densidade (LDL) que fornecem colesterol aos tecidos ovarianos para sínteses desses hormônios (GRUMMER & CARROL, 1991).

Desta forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação alimentar com geleia real *in natura* no perfil metabólico de coelhas das raças Califórnia e Nova

Zelândia adultas superovuladas (*Oryctolagus cuniculus*).

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Setor de Cunicultura do Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Campus de Cruz das Almas/BA, de acordo com o regulamento aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais-UFRB (Protocolo: 23007.009811/2011-72).

Foram utilizadas 36 coelhas (*Oryctolagus cuniculus*) das raças Califórnia e Nova Zelândia, selecionadas na desmama com 30 dias de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas suspensas de arame galvanizado, providas de comedouros e bebedouros, recebendo água, ração comercial² e rami (*Boehmeria nivea*) *ad libitum*.

As fêmeas foram distribuídas em delineamento em blocos casualizados em quatro grupos (G), sendo: G1 (n=9): sem suplementação com geleia real (grupo

controle); G2 (n=9), G3 (n=9) e G4 (n=9): suplementação com 10, 20 e 40mg/dia de geleia real¹ *in natura* na (Tab. 1), sendo a raça considerada como fator de blocagem. A geleia real foi diluída previamente em água destilada, armazenada em microtubos de polietileno graduado e estocada em freezer a -20°C.

A geleia real foi administrada por via oral com o auxílio de seringa desprovida de agulha, diariamente, sempre ao amanhecer, dos 31 dias de vida até a desmama do segundo parto, totalizando um período de 11 meses consecutivos. Os animais do grupo sem suplementação com geleia real receberam água por via oral e não foram contidos para realizar a suplementação.

Após 30 dias do segundo parto, as fêmeas foram submetidas à superovulação e a cobertura natural. O protocolo superovulatório consistiu na aplicação de uma dose de 40 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) 24 horas após a desmama e 40 UI de gonadotrofina coriônica humana (hCG)

48 horas após, por via intramuscular (IM) e em seguida as fêmeas foram submetidas à três coberturas, intervaladas por 8 horas.

Após as coberturas realizou-se a coleta de sangue pela manhã com os animais em jejum, sendo o sangue coletado da veia jugular em dois tubos vacuolizados, com anticoagulante ácido etileno-diamino-tetracético (EDTA) e fluoreto de sódio. Imediatamente após as coletas, as amostras foram encaminhadas ao laboratório e centrifugado a 2700 X *g* por 15 minutos em temperatura ambiente. O plasma sanguíneo foi armazenado em microtubos de polietileno graduado e conservado a -20°C, até o momento da realização das análises laboratoriais.

As amostras de plasma foram submetidas a dosagens da concentração de glicose, colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), triglicerídeos, uréia e creatinina. As

dosagens foram realizadas em triplicata pelo método de colorimetria utilizando kits comerciais³ conforme as recomendações do fabricante, usando o espectrofotômetro (Femto® 700 plus).

Os dados foram submetidos a análise de variância através do procedimento GLM, com 5% de probabilidade.

Resultados

A suplementação de coelhas com 10, 20 e 40mg de geleia real não influenciou ($P>0,05$) nas concentrações séricas de glicose, colesterol total, HDL, LDL, VLDL e triglicerídeos quando comparados com o controle (0mg) (Tab. 2).

A utilização de geleia real, não influenciou ($P>0,05$) nas concentrações plasmáticas de uréia e creatinina quando comparados com o controle, detalhadas na (Tab. 3).

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

Geleia real *in natura* (Cia do Mel[®], BA, Brasil).

Tabela 2. Perfil lipídico e concentração de glicose de coelhas superovuladas e 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±59	75,7±6,2
HDL	35,2±5,5	30,3±2,7	31,6±27	30,3±2,5
LDL	41,2±15,4	31,2±8,1	26,7±57	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±71	37,4±4,9

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

Tabela 3. Concentrações plasmáticas de uréia e creatinina de coelhas superovuladas e 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

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

Discussão

As concentrações plasmáticas de glicose encontradas nos quatro grupos demonstradas na Tab. 2 estão acima dos níveis de referência para a espécie cunícula, segundo KANEKO et al. (1997), de 50,0 - 93,2mg/dL. As referências das concentrações plasmáticas dos metabolitos sanguíneos que consultamos são oriundas de outros países com diferentes características edafoclimáticas e dietas. No entanto, MÜNSTEDT et al. (2009) avaliaram o efeito da ingestão de 20g de geleia real sobre o metabolismo de glicose em seres humanos saudáveis e obtiveram redução de 11,9% na concentração de glicose plasmática, segundo os mesmos autores isso foi possível devido à atividade semelhante à insulina presente na geleia real. No presente trabalho o controle também está acima da referência para a espécie, portanto deduzimos que a geleia real pode ser utilizada sem causar alterações

nas concentrações plasmáticas de glicose.

Não houve diferença nos resultados de colesterol total (Tab. 2) estão de acordo com os valores de referência para espécie em estudo, com amplitude de 5,3 a 71,0 mg/dL (KANEKO et al., 1997). Diferindo dos resultados encontrados no presente estudo, ELNAGAR et al. (2010) encontraram uma diminuição significativa de colesterol total em coelhos machos suplementados com 200, 400 e 800 mg de geleia real, em relação ao grupo controle.

No presente trabalho as frações de colesterol HDL, VDL e VLDL encontradas na Tab. 2 não se alteraram com a suplementação de geleia real e estão de acordo com os níveis de referência para a espécie cunícula. Já os resultados para os níveis séricos de triglicerídeos estão abaixo dos níveis referenciados por KANEKO et al. (1997), de 122,0mg/dL, denotando a variabilidade de resultados encontrados na literatura.

ELNAGAR et al. (2010) descreveram que o tratamento com geleia real para coelhos machos submetidos a estresse térmico reduziu significativamente os níveis séricos de triglicerídeos em comparação com o controle.

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

Estudos com humanos saudáveis usando 100mg/dia de geleia real por via oral, 15-30 minutos antes do café da manhã durante quatro semanas, obtiveram uma diminuição de 10% do nível médio de colesterol sérico e de 38% de triglicérides (YILDIZ & UMUDUM, 2000), evidenciando uma boa ação do

efeito da geleia real sobre os níveis séricos de lipídeos.

O presente estudo diferiu da literatura pesquisada, certamente, devido às dosagens usadas, que foram consideravelmente menores, podendo ter sido insuficientes para causar alterações no metabolismo das coelhas superovuladas.

Sabe-se que a eliminação excessiva de uréia e creatinina estão relacionadas com as desordens renais. Os níveis séricos de uréia estão acima dos níveis de referência relatados na literatura por KANEKO et al. (1997), de $14,3 \pm 3,0$ mg/dL. No entanto, estão de acordo com o trabalho de EMANUELLI et al. (2008) que utilizaram 45 animais, sendo três amostras por coelho, totalizando 135 amostras, cujo objetivo foi estudar os metabolitos de coelhos para gerar níveis de referência locais e subsidiar dados de animais de laboratório em experimentos científicos, e os mesmos descreveram valor médio para uréia em coelhos de 36,44mg/dL,

corroborando com SILVA et al. (2007) que encontraram 38,60mg/dL.

Os níveis de creatinina deste estudo conforme elucidado na Tab. 3 estão de acordo com KANEKO et al. (1997), que relatou $1,59 \pm 0,34$ mg/dL de creatinina para a espécie cunícula. EMANUELLI et al. (2008) encontraram níveis séricos médio para creatinina de 0,94/dL, com variação de 0,51 a 1,53mg/dL, resultados similares aos encontrados por SILVA et al. (2007).

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

Portanto, a suplementação de geleia real nos níveis discutidos não trouxeram diferença para os metabolitos sanguíneos estudados derrubando a hipótese de que poderia diminuir os níveis sanguíneos de lipídeos.

Conclusão

A suplementação prolongada de até 40mg de geleia real pode ser utilizada sem causar riscos à saúde de coelhas de acordo com os metabólitos dosados.

Fonte de aquisição

¹ Cia do Mel®, Feira de Santana, Brasil

² Primor®, Belo Horizonte, Brasil

³ Doles®, Goiânia, Brasil

Referências

BROCKMANN, A. et al. Beyond 9-ODA: sex pheromone communication in the european honey bee *Apis mellifera* L. **Journal Chemical Ecology**. v.32, n.3, 2006.

ELNAGAR, S.A. et al. Royal jelly: can it reduce physiological strain of growing rabbits under Egyptian summer conditions? **Animal Consort**, v.4, p.1547-1552, n.3, 2010.

EMANUELLI, M.P. et al. Concentração sérica de fosfatase alcalina, gama-glutamil transferase, uréia e creatinina em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*). **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.251-255, 2008.

GRUMMER, R.R. & CARROL, D.J. Effects of dietary fat on metabolic disorders and reproductive performance of dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 69, n.9, p.3838-3852, 1991.

HASSAN, R.E.; KHATER, A.M. Influence of pollen substitutes on longevity and hypopharyngeal glands of caged honey bee workers (*Apis mellifera* L.). **Mansoura University Journal of Agricultural Science**, v.31, n.1, p.419-427, 2006

KANBUR, M. et al. Effects of sodium fluoride exposure on some biochemical parameters in mice: Evaluation of the ameliorative effect of royal jelly applications on these parameters. **Food Chemical Toxicology**, v.47, n.6, p.1184-1189, 2009.

KANEKO, J.J. et al. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5th ed. Academic Press: San Diego, 932p, 1997.

LOPES, C.L.A.V. **Otimização das condições de produção da Geleia Real e avaliação de parâmetros da qualidade do produto final**. 2014. 59f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia da Ciência Animal) – Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, PT, 2014.

MÜNSTEDT, K. et al. Royal jelly reduces the serum glucose levels in healthy subjects. **Journal of Medicinal Food**, v.12, n.5, p.1170-1172, 2009.

SILVA, A.S. et al. Alterações bioquímicas em coelhos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma evansi*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.1, p.43-46, 2007.

VITTEK. J. Effect of Royal Jelly on Serum Lipids in Experimental Animals

and Humans with Atherosclerosis. **Experientia**, v.51, n.9, p.927-935, 1995.

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