



Journal homepage:  
[www.arvore.org.br/seer](http://www.arvore.org.br/seer)

## APITOXINA: COLETA, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES BIOLÓGICAS E ATIVIDADES TERAPÊUTICAS

### RESUMO

A apitoxina é o veneno produzido pelas abelhas do gênero *Apis*, com objetivo de proteger a colônia contra a extensa variedade de predadores, que vão desde outros artrópodes a vertebrados, e consiste numa mistura complexa de enzimas, peptídeos e aminoácidos, além de pequenas quantidades de carboidratos e lipídios. Tanto a apitoxina, quanto seus compostos bioativos, apresentam diversificada eficácia biológica *in vitro* e *in vivo* contra uma variedade de doenças. A terapia com apitoxina tem sido utilizada na Medicina tradicional chinesa, bem como na antiga Grécia e Egito, há milhares de anos, para o tratamento da artrite, reumatismo e outras doenças autoimunes, bem como contra neoplasias, doenças de pele, dor e infecções e mais recentemente contra alguns tipos de câncer. Sua composição desperta o interesse da comunidade científica desde o século XIX, e na década de 80 já estimava-se a importância deste possível agente terapêutico na medicina ocidental. Hoje, vem sendo utilizado em uma ampla gama de fármacos, e a sua utilização do veneno de abelha no cenário atual, tem se configurado como uma proposta diferenciada de produto a ser extraído da apicultura e com grande visibilidade no mercado. Na Europa e em alguns mercados globais já existem fórmulas farmacêuticas registradas com o veneno da abelha bruto. A composição química da apitoxina, os métodos de coleta, as propriedades biológicas e suas possíveis aplicações terapêuticas estão bem documentadas nesta revisão.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Apis mellifera*; Veneno de Abelha; Compostos Bioativos; Farmacologia; Saúde.

## HONEY BEE VENOM (APITOXIN): COLLECTION, CHEMICAL COMPOSITION, BIOLOGICAL PROPERTIES AND THERAPEUTIC ACTIVITY

### ABSTRACT

Apitoxin, or honey bee venom, is produced by bees of the genus *Apis* to protect their colonies against the extensive variety of predators, ranging from other arthropods to vertebrates. Its active mixture is composed of a complex mixture of enzymes, peptides and amino acids, plus small amounts of carbohydrates and lipids. The apitoxin as well as their bioactive compounds show *in vitro* and *in vivo* biological efficacy against a variety of diseases. Its composition arouses the interest of the scientific community since the 19th century, and in the 80 's it was estimated the importance of this possible therapeutic agent in Western medicine. Today, has been used in a wide range of drugs, and their use of bee venom in the current scenario, has emerged as a differentiated product proposal to be extracted to the beekeeping, with excellent visibility in the markets. In Europe and in some global markets pharmaceutical formulations are already registered with the venom of bee in nature. The Apitoxin therapy has been used for thousands of years in traditional Chinese medicine as well as in ancient Greece and Egypt as a therapy, for several treatment such as arthritis, rheumatism and other autoimmune diseases, against tumors, skin diseases, pain and infections and more recently against some kind of cancers. The chemical composition of apitoxin, methods of collection, the biological properties and their possible therapeutic applications are discussed in this review.

**KEYWORDS:** *Apis mellifera*; Bee Venom; Bioactive Compounds; Healthy; Pharmacology.

*Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais, Aquidabã, v.4, n.2, Jun, Jul, Ago, Set, Out, Nov 2013.*

ISSN 2179-6858

SECTION: Articles

TOPIC: Saúde Ambiental



DOI: 10.6008/ESS2179-6858.2013.002.0009

**Camila Gomes Dantas**

Universidade Tiradentes, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/8964591877480293>

[ftacamila@gmail.com](mailto:ftacamila@gmail.com)

**Tássia Luiza Gonçalves Magalhães**

Nunes

Universidade Tiradentes, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/7504070658896621>

[tassia90\\_nunes@hotmail.com](mailto:tassia90_nunes@hotmail.com)

**Tâmara Luiza Gonçalves Magalhães**

Nunes

Universidade Tiradentes, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/4239779302857206>

[tamara90\\_nunes@hotmail.com](mailto:tamara90_nunes@hotmail.com)

**Margarete Zanardo Gomes**

Universidade Tiradentes, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/3919643496322265>

[quetezanardo@yahoo.com.br](mailto:quetezanardo@yahoo.com.br)

**Kátia Peres Gramacho**

Universidade Tiradentes, Brasil

<http://lattes.cnpq.br/6026127342716205>

[katholousa@hotmail.com](mailto:katholousa@hotmail.com)

Received: 08/10/2013

Approved: 15/11/2013

Reviewed anonymously in the process of blind peer.

Referencing this:

DANTAS, C. G.; NUNES, T. L. G. M.; NUNES, T. L. G. M.; GOMES, M. Z.; GRAMACHO, K. P.. Apitoxina: coleta, composição química, propriedades biológicas e atividades terapêuticas. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, Aquidabã, v.4, n.2, p.127-150, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.6008/ESS2179-6858.2013.002.0009>

## INTRODUÇÃO

A apitoxina é o veneno produzido pelas abelhas *Apis mellifera* com objetivo de proteger a colônia contra a extensa variedade de predadores, que incluem desde outros artrópodes a vertebrados (HIDER, 1988; FITZGERALD; FLOOD, 2006; SCIANI et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011; RATCLIFFE et al., 2011). Dentre os compostos naturais bioativos que constituem a apitoxina, como apamina (HIDER, 1988; ZHOU et al., 2010; MATYSIAK et al., 2011; KOKOT et al., 2011), histamina, hialuronidase (HIDER, 1988), catecolaminas (inclusive a dopamina) e serotonina (HIDER, 1988), destacam-se a melitina (HIDER, 1988; PACÁKOVÁ; STULÍK, 2000; SCIANI et al., 2010; ZHOU et al., 2010; LEE et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; MATYSIAK et al., 2011; KOKOT et al., 2011) e a fosfolipase A<sub>2</sub> (HIDER, 1988; SCIANI et al., 2010; LEE et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010), que constituem os principais componentes do veneno (HERNÁNDEZ, 2003; SCIANI et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011).

A terapia com veneno de abelhas tem sido utilizada na medicina tradicional chinesa, bem como na antiga Grécia e Egito, há milhares de anos, para o tratamento da artrite, reumatismo e outras doenças auto imunes, bem como contra o câncer, doenças de pele, dor e infecções (CHEN; LARIVIERE, 2010; RATCLIFFE et al., 2011). Segundo Chen e Lariviere (2010), a composição da apitoxina desperta o interesse da comunidade científica desde o século XIX e na década de 80 já estimava-se a importância deste possível agente terapêutico na medicina ocidental.

As toxinas produzidas por animais venenosos contêm compostos que podem ser aproveitados no desenvolvimento de uma ampla gama de fármacos. E, a utilização do veneno de abelhas no cenário atual configura-se como uma proposta diferenciada de produto a ser extraído da apicultura e que tem obtido grande visibilidade no mercado externo (DAMACENA et al., 2005; MATYSIAK et al., 2011). Empresas farmacêuticas estão financiando extensa investigação sobre o potencial do veneno, como a próxima geração de drogas no combate ao câncer (SON et al., 2007).

A terapia com o veneno de abelhas é relatada como eficaz também no tratamento de determinadas enfermidades, possivelmente em virtude de suas propriedades anti-inflamatória (ZURIER et al., 1973; MOON et al., 2007; SON et al., 2007; LEE et al., 2010), anti-nociceptiva (ROH et al., 2006; MERLO et al., 2011), anti-aterogênica (LEE et al., 2010; KIM et al., 2011a), cicatrizante (HAN et al., 2011), hepatoprotetora (PARK et al., 2010a) e neuroprotetora (DOO et al., 2010; YANG et al., 2010; YANG et al., 2011; KIM et al., 2011b; LEE et al., 2012; CHUNG et al., 2012; ALVAREZ-FISCHER et al., 2013). De modo que, este estudo visa sistematizar o conhecimento acerca da composição química da apitoxina, os métodos de coleta, propriedades biológicas e algumas de suas possíveis aplicações terapêuticas.

## METODOLOGIA

Para a realização deste estudo, a produção científica relacionada sobre veneno de abelhas foi acessada através de um levantamento de artigos científicos em periódicos nacionais e internacionais. Esta busca foi realizada em bases eletrônicas de dados: Medline, Lilacs e Periódico CAPES, e consulta manual nas referências dos artigos utilizados. O período de coleta dos artigos variou entre agosto de 2013 a dezembro de 2013.

Os critérios para inclusão foram: publicação nos idiomas inglês, português ou espanhol, associação entre as palavras-chave e publicação no período entre dezembro de 2003 a dezembro de 2013. Em função da relevância científica, outros artigos publicados em período anterior foram também incluídos.

## DISCUSSÃO TEÓRICA

### Composição Química da Apitoxina

A apitoxina é o veneno produzido pelas abelhas e consiste em uma mistura complexa de enzimas (HIDER, 1988; PACÁKOVÁ; STULÍK, 2000; SCIANI et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; KOKOT et al., 2011), peptídeos (HIDER, 1988; PACÁKOVÁ; STULÍK, 2000; SCIANI et al., 2010; ZHOU et al., 2010; LEE et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; KOKOT et al., 2011; MATYSIAK et al., 2011; KOKOT et al., 2011; KIM et al., 2012) e aminoácidos (HIDER, 1988), além de pequenas quantidades de carboidratos e lipídios (HIDER, 1988) - Conforme quadro 1. Dentre os componentes da apitoxina destacam-se a melitina e a fosfolipase A<sub>2</sub>, que constituem os principais componentes do veneno, representando juntas cerca de 75% do seu peso seco (HERNÁNDEZ, 2003; SCIANI et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011).

**Quadro 1:** Principais componentes da apitoxina.

CLASSE DA MOLÉCULA	COMPONENTES	REFERÊNCIAS
PROTEÍNAS (ENZIMAS)	FOSFOLIPASE A <sub>2</sub>	HIDER, 1988; LEE et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010
	HIALORUNIDASE	HIDER, 1988; LEE et al., 2010
PROTEÍNAS PEQUENAS E PEPTÍDEOS	MELITINA	HIDER, 1988; PACÁKOVÁ; STULÍK, 2000; SCIANI et al., 2010; LEE et al., 2010; ZHOU et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; MATYSIAK, 2011; KOKOT et al., 2011
	APAMINA	HIDER, 1988; LEE et al., 2010; ZHOU et al., 2010; MATYSIAK, 2011; KOKOT et al., 2011; KIM et al., 2012
	PEPTÍDEO MCD	HIDER, 1988; MATYSIAK, 2011; KOKOT et al., 2011
	TERTIAPINA; PROCAMINA; SECAPINA	HIDER, 1988; MATYSIAK, 2011
AMINAS FISIOLÓGICAMENTE ATIVAS	HISTAMINA, DOPAMINA, NORADRENALINA,	HIDER, 1988
AÇÚCARES	GLUCOSE, FRUTOSE	HIDER, 1988
FOSFOLÍPÍDEOS		HIDER, 1988
AMINOÁCIDOS	ÁCIDO γ-AMINO-	HIDER, 1988

	BUTÍRICO; $\alpha$ -AMINOÁCIDOS	
COMPONENTES VOLÁTEIS (FEROMÔNIOS)	ÉSTERES COMPLEXOS	HIDER, 1988

A melitina tem pH altamente básico (YANG et al., 2011), e constitui um tipo de peptídeo anfipático, hidrossolúvel, que consiste de 26 aminoácidos com 6 cargas positivas (YAN et al., 2003; POPPLEWELL et al., 2007; ORŠOLIĆ, 2011; KEITH et al., 2011; YANG et al., 2011; RATCLIFFE et al., 2011). Os quatro resíduos de aminoácidos com cargas positivas e 6 resíduos de aminoácidos com hidrofília são localizados no fim carboxi-terminal, enquanto os 2 resíduos de aminoácidos com cargas positivas e 20 resíduos de aminoácidos com hidrofobia são situados no fim aminoterminal (YAN et al., 2003; POPPLEWELL et al., 2007). De acordo com a literatura, a melitina apresenta intensa atividade hemolítica (BOGAART et al., 2008; ORŠOLIĆ, 2011) e importante ação antiinflamatória (ORŠOLIĆ, 2011; YANG et al., 2011), antibacteriana (FENNELL et al., 1967; 1968) e antifúngica (PARK et al., 2010b), e apresenta ainda ação antitumoral (ORŠOLIĆ, 2011).

Em contrapartida está a fosfolipase  $A_2$ , enzima de natureza glicoprotéica que catalisa a hidrólise de fosfolipídios presentes nas membranas plasmáticas celulares e desencadeia fenômenos bioquímicos em cascata, que convergem para o aparecimento de reações inflamatórias. É um dos principais componentes imunogênicos do veneno de *apis mellifera* e pode contribuir para a toxicidade generalizada no envenenamento, por uma interação com a melitina (SCHUMACHER; EGEN, 1995; OWNBY et al., 1997; FITZGERALD; FLOOD, 2006; ORŠOLIĆ, 2011).

A apamina, menor neurotoxina do veneno de abelha, equivale a 1 a 3% do peso seco do veneno (HIDER, 1988), e consiste em um peptídeo alcalino, polar, de 18 aminoácidos que contém 4 cisteínas com duas ligações dissulfeto (Cis1-Cis1 e Cis3-Cis15) (SPOERRI et al., 1975; FREEMAN et al., 1986). Estima-se que este composto atue bloqueando o canal de potássio ativado por cálcio, que medeia a longa duração após hiperpolarização em várias células e tenha ainda efeito citotóxico e no nervo nociceptivo (BANKS et al., 1979; MOURRE et al., 1997). Adicionalmente, estudo recente identificou que a apamina apresenta efeito protetor contra lesões ateroscleróticas, reduzindo significativamente a expressão de molécula de adesão celular vascular-1, molécula de adesão intercelular-1 e fibronectina na aorta descendente de ratos ateroscleróticos (KIM et al., 2012).

Compõem também a apitoxina: histamina, hialuronidase, catecolaminas (inclusive a dopamina) e serotonina (HERNÁNDEZ, 2003; ORŠOLIĆ, 2011). Adicionalmente, a composição do veneno pode variar em função da sazonalidade e entre regiões geográficas (SCIANI et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010).

## **Métodos de Coleta**

A extração da apitoxina pode ser realizada por meio da estimulação manual. Esta técnica consta de numa leve pressão no abdome da abelha que favorecerá a expulsão do veneno pelo ferrão, sendo este veneno líquido coletado por meio de uma microcápsula (HIDER, 1988; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010). Contudo, coleções de veneno extraídas por estimulação manual apresentam fragmentos de tecidos danificados e conteúdo intestinal, sendo mais propensas a contaminações (FERREIRA-JÚNIOR et al., 2010).

Entretanto, comumente a extração do veneno de abelhas é realizada por meio de um coletor composto por placas e gerador de pulsos, no qual a abelha é induzida a ferroar a placa coletora elétrica. Esta técnica de coleta por extração elétrica tem sido utilizada desde meados de 1950 e consiste na colocação de um coletor, composto por placas de vidro e gerador de pulsos, conectado a bateria ou a outra fonte de energia, no alvado da colméia (GRAMACHO et al., 1992).

Quando as abelhas pousam sobre a placa, recebem um choque e reagem no intuito de ferroar a placa coletora elétrica, depositando uma carga de veneno entre o vidro e o material protetor do equipamento, local onde seca e depois é raspado e vendido para a indústria farmacêutica ou laboratório especializado, por exemplo, para ser utilizado em favor da saúde humana (BENTON et al., 1963; HIDER, 1988; GRAMACHO et al., 1992; OBISPO, 2002; DAMACENA et al., 2005). A principal vantagem desta forma de obtenção da apitoxina, é que gera maior quantidade de amostra pura, sem detritos, não provoca a morte do animal e ainda preserva o ferrão da abelha (BENTON et al., 1963; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010).

Abelhas africanizadas possuem menor quantidade de veneno no reservatório que as abelhas européias (SCHUMACHER et al., 1990; FERREIRA-JÚNIOR et al., 2010), contudo, são capazes de liberar maior quantidade de veneno após extração (FUNARI et al., 2001; FERREIRA-JÚNIOR et al., 2010) e maior número de abelhas ficam mais presentes nas placas de extração e mais tempo após extração, dificultando o manejo. Estima-se que para obtenção de 1 grama de veneno por meio deste método de coleta, são necessárias 10.000 abelhas (BENTON et al., 1963), mas estudos apontam que em uma ferroadada a abelha libera 1µg do veneno seco, independente do método de coleta (HIDER, 1988). Já no que diz respeito ao comportamento

## **Isolamento e Caracterização dos Compostos Bioativos da Apitoxina**

Há duas abordagens para a padronização de produtos naturais complexos. Se a atividade farmacológica do produto padronizado for atribuída a constituintes conhecidos, eles devem ser quantificados usando o método apropriado. Entretanto, se nem todos os compostos ativos são conhecidos ou a atividade farmacológica do produto for causada por efeito sinérgico de todos seus constituintes, então alguns compostos marcadores precisam ser usados para fins de padronização (BANKOVA, 2005; KOKOT et al., 2011). Não há instruções uniformes para a

padronização do veneno de abelhas, somente métodos gerais para padronizar a composição de alérgenos para preparações usadas na dessensibilização (MATYSIAK et al., 2011).

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) consiste num método de quantificação estável com operação simples, todavia, este sistema apresenta alguns aspectos negativos como longo período de análise, faixa linear estreita, baixa sensibilidade e vida útil da coluna limitada na análise de quantificação de peptídeos (ZHOU et al., 2010). Entretanto, em sistema binário de HPLC fase reversa, seguido de espectrometria de massa, sequenciamento de peptídeos e dicróismo circular foi possível a identificação de uma nova isoforma de melitina (SCIANI et al., 2010).

Para alguns autores, a HPLC acoplada com o espectrômetro de massa tandem (HPLC-MS/MS) tornou-se uma combinação poderosa para a quantificação de peptídeos de matrizes biológicas complexas e tem sido usado para analisar apamina e peptídeo degranulador de mastócitos (JEMAL, 2000; FRANCESE et al., 2009). Conforme os estudos, o método exibe algumas vantagens na sensibilidade e especificidade satisfatórias porque proporciona maiores confirmações via massa molecular e fragmentação estrutural específica.

Alguns métodos analíticos baseados no HPLC com detecção por arranjo de diodos (DAD) e detector ultravioleta (UVD) foram relatados na literatura para a determinação de compostos do veneno de abelhas, como a melitina e apamina (ZHOU et al., 2010). Trata-se de um método rápido, simples, preciso e sensível para a determinação simultânea da melitina e apamina nas amostras do pó liofilizado de veneno de abelha. Este método foi validado em termos de seletividade, linearidade, limite de quantificação, precisão intradia (repetibilidade), precisão interdia (intermediária), exatidão, recuperação e estabilidade (ZHOU et al., 2010).

Estudos apontam que o método de eletroforese capilar (CE) com UVD foi desenvolvido para quantificação dos compostos fosfolipase A<sub>2</sub> e melitina (PACÁKOVÁ et al., 1995). Ainda segundo os autores, o sistema CE-UVD fornece melhor eficiência de separação e menor tempo de execução, mas não é adequado para análise extensiva devido a sua baixa popularidade na maioria dos laboratórios. Em comparação com o HPLC, a eletroforese capilar (CE) se manteve como método com melhores resultados para a determinação da fosfolipase A<sub>2</sub> e melitina (PACÁKOVÁ; STULÍK, 2000).

Dois métodos de espectrometria de massa complementares foram utilizados recentemente para caracterizar amostras de veneno de abelhas: espectrometria de massa MALDI-TOF-MS (dessorção/ionização a LASER assistida por matriz) e NanoESI-Qqtof-MS (ionização por eletrospray). Esta última técnica permitiu a identificação de 16 sequências peptídicas, além da descoberta do novo peptídeo HTGAVLAHV + Amidado (término-C) Mr = 822.53 Da (MATYSIAK et al., 2011).

Um método com padrão interno foi desenvolvido para analisar amostras de veneno de abelha com elevada exatidão por eletroforese capilar de zona (KOKOT et al., 2011). Possivelmente, foi o primeiro estudo em que vários componentes do veneno de abelha foram

separados e quatro grandes componentes (apamina, peptídeo MCDP, fosfolipase A<sub>2</sub> e melitina) deste produto foram identificados (KOKOT et al., 2011). A vantagem do método HPCE é que o consumo de reagentes analíticos e os custos da análise são consideravelmente mais baixos em comparação com o método HPLC.

### **Ação Biológica da Apitoxina e dos Principais Componentes**

No que se refere a sua ação biológica, a introdução da apitoxina nos tecidos celulares desencadeia uma série de reações biológicas na membrana, que variam de acordo com a diversidade bioquímica de seus constituintes. Elementos como fosfolipase A<sub>2</sub>, melitina, hialorunidase, apamina e peptídeo degranulador de mastócitos (MCD) interagem com a membrana celular ocasionando importantes reações locais e sistêmicas no organismo atingido (FITZGERALD; FLOOD, 2006; ORŠOLIĆ, 2011).

Fisiologicamente, interstícios celulares são preenchidos por ácido hialurônico, um biopolímero que possui propriedades adesivas. A hialorunidase, enzima que corresponde a 1,5-2% do peso seco da apitoxina, em contato com a célula, quebra as moléculas de ácido hialurônico em pequenos fragmentos, formando uma solução intercelular menos viscosa que facilita a penetração de outros componentes do veneno. Por esta razão, a hialorunidase é freqüentemente denominada fator de difusão da apitoxina (DOTIMAS; HIDER, 1987; FITZGERALD; FLOOD, 2006; CHEN; LARIVIERE, 2010).

Em seguida, a fosfolipase A<sub>2</sub>, enzima hidrolisadora de fosfolipídios da membrana plasmática, gera moléculas tipo detergente e provoca a formação de poros transmembrânicos (ORŠOLIĆ, 2011). Estes poros permitem o extravazamento de nutrientes e conseqüente lise nas células, alterando a conformação das cadeias celulares (DOTIMAS; HIDER, 1987; ORŠOLIĆ, 2011).

Com a hidrólise de fosfolipídios, ocorre também a liberação de ácido araquidônico, dando início ao ciclo metabólico desse ácido graxo essencial, que começa pelo processo de ativação das enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase. Estas enzimas são responsáveis pela conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos, importantes mediadores químicos da inflamação (NAM et al., 2003).

Entretanto, dentre os componentes da apitoxina destaca-se a melitina, peptídeo que representa cerca de 50% do peso seco do veneno e possui várias ações biológicas, farmacológicas e toxicológicas, incluindo forte atividade na superfície de membranas lipídicas celulares atuando de forma hemolisadora (FITZGERALD; FLOOD, 2006; ORŠOLIĆ, 2011; YANG et al., 2011). A melitina pode ligar-se em milissegundos a membranas lipídicas, adotando a conformação  $\alpha$ -helicoidal anfipática paralela ou perpendicular ao plano da membrana. A configuração paralela é inativa, enquanto a perpendicular é embutida na membrana e necessária para a formação de poros (BOGAART et al., 2008). Deste modo, a superfície hidrofóbica da

melitina liga-se a membrana causando seu enfraquecimento e conseqüente afinamento e destruição celular, causando a formação de poros, fusão e vesiculação (ORŠOLIĆ, 2011). Adicionalmente, ao interromper as membranas celulares, a melitina libera aminas biogênicas e potássio, é responsável também pela liberação de histaminas e é considerado o agente responsável pelo mecanismo de dor local (FITZGERALD; FLOOD, 2006).

Em estudo anterior, foi identificado que a apitoxina e a melitina possuem potente efeito supressor sobre respostas pró-inflamatórias (MOON et al., 2007). A apitoxina exerceu efeito anti-inflamatório por suprimir a transcrição gênica da ciclooxigenase e citocinas pró-inflamatórias, tais como a interleucina (IL)-1 $\beta$ , IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ . Segundo estudos, o veneno de abelhas também atua sobre o processo anti-inflamatório por meio da inibição da expressão de COX-2 e do bloqueio de citocinas pró-inflamatórias (NAM et al., 2003). Igualmente, a adolapina, peptídeo que compõe o peso seco do veneno, inibe a síntese de prostaglandinas por meio da inibição da atividade da ciclooxigenase (CHEN; LARIVIERE, 2010).

Uma vez difundido no tecido celular, outros componentes de importante relevância do veneno de abelhas *Apis mellifera*, também passam interagir, como a apamina, um peptídeo que apresenta um modo de ação altamente específico devido a forte influência sobre as membranas pós-sinápticas do sistema nervoso central e periférico. Em doses muito pequenas estimula o SNC e em doses elevadas torna-se neurotóxico (FITZGERALD; FLOOD, 2006; ORŠOLIĆ, 2011). Com 10 aminoácidos, a apamina impede a despolarização e bloqueia os canais de potássio ativados por Ca<sup>2+</sup> na membrana, impedindo a ação fisiológica da adrenalina de abrir este canal (ZHOU et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011).

Com estrutura similar a apamina, o peptídeo MCD é constituído de 22 resíduos de aminoácidos (CHEN; LARIVIERE, 2010; ORŠOLIĆ, 2011) e difere-se da melitina por apresentar 2 pontes dissulfídicas (HABERMANN, 1972). Segundo Dotimas e Hider (1987) e Fitzgerald e Flood (2006), o peptídeo MCD é capaz de degranular mastócitos mesmo em baixas concentrações. A atividade anti-inflamatória da apitoxina também decorre da ação deste componente, que bloqueia o ácido araquidônico e ainda é responsável pela maior liberação de histamina para o sangue, mediante doses baixas (FITZGERALD; FLOOD, 2006; ORŠOLIĆ, 2011; HANSON et al., 1974).

### Potencial Farmacológico da Apitoxina

A revisão da apitoxina apresentou o extenso potencial farmacológico desta substância. A presença de substâncias bioativas como melitina, fosfolipase A<sub>2</sub> e apamina possivelmente é a chave para a sua eficiência terapêutica. O potencial terapêutico do veneno puro (sinergia de ação dos diversos componentes) e dos principais compostos isolados estão representados nos quadros 2 e 3. Breves relatos de sua eficácia biológica para usos terapêuticos estão descritos abaixo.



**Quadro 2:** Potencial terapêutico da apitoxina.

POTENCIAL TERAPÊUTICO DA APITOXINA	AUTORES
ANTIINFLAMATÓRIO	LORENZETTI et al., 1972; ZURIER, 1973; HANSON et al., 1974; LEE et al. 2001; KWON et al., 2002; LEE et al., 2005; SON et al., 2007; MOON et al., 2007; CHEN; LARIVIERE, 2010; LEE et al., 2010; KIM et al., 2011; KIM et al., 2012
ANTI-NOCICEPTIVO E ANALGÉSICO	LARIVIERE; MELZACK, 1996; LEE et al. 2001; ROH et al., 2006; SON et al., 2007; CHEN et al., 2010; LEE et al., 2010; HAN et al., 2011; ALVES et al., 2011; MERLO et al., 2011; YOON et al., 2013
ANTI-TUMORAL	LIU et al., 2002; MONTALVANI et al., 2002; JANG et al., 2003; JAN et al., 2003; ORŠOLIĆ et al., 2003; RUSSEL et al., 2004; HU et al., 2006; MOON et al., 2006; HAN et al., 2007; SON et al., 2007; MOON et al., 2007; LEE et al., 2010; PARK et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011; JO et al., 2012
CICATRIZANTE	CHEN et al., 2010; HAN et al., 2011; SANGMI et al., 2011; HAN et al., 2013; AMIN; ABDEL-RAHEEM, 2013
RADIOPROTETOR	ORSOLIC, 2011
NEUROPROTETOR	SUN et al., 2004; CASTRO et al., 2005; MOON et al., 2007; NAMAKA et al., 2008; DOO et al., 2010; YANG et al., 2010; YANG et al., 2011; KIM et al., 2011a,b; LEE et al., 2012; CHUNG et al., 2012; KARIMI et al., 2012; ALVAREZ-FISCHER et al., 2013

**Quadro 3:** Potencial terapêutico da melitina.

POTENCIAL TERAPÊUTICO DA MELITINA	AUTORES
ANTIINFLAMATÓRIO	MOON et al., 2007; SON et al., 2007; BOGAART et al., 2008; CHEN et al., 2010; YANG et al., 2011; ORSOLIC, 2011
ANTI-NOCICEPTIVO E ANALGÉSICO	KOYAMA et al., 2000; KOYAMA et al., 2002; BOGAART et al., 2008; CHEN et al., 2010; YANG et al., 2011
ANTI-TUMORAL	ORŠOLIĆ et al., 2003; LEE et al., 2006; CHO et al., 2007; LIU et al., 2008; BOGAART et al., 2008; ORŠOLIĆ, 2009; CHEN et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011; JO et al., 2012
ANTI-FÚNGICO	CHEN et al., 2010; PARK; LEE et al., 2010
ANTIBACTERIANA	FENNELL et al.; 1967; 1968; BOGAART et al., 2008; CHEN et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011; WANG et al., 2011
ANTIVIRAL	ORŠOLIĆ, 2011
ATIVIDADE HEMOLISADORA	BOGAART et al., 2008; CHEN et al., 2010; FERREIRA-JUNIOR et al., 2010; ORŠOLIĆ, 2011
NEUROPROTETOR	YANG et al., 2011
CICATRIZANTE	PARK et al., 2011

## Atividade Antiinflamatória

A inflamação consiste em uma complexa resposta biológica vascular e tecidual a estímulos nocivos provenientes de patógenos, injúrias celulares ou irritantes externos (FERRERO-MILIANI et al., 2007). A terapia com apitoxina tem sido relatada como eficaz no tratamento de algumas enfermidades, possivelmente em virtude de suas propriedades antiinflamatórias, principalmente sobre as doenças reumáticas (ZURIER et al., 1973). Um exemplo é a artrite reumatóide, doença inflamatória autoimune, onde estudos relataram que houve diminuição da expressão de COX-2 e fosfolipase A<sub>2</sub> e dos níveis de fator de necrose tumoral (TNF)- $\alpha$ , interleucina (IL)-1, IL-6, óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ERO) em virtude das propriedades do veneno (PARK et al., 2004; SON et al., 2007).

Em estudo anterior foi identificado que a apitoxina e a melitina possuem potente efeito supressor sobre respostas pró-inflamatórias (MOON et al., 2007). A apitoxina exerceu efeito antiinflamatório por suprimir a transcrição gênica da cicloxigenase e citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ . Adicionalmente, foi identificado que o veneno de abelhas atua

sobre o processo anti-inflamatório por meio da inibição da expressão de COX-2 e do bloqueio de citocinas pró-inflamatórias (NAM et al., 2003). Igualmente, a adolapina, peptídeo que compõe o peso seco do veneno, inibe a síntese de prostaglandinas por meio da inibição da atividade da ciclooxigenase (CHEN; LARIVIERE, 2010).

Neste sentido, é importante salientar pesquisas recentes, onde o tratamento com veneno de abelhas ou seus compostos isolados apresentaram resultados favoráveis inclusive diante de condições ateroscleróticas, doença inflamatória crônica caracterizada pela formação de ateromas nos vasos sanguíneos (LEE et al., 2010; KIM et al., 2011a; KIM et al., 2012). Administrado via intraperitoneal, a apitoxina reduziu a formação de placas ateroscleróticas e o nível de lipídios séricos em camundongos (LEE et al., 2010). O tratamento com a apitoxina diminuiu também o colesterol total e o teor de triglicérides, enquanto aumentava o colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) nos animais com aterosclerose experimental.

A melitina também tem sido utilizada no tratamento de doenças inflamatórias crônicas. Na administração isolada deste peptídeo em modelo animal de aterosclerose, também houve redução dos níveis de colesterol e triglicérides totais e elevação dos índices de HDL-C (KIM et al., 2011a). Em análise histológica a melitina recuperou significativamente o coração e aorta descendente e em análise bioquímica reduziu os níveis de expressão de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , VCAM-1, ICAM-1, fibronectina e fator de crescimento transformante (TGF)- $\beta$ 1 em camundongos ateroscleróticos. Estes resultados evidenciam que o efeito antiaterogênico da melitina por supressão de citocinas pró-inflamatórias e moléculas de adesão (KIM et al., 2012).

Adicionalmente, a administração isolada da apamina também demonstrou propriedades antiinflamatórias em estudo experimental com redução da expressão do TNF- $\alpha$ , molécula de adesão celular vascular (VCAM)-1 e molécula de adesão intercelular (ICAM)-1, bem como a via de fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), demonstrando potencial atividade preventiva mediante condições ateroscleróticas (KIM et al., 2012). Deste modo, é possível observar que a administração da apitoxina (sinergia de ação dos compostos), bem como das principais substâncias de forma isolada, apresenta atividade antiinflamatória significativa com resultados histológicos e bioquímicos similares em alguns estudos.

### **Atividade Anti-Nociceptiva**

Segundo a International Association for the Study of Pain (IASP) dor é definida como uma “experiência sensorial e emocional desagradável, associada a um dano tissular real ou potencial ou descrita em termos de tal dano” (IASP, 1979). Já nocicepção pode ser caracterizada pela capacidade perceptiva que alguns organismos vivos possuem de captar estímulos nocivos mediante ativação de nociceptores que enviam estímulos ao sistema nervoso central (SNC) (FEIN, 2011). Logo, dor e nocicepção são expressões difíceis e complexas de serem

compreendidas (FERREIRA, 2006), mas são fundamentais para o corpo humano, pois atuam como importante sistema de alarme do organismo (BASTOS, 2003).

Neste sentido, estudos em modelos experimentais estão sendo realizados com a finalidade de avaliar a atividade antinociceptiva do veneno de abelha. Algumas pesquisas analisam a ação da apitoxina em processos de inflamação crônica como a artrite reumatóide e osteoartrite, pois, nestes casos, o processo inflamatório gerado em longo prazo potencializa a dor e gera hiperalgesia, ou seja, estímulo excessivo dos nociceptores (LEE et al., 2001). A ação antinociceptiva da apitoxina está relacionada à inibição da COX-2, enzima que participa da síntese dos mediadores químicos da inflamação, por conseguinte favorece a diminuição da produção de citocinas e óxido nítrico, que, finalmente reduz a sensação de dor, sendo este último considerado um dos sinais cardinais do processo inflamatório (KNOW et al., 2002; NAM et al., 2003).

Um dos primeiros estudos experimentais sobre os efeitos nociceptivos da apitoxina foi realizado com doses de 0.01 mg, 0.05 mg, 0.1 mg, 0.2 mg, e 0.3 mg de veneno liofilizado de *Apis mellifera*. A duração dos comportamentos relacionados a dor também foram relacionados a dose, de maneira que as menores doses de apitoxina resultaram em um período de 20 a 25 minutos de comportamentos relacionados a dor leve, enquanto as maiores doses produziram respostas de dor vigorosas por aproximadamente 1h, sugerindo que as respostas comportamentais relacionadas a dor induzidas pelo veneno de abelha são dose-dependentes tanto no curso de tempo quanto na intensidade de resposta (LARIVIERE; MELZACK, 1996). Adicionalmente, estudos investigaram os efeitos da apitoxina sobre os comportamentos relacionados à dor e inflamação em ratos por meio do estímulo de acupontos, onde houve atenuação da dor induzida por formalina (ROH et al., 2006; MERLO et al., 2011).

Pesquisas científicas feitas com o veneno da abelha apontam um importante efeito analgésico também em virtude da presença de outro componente do veneno, a adolapina, um peptídeo presente na apitoxina e atua de forma semelhante aos AINES, pois ambos apresentam funções antiinflamatória, analgésica e antipirética (SON, 2007). A ação analgésica da adolapina foi descrita por Shkenderov e Koburova (1982), responsáveis por isolar esse componente do veneno da abelha. Sua ação analgésica e antiinflamatória é decorrente do bloqueio da COX, o qual inibe a produção de prostaglandina (CHEN; LARIVIERE, 2010). A adolapina inibe ainda a ação da fosfolipase A<sub>2</sub>, bem como as lipoxigenases (SON, 2007).

O uso isolado de um dos compostos majoritários da apitoxina, a melitina, sobre respostas inflamatórias e nociceptivas em humanos, indicou forte sensação de dor imediatamente após a injeção intradérmica desta substância (5 µg em 50 µl de solução salina), contudo, a dor diminuiu gradualmente e desapareceu 3 minutos após a injeção (KOYAMA et al., 2000). Segundo o estudo, não houve coceira ou sensação de queimação após a estimulação com melitina, sugerindo que uma quantidade de histamina significativa pode não ter sido liberada e que os nociceptores térmicos podem não ter sido ativados por esta dose de melitina. Entretanto, a melitina produziu um rubor ao redor de uma pápula no local de injeção que desapareceu em 2h.

Essa resposta inflamatória local também foi caracterizada pelo aumento na temperatura da pele. A administração de lidocaína em gel tópica bloqueou marcadamente o rubor induzido pela melitina e o aumento da temperatura cutânea, mas não a sensação de dor, sugerindo que a resposta inflamatória local induzida pela melitina é neurogênica e mediada por reflexo axonal e regulação simpática (KOYAMA et al., 2000, 2002).

Os efeitos algogênicos de doses maiores de melitina (10 µg e 50 µg) também foram observados (SUMIKURA et al., 2003, 2006). O pico de intensidade da dor induzida pela melitina foi semelhante aos estudos anteriores, contudo, a duração da sensação de dor foi maior, durando 15 minutos com a maior dose utilizada, sugerindo um aumento relacionado a dose na duração da sensação de dor mediante doses crescentes de melitina.

### **Atividade Cicatrizante**

A apiterapia com o veneno de abelha ou com o seu principal componente, melitina, tem apresentado também importante ação cicatrizante. Em estudo realizado por Han et al. (2011), camundongos que receberam apitoxina no local da ferida apresentaram acelerado processo de contração e re-epitelização tecidual, aumento da produção de colágeno e redução do tamanho da ferida, além de aumento da expressão do TGF-β1, fibronectina, fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e colágeno I na área de cura da ferida por meio da coloração de imunohistoquímica. Em modelo experimental de fibrose hepática para avaliar a atividade biológica da melitina, houve redução do processo inflamatório e a fibrogênese (PARK et al., 2011), sugerindo possível efeito antifibrótico deste composto.

Adicionalmente, em estudo recente *in vitro* (HAN et al., 2013) o veneno de abelhas estimulou a proliferação e migração de queratinócitos epidérmicos humanos e reduziu os níveis de expressão de TNF-α nestas células, além de diminuir a produção de IL-8. Quando aliado a outras substâncias para formar hidrogéis, o veneno apresentou excelentes resultados (AMIN; ABDEL-RAHEEM, 2013). Deste modo, o veneno de abelhas e a melitina isolada configuram-se como possíveis substâncias com aplicação tópica capazes de acelerar a cicatrização de feridas por processo de regeneração celular, com possibilidade de aplicação no tratamento de cicatrizes e queimaduras.

### **Atividade Antitumoral**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), mais de 11 milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer a cada ano e estima-se, que até 2020 haverá 16 milhões de novos casos por ano (BRASIL, 2011). Entretanto, apesar dos avanços no uso de novas tecnologias e das melhorias nas abordagens terapêuticas para o tratamento da doença, ainda persistem as dificuldades inerentes ao tratamento de tumores agressivos e ou metastáticos, resultando em morbidez e mortalidade (ALHAZZAZI et al., 2011).

A apitoxina tem sido alvo de estudo para tratamento de tumores em virtude dos diversos componentes que apresenta e das propriedades biológicas por ela desempenhada (MONTALVANI et al., 2002; ORŠOLIĆ, 2011). Estudos apontam resultados positivos do veneno de abelhas quando utilizada no tratamento de vários tipos de câncer, entre eles os cânceres de ovário (JO et al., 2012) bexiga, fígado (HU et al., 2006), mama (ORŠOLIĆ et al., 2003), próstata (RUSSEL et al., 2004) e pulmão (JANG et al., 2003). Segundo a pesquisa, a destruição das células cancerígenas ocorre principalmente pela ação dos componentes melitina, fosfolipase A<sub>2</sub> e apamina, elementos que agem contra as células tumorais (PARK et al., 2010a; ORŠOLIĆ, 2011).

O mecanismo de ação da apitoxina sobre células cancerígenas envolve uma série de eventos bioquímicos que ainda são discutidos por pesquisadores. Cientistas sugerem que o efeito citotóxico do veneno de abelhas em células cancerosas é resultante do sinergismo entre a fosfolipase A<sub>2</sub> e melitina. Isto porque a melitina ocasiona a ativação da fosfolipase A<sub>2</sub>, responsável pela liberação das enzimas que promovem a apoptose celular (ORŠOLIĆ, 2011).

Estudos recentes relataram vários efeitos do veneno de abelha como a indução de apoptose e necrose e efeitos na proliferação, citotoxicidade e inibição do crescimento em diferentes tipos de células cancerosas (LIU et al., 2002; JAN et al., 2003; MOON et al., 2006; HU et al., 2006; HAN et al., 2007). Pesquisas apontam que a melitina isolada pode induzir a parada do ciclo celular e inibir o crescimento e apoptose em várias células tumorais (LEE et al., 2006; CHO et al., 2007; LIU et al., 2008).

Adicionalmente, foi demonstrado que a melitina é um dos inibidores mais potentes da atividade de calmodulina e inibidor potente do crescimento celular e clonogenicidade (ORŠOLIĆ et al., 2003; ORŠOLIĆ, 2009). As drogas que inibem a atividade da calmodulina mostraram inibir a síntese do DNA na linhagem de glioblastoma (OKUMARA et al., 1982) e inibir o crescimento de células ovarianas em estudo experimental (CHAFOULEAS et al., 1984).

### **Atividade Neuroprotetora**

A exploração da apitoxina no meio científico tem evidenciado diversas propriedades deste produto. No que se refere a sua ação no Sistema Nervoso Central (SNC), estudos tem apontado potencial efeito neuroprotetor do veneno de abelhas sobre determinadas doenças como a esclerose múltipla (EM) (CASTRO et al., 2005; NAMAKA et al., 2008), a esclerose lateral amiotrófica (ELA) (YANG et al., 2010; YANG et al., 2011), a doença de Alzheimer (LEE et al., 2012) e a doença de Parkinson (DOO et al., 2010; KIM et al., 2011b,c; LEE et al., 2012; CHUNG et al., 2012).

Alguns ensaios clínicos sugeriram que a apitoxina pode ser empregada no tratamento de doenças neurodegenerativas, como a esclerose múltipla (CASTRO et al., 2005; NAMAKA et al., 2008), considerada uma doença crônica, auto-imune e progressiva. A etiologia desta enfermidade é desconhecida, mas apresenta a susceptibilidade individual como um dos possíveis fatores

desencadeantes. Na esclerose múltipla, uma deficiência no sistema imunológico do indivíduo faz com que ele desenvolva anticorpos capazes de agredir a mielina do SNC, deste modo, o déficit funcional decorre das anormalidades de condução (MIRSHAFIEY, 2007).

Em ambos estudos (CASTRO et al., 2005; NAMAKA et al., 2008), os autores sugerem pesquisas adicionais, para ratificar o mecanismo positivo de ação da apitoxina sobre a fisiopatologia da doença e chamam atenção para os possíveis riscos de reações alérgicas ao veneno. Adicionalmente, o tratamento com o veneno de abelhas para Encefalomielite alérgica experimental (EAE), modelo animal amplamente aceito para estudo da esclerose múltipla, apresentou redução dos sintomas da doença e das alterações patológicas, com diminuição da infiltração de células inflamatórias e da desmielinização no SNC (KARIMI et al., 2012).

Pesquisas contemporâneas demonstraram que a administração de apitoxina, e do seu principal componente, melitina, na fase de progressão da ELA também gerou resultados importantes (YANG et al., 2010; YANG et al., 2011). A neuroinflamação é uma característica patológica presente em pacientes com ELA. Como mediadores críticos da inflamação, a micróglia ativada e níveis elevados do TNF- $\alpha$  são detectados no SNC e a doença caracteriza-se pela degeneração de neurônios motores superiores e inferiores do córtex motor, tronco encefálico e coluna espinhal, cujos principais sintomas consistem em fraqueza muscular, atrofia, espasticidade e paralisia de músculos voluntários (YANG et al., 2010; YANG et al., 2011; LEE et al., 2012). Estima-se que a excitotoxicidade por glutamato esteja envolvida na etiologia desta doença, e segundo Lee et al. (2012), a apitoxina diminui esta toxicidade mediante doenças neurodegenerativas, reduzindo a morte neuronal.

Neste contexto, Yang et al. (2010) identificaram que a injeção subcutânea de 0,1  $\mu$ g/ g do veneno de abelha em camundongos transgênicos na fase sintomática de progressão da doença, gerou aumento de 18% na taxa de sobrevivência destes animais em comparação ao grupo controle e provocou aumento da atividade motora, devido ao efeito neuroprotetor fornecido pelos níveis reduzidos de citocinas, indicando que a apitoxina agiu terapeuticamente contra o início da disfunção motora e contra a progressão da ELA nestes animais. Ainda neste estudo, os autores concluíram que o tratamento com apitoxina reduziu a ativação das células microgлияis, suprimiu a neuroinflamação induzida pela morte de neurônios motores e impediu a ruptura mitocondrial.

Por conseguinte, com o objetivo de determinar se somente a melitina poderia suprimir a perda de neurônios motores e a configuração anormal de proteínas em modelos animais de ELA, Yang et al. (2011), injetaram 0,1  $\mu$ g/ g deste peptídeo, via subcutânea, em camundongos transgênicos e como resultado evidenciaram que, apesar de não aumentar o tempo de vida das cobaias, a melitina foi suficiente para melhorar a atividade motora destes animais, retardou os sintomas patológicos em uma semana e reduziu eventos neuroinflamatórios no tronco encefálico e coluna espinhal, além de restaurar um aumento de 50% na atividade proteossoma no tronco encefálico e 40% de aumento na coluna lombar. Estes resultados sugerem uma potencial ligação

funcional entre a melitina e a inibição da neuroinflamação em modelo animal de ELA, com implicações importantes para o tratamento de outras doenças no SNC.

Outra enfermidade neurológica abordada recentemente é a DP. Em pesquisa realizada por Alvarez-Fischer et al. (2013), autores identificaram que a dose de 120 µg/Kg apitoxina protegeu contra a perda de células dopaminérgicas induzida por 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) e aumentaram o nível de dopamina no estriado. Em concordância, no estudo de Chung et al. (2012), a apitoxina promoveu a sobrevivência de neurônios dopaminérgicos (DA) também em modelo de Parkinson induzido por MPTP.

Adicionalmente, em modelo animal da doença induzido por esta mesma neurotoxina, Kim et al. (2011b), evidenciaram que a injeção subcutânea com 1,2 mg/Kg de apitoxina pode atenuar a ativação da resposta da micróglia, atuando com possível efeito neuroprotetor nesta doença. Neste estudo, camundongos tratados com apitoxina apresentaram melhora nas percentagens de sobrevivência das células TH + para 70% no 1º dia e 78% no 3º dia, em comparação com camundongos normais. A apitoxina também resultou na redução da expressão de marcadores de inflamação do antígeno de macrófagos complexo-1 (MAC-1) e sintase de óxido nítrico induzida (iNOS) na substância negra compacta, sugerindo potencial inibição de eventos neuroinflamatórios induzidos por MPTP.

Estima-se que o possível mecanismo pelo qual a apitoxina reduziu a perda celular dopaminérgica, decorre de interações com vias de citocinas pró-inflamatórias. Do mesmo modo, Park et al. (2004) e Son et al. (2007), demonstraram que a apitoxina inibe a expressão de genes inflamatórios como a ciclooxigenase-2 e também a geração do TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, sintase de óxido nítrico induzida (iNOS) e ERO mediante condições inflamatórias.

O veneno de abelha também foi evidenciado como um possível método preventivo potencial para a DP por meio da acupuntura, de acordo com Doo et al. (2010). Após duas semanas de tratamento com injeções subcutâneas com 0,02 mL de apitoxina, os camundongos foram intoxicados com 20 mg/ Kg, via intra peritoneal, de MPTP. O estudo evidenciou que a acupuntura com apitoxina previne a perda de neurônios dopaminérgicos e fibras dopaminérgicas estriatais induzidas pelo MPTP em modelo agudo de Parkinson experimental. Mostrou também que a acupuntura com veneno de abelha pode diminuir as células fosfo-Jun-imunorreativas induzidas por MPTP na substância negra, protegendo neurônios dopaminérgicos da toxicidade por MPTP e melhorando a disfunção comportamental, configurando-se como um método preventivo potencial para a DP.

Nesta perspectiva, Cho et al. (2012) realizaram estudo piloto em humanos associando a apitoxina com a acupuntura a fim de explorar a eficácia desta técnica, isolada e com veneno de abelhas, como terapia adjuvante para doença de Parkinson idiopática. Todos os 43 adultos envolvidos na pesquisa haviam feito uso de medicamento antiparkinsoniano por pelo menos um mês. Como resultado, o grupo tratado com acupuntura com veneno de abelhas mostrou melhora significativa na pontuação total da Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson

(UPDRS), bem como nos quesitos de atividades de vida diária e exame motor, e na escala de equilíbrio de Berg, enquanto os participantes que receberam apenas o tratamento com acupuntura isolada apresentaram melhoras significativas na pontuação total da UPDRS com ênfase somente no quesito exame motora e na escala de depressão de Beck, enquanto os controles não apresentaram nenhuma mudança significativa após as oito semanas de tratamento.

Assim, observa-se que a acupuntura e a acupuntura com veneno de abelhas mostraram resultados promissores como terapias adjuvantes para a doença de Parkinson, com destaque para o segundo grupo.

## CONCLUSÕES

Este trabalho reviu a literatura sobre apitoxina no que se refere as formas de coleta, composição química, propriedades biológicas e atividades terapêuticas. De maneira geral, observou-se os tipos de coleta existentes bem como o isolamento e a caracterização dos compostos bioativos da apitoxina, por meio de diferentes métodos de análise, onde foram relatados os benefícios e desvantagens de cada método. Em seguida, foi demonstrada sua composição química com ênfase para as características moleculares dos principais compostos do veneno e seu potencial terapêutico.

É possível observar que a apitoxina, por meio da sinergia dos compostos, bem como seus componentes de forma isolada, apresentam uma extensa aplicabilidade terapêutica em virtude das inúmeras propriedades biológicas, com destaque para as atividades: antiinflamatória, antinociceptiva, cicatrizante, antitumoral e neuroprotetora. Os resultados apresentados possibilitam maior conhecimento acerca deste produto e possibilitam o desenvolvimento de novas pesquisas na área para elucidar as aplicabilidades da apitoxina, uma vez que a utilização de recursos naturais configura-se como uma importante alternativa para a indústria farmacêutica que vem produzindo drogas mais eficazes, dotadas de maior seletividade contra várias condições patológicas e com menor incidência de efeitos não desejados.

Deste modo, é possível notar a efetividade da apitoxina como um potente recurso para o tratamento de diversas enfermidades, sobretudo as que acometem o SNC, desempenhando possível efeito neuroprotetor. Por fim, as vastas propriedades biológicas da apitoxina, e de seus principais componentes, fazem deste, um importante produto apícola com largo potencial de aplicabilidade terapêutica.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, R. M. M.; MORAES, R. L. M. S.; MATHIAS, M. I. C.. Biochemical and cytochemical studies of the enzymatic activity of the venom glands of workers of honey bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae). *Micron*, v.41, n.2, p.172-175, 2010.
- ALLAN, F. Nociceptors: The Cells That Sense Pain. PETROV, P.; FRANCISCHI, J. N.; FERREIRA, S. H. et al. tradutores. Ribeirão Preto-SP: Dor On Line; 2011.



ALHAZZAZI, T. Y.; KAMARAJAN, P.; VERDIN, E.; KAPILA, Y. L.. SIRT3 and cancer: tumor promoter or suppressor? **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1816, n.1, p.80-88, 2011.

AMIN, M. A.; ABDEL-RAHEEM, I. T.. Accelerated wound healing and anti-inflammatory effects of physically cross linked polyvinyl alcohol-chitosan hydrogel containing honey bee venom in diabetic rats. **Archives of Pharmacol Research**, 2013.

ALVAREZ-FISCHER D.A.; NOELKER, C.; VULINOVIĆ, F.; GRÜNEWALD, A.; CHEVARIN, C.; KLEIN, C.; OERTEL, W. H.; HIRSCH, E. C.; MICHEL, P. P.; HARTMANN, A.. Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a parkinson disease mouse model. **PLoS ONE**, v.8, n.4, e61700, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0061700>

AWALE, S.; LI, F.; ONOZUKA, H.; ESUMI, H.; TEZUKA, Y.; KADOTA, S.. Constituents of Brazilian red propolis and their preferential cytotoxic activity against human pancreatic PANC-1 cancer cell line in nutrient-deprived condition. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, n.1, p.181-189, 2008.

BANKOVA, V.. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization, **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1-2, p.114-117, 2005.

BANKS, B.E.; BROWN, C.; BURGESS, G. M.; BURNSTOCK, G.; CLARET, M.; COCKS, T. M.; JENKINSON, D. H.. Apamin blocks certain neurotransmitter-induced increases in potassium permeability, **Nature**, v.282, n. 5737, p. 415-417, 1979.

BENTON, A. W.; MORSE, R. A.; STEWART, J. D.. Venom Collection from Honey Bees. **Science**, v.142, n.3589, p.228-230, 1963.

BOGAART, G. V. D.; GUZMA' N, J. V.; MIKA, J. T.; POOLMAN, B.. On the Mechanism of Pore Formation by Melittin. **The Journal of Biological Chemistry**, v.283, n.49, p.33854-33857, 2008.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2012: Incidência de Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2011.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Revista Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CALIXTO, J. B.. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e Cultura**, v.55, n.3, p.37-39, 2003.

CARVALHO, W. A.; CARVALHO, R. D. S.; RIOS-SANTOS, F.. Analgésicos Inibidores Específicos da Ciclooxigenase-2: Avanços Terapêuticos. Specific Cyclooxygenase-2 Inhibitor Analgesics: Therapeutic Advances. **Revista Brasileira Anestesiologia**, v.54, n.3, p.448-464, 2004.

CASTRO, H. J.; MENDEZ-LNOCENCIO, J. I.; OMIDVAR, B.; OMIDVAR, J.; SANTILLI, J.; NIELSEN, H. S. JR.; PAVOT, A. P.; RICHERT, J. R.; BELLANTI, J. A.. A phase I study of the safety of honeybee venom extract as a possible treatment for patients with progressive forms of multiple sclerosis. **Allergy Asthma Proceedings**, v.26, n.6, p.470-476, 2005.

CHAFIOULEAS, J. G., BOTTON, W. E., MEANS, A. R.. Potentiation of bleomycin lethality by anti-calmodulin drugs: a role for calmodulin in DNA repair. **Science**, v.224, n.4655, p.1346-1348, 1984. DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.6203171>

CHANDRASEKHARAN, N. V.; DAI, H.; ROOS, K. L.; EVANSON, N. K.; TOMSIK, J.; ELTON, T. S.; SIMMONS, D. L.. COX-3, a cyclooxygenase- 1 variant inhibited by acetaminophen and other nalgesic/ antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.99, n.21, p.13926-13931, 2002.

CHEN, J.; LARIVIERE, W. R.. The nociceptive and anti-nociceptive effects of bee venom injection and therapy: A double-edged sword. **Progress in Neurobiology**, v.92, n.2, p.151-183, 2010.

CHO, S-Y.; SHIM, S-R.; RHEE, H. Y.; PARK, H-J.; JUNG, W-S.; MOON, S-K.; PARK, J-M.; KO, C-N.; CHO, K-H.; PARK, S-U.. Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v.18, n.8, p.948-952, 2012.

CHU, S. T., CHENG, H. H., HUANG, C. J., CHANG, H. C., CHI, C. C., SU, H. H., HSU, S. S., WANG, J. L., CHEN, I. S., LIU, S. I., LU, Y. C., HUANG, J. K., HO, C. M., JAN, C. R.. Phospholipase A<sub>2</sub>-independent Ca<sup>2+</sup> entry and subsequent apoptosis induced by melittin in human MG63 osteosarcoma cells. **Life Sciences**, v.80, n.4, p.364-369, 2007.

CHUNG, E. S.; KIM, H.; LEE, G.; PARK, S.; KIM, H.; BAE H.. Neuro-protective effects of bee venom by suppression of neuroinflammatory responses in a mouse model of Parkinson's disease: Role of regulatory T cells. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.26, n.8, p.1322-1330, 2012.

DADE, H. A.. **Anatomy and dissection of the honeybee**. 2 ed. Oxford: International Bee Research Association, 1994.

DAMACENA, J.F.V.; HELMER, L.A.; SANTOS, M.R. dos.. **Projeto técnico empreendedor**: Empresa Júnior apícola. Escola Agrotécnica Federal de Colatina, Espírito Santo, 2005. 22f.

DOO, A-R; KIM, S.T.; KIM, S-N; MOON, W.; YIN, C. S.; CHAE, Y.; PARK, H. K; LEE, H.; PARK, H. J.. Neuroprotective effects of bee venom pharmaceutical acupuncture in acute 1- methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridineinduced mouse model of Parkinson's disease. **Neurological Research**, v.32, p.88-91, 2010. Supplement 1.

DOTIMAS, E. M.; HIDER, R. C.. Honeybee venom. **Bee world**, v.2, p.51-71, 1987.

DUARTE, D. F.. Uma Breve História do Ópio e dos Opióides \*Opium and Opioids: A Brief History. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.55, n.1, p.135-146, 2005.

FERREIRA Jr., R. S.; SCIANI, J. M.; MARQUES-PORTO, R.; JUNIOR, A. L.; ORSI, R. de O.; BARRAVIERA, B.; PIMENTA, D. C.. Africanized honey bee (*Apis mellifera*) venom profiling: Seasonal variation of melittin and phospholipase A<sub>2</sub> levels. **Toxicon**, v.56, n.3, p.355-362, 2010.

FERRERO-MILIANI, L.; NIELSEN, O. H.; ANDERSEN, P. S.; GIRARDIN, S. E.. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. **Clinical and Experimental Immunology**, v.147, n.2, p.227-235, 2007.

FITZGERALD, G. A.; PATRONO, C.. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. **The New England Journal of Medicine**, v.345, n.6, p.433-442, 2001.

FITZGERALD, K. T.; FLOOD, A. A.. Hymenoptera Stings. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v.21, n 4, p.194-204, 2006.

FLORES, M. P; CASTRO, A. P. C. R.; NASCIMENTO, J. S.. Analgésicos Tópicos. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.62, n.2, p.244-252, 2012.

FRANCESE, S.; LAMBARDI, D.; MASTROBUONI, G.; LA MARCA, G.; MONETI, G.; TURILLAZZI, S.. Detection of honeybee venom in envenomed tissues by direct MALDI MSI. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v.20, n.1, p.112-123, 2009.

FREE, J. B.. **The social organization of honeybees**. 1 ed. São Paulo: EPU - Editora da Universidade de São Paulo, 1980.

FREEMAN, C. M.; CATLOW, C. R.; HEMMINGS, A. M.; HIDER, R. C.. The conformation of apamin. **FEBS Letters**, v.197, n.1-2, p.289-296, 1986.

FUNARI, S. R. C.; ZEIDLER, P. R.; ROCHA, H. C.; SFORCIN, J. M.. Venom production by africanized honey bees (*Apis mellifera*) and africanized-european hybrids. **Journal of Venomous Animals and Toxins**, v.7, n.2, p.190-198, 2001.

GRAMACHO, K. P.; MALASPINA, O.; PALMA, M. S.. Avaliação da produtividade de veneno em abelhas africanizadas pela utilização da técnica de coleta por estimulação elétrica. **Naturalia**, v.1, p.265, 1992.

HABERMANN, E.. Bee and Wasp venoms. **Science**, v.177, n.4046, p.314-322, 1972.

HAN, S.; LEE, K.; YEO, J.; KWEON, H.; WOO, S.; LEE, M.; BAEK, H.; KIM, S.; PARK, K.. Effect of honey bee venom on microglial cells nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production stimulated by LPS. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, n.1, p.176-181, 2007.

HAN, S.; LEE, K.; YEO, J.; KIM, W.; PARK, K.. Biological effects of treatment of an animal skin wound with honeybee (*Apis Mellifera* L.) venom. **Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery**, v.64, n.3, p.67-72, 2011.

HAN, S. M.; PARK, K. K.; NICHOLLS, Y. M.; MACFARLANE, N.; DUNCAN, G. Effects of honeybee (*Apis mellifera*) venom on keratinocyte migration *in vitro*. **Pharmacognosy Magazine**, v.9, n.35, p.220-226, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.113271>

HANSON, J. M.; MORLEY, J.; SORIA-HERRERA, C.. Anti-inflammatory property of 401 (MCD-peptide), a peptide from the venom of the bee *Apis mellifera* (L.). **British Journal of Pharmacology**, v.50, n.3, p. 383-392, 1974.

HARTGENS, F.; KUIPERS, H.; WIJNEN, J. A.; KEIZER, H. A.. Body composition, cardiovascular risk factors and liver function in long-term androgenic-anabolic steroids using bodybuilders three months after drug withdrawal. **International Journal of Sports Medicine**, v.17, n.6, p.429-433, 1996.

HERNÁNDEZ, R. V.. Aspectos toxicológicos y biomédicos del veneno de las abejas *Apis mellifera*. **Iatreia**, v.16, n.3, p.217-227, 2003.

HIDER, R. C.. HONEYBEE VENOM: A rich source of pharmacologically active peptides. **Endeavour, New Series**, v.12, n.2, p.60-65, 1988.

HORRIDGE, A.. What does an insect see? **The Journal of Experimental Biology**, v.212, n.17, p.2721-2729, 2009.

HU, H.; CHEN, D.; LI, Y.; ZHANG, X.. Effect of polypeptides in bee venom on growth inhibition and apoptosis induction of the human hepatoma cell line SMMC-7721 in-vitro and Balb/c nude mice in-vivo. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.58, n.1, p.83-89, 2006.

IASPI - International Association for the Study of Pain Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: a list with definitions and notes on usage. **Pain**, v.6, n.3, p.249-252, 1979.

JANG, M. H.; SHIN, M. C.; LIM, S.; HAN, S. M.; PARK, H. J.; SHIN, I.. Bee venom induces apoptosis and inhibits expression of cyclooxygenase-2 mRNA in human lung cancer cell line NCI-H1299. **Journal of Pharmacology Science**, v.91, n.2, p.95-104, 2003.

JEMAL, M.. High-throughput quantitative bioanalysis by LC/MS/MS, **Biomedical Chromatography: BMC**, v.14, n.6, p.422-429, 2000.

JO, M.; PARK, M.H.; KOLLIPARA, P.S.; AN, B.J.; SONG, H.S.; HAN, S.B.; KIM, J.H.; SONG, M.J.; HONG, J.T.. Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.258, n.1, p.72-81, 2012.

KARIMI, A.; AHMADI, F.; PARIVAR, K.; NABIUNI, M.; HAGHIGHI, S.; IMANI, S.; AFROUZI, H.. Effect of Honey Bee Venom on Lewis Rats with Experimental Allergic Encephalomyelitis, a Model for Multiple Sclerosis. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.11, n.2, p.671-678, 2012.

KEITH, D. J.; ESHLEMAN, A. J.; JANOWSKY, A.. Melittin stimulates fatty acid release through non-phospholipase-mediated mechanisms and interacts with the dopamine transporter and other membrane-spanning proteins. **European Journal of Pharmacology**, v.650, n.2-3, p.501-510, 2011.

KERR, W. E.. The history of the introduction of African bees to Brazil. **South African Bee Journal**, v.39, p. 3-5, 1967.

KIM, S. J.; PARK, J. H.; KIM, K. H.; LEE, W. R.; KIM, K. S.; PARK, K. K.. Melittin inhibits atherosclerosis in LPS/high-fat treated mice through atheroprotective actions. **Journal of Atherosclerosis Thrombosis**, v.18, n.12, p.1117-26, 2011a.

- KIM, S. J.; PARK, J. H.; KIM, K. H.; LEE, W. R.; PAK, S. C.; HAN, S. M.; PARK, K. K.. The Protective Effect of Apamin on LPS/Fat-Induced Atherosclerotic Mice. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2012, 2012: 305454. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/305454>
- KIM, J. I.; YANG, E. J.; LEE, M. S.; KIM, Y. S.; HUH, Y.; CHO, I. H.; KANG, S.; KOH, H. K.. Bee venom reduces neuroinflammation in the MPTP-induced model of Parkinson's disease. **The International Journal of Neuroscience**, v.121, n.4, p. 209-217, 2011b.
- KIM, K. W.; KIM, H. W.; LI, J.; KWON, Y. B.. Effect of bee venom acupuncture on methamphetamine-induced hyperactivity, hyperthermia and Fos expression in mice. **Brain Research Bulletin**, v.84, n.1, p.61-68, 2011c.
- KIRSCHNER, S.; KLEINEIDAM, C. J.; ZUBE, C.; RYBAK, J.; GRÜNEWALD, B.; RÖSSLER, W.. Dual olfactory pathway in the honeybee, *Apis mellifera*. **The Journal of Comparative Neurology**, v.499, n.6, p.933-952, 2006.
- KOKOT, Z. J.; MATYSIAK, J.; URBANIAK, B.; DEREZIŃSKI, P.. New CZE-DAD method for honeybee venom analysis and standardization of the product. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.399, n.7, p.2487-2494, 2011.
- KOYAMA, N.; HIRATA, K.; HORI, K.; DAN, K.; YOKOTA, T.. Computer-assisted infrared thermographic study of axon reflex induced by intradermal melittin. **Pain**, v.84, n.2-3, p.133-139, 2000.
- KOYAMA, N.; HIRATA, K.; HORI, K.; DAN, K.; YOKOTA, T.. Biphasic vasomotor reflex responses of the hand skin following intradermal injection of melittin into the forearm skin. **Eur J Pain**, v.6, n.6, p.447-453, 2002.
- KULKARNI, S. K.; JAIN, N. K.; SINGH, A.. Cyclooxygenase isoenzymes and newer therapeutic potential for selective COX-2 inhibitors. **Methods and Findings in Experimental Clinical Pharmacology**, v.22, n.5, p. 291-298, 2000.
- KWON, Y. B.; LEE, H. J.; HAN, H. J.; MAR, W. C.; KANG, S. K.; YOON, O. B.; BEITZ, A. J.; LEE, J. H.. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. **Life Sciences**, v.71, n.2, p.191-204, 2002.
- LARIVIERE, W. R.; MELZACK, R.. The bee venom test: a new tonic-pain test. **Pain**, v.66, n.2-3, p.271-277, 1996.
- LEE, J. H.; KWON, Y. B.; HAN, H. J.; MAR, W. C.; LEE, H. J.; YANG, I. S.; BEITZ, A. J.; KANG, S. K.. Bee venom pretreatment has both an antinociceptive and anti-inflammatory effect on carrageenan-induced inflammation. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.63, n.3, p. 251-259, 2001.
- LEE, J. D.; PARK, H. J.; CHAE, Y.; LIM, S.. An overview of bee venom acupuncture in the treatment of arthritis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2, n.1, p.79-84, 2005.
- LEE, S. M.; YANG, E. J.; CHOI, S. M.; KIM, S. H.; BAEK, M. G.; JIANG, J. H.. Effects of Bee Venom on Glutamate-Induced Toxicity in Neuronal and Glial Cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-9, 2012: 368196. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/368196>
- LEE, W.R.; KIM, S.J.; PARK, J.H.; KIM, K. H.; CHANG, Y. C.; PARK, Y. Y.; LEE, K. G.; HAN, S. M.; YEO, J. H.; PAK, S. C.; PARK, K. K.. Bee venom reduces atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory mechanism. **The American Journal of Chinese Medicine**, v.38, n.6, p.1077-1092, 2010.
- LI, B.; GU, W.; ZHANG, C.; HUANG, X. Q.; HAN, K. Q.; LING, C. Q.. Growth arrest and apoptosis of the human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402 induced by melittin. **Onkologie**, v.29, n.8-9, p.367-371, 2006.
- LIU, S.; YU, M.; HE, Y.; XIAO, L.; WANG, F.; SONG, C.; SUN, S.; LING, C.; XU, Z.. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. **Hepatology**, v.47, n.6, p.1964-1973, 2008.

LIU, X.; CHEN, D.; XIE, L.; ZHANG, R.. Effect of honey bee venom on proliferation of K1735M2 mouse melanoma cells in-vitro and growth of murine B16 melanomas in-vivo. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.54, n.8, p.1083-1089, 2002.

LORENZETTI, O. J.; FORTENBERRY, B.; BUSBY, E.. Influence of bee venom in the adjuvant-induced arthritic rat model. **Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology**, v.4, n.2, p.339-352, 1972.

MARCUCCI, M. C.. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. **Revista Química Nova**, v.19, n.5, p.529-536, 1996.

MATYSIAK, J.; SCHMELZER, C. E. H.; NEUBERT R. H. H.; KOKOT, Z. J.. Characterization of honeybee venom by MALDI-TOF and nanoESI-QqTOF mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.54, n.2, p.273-278, 2011.

MERLO, L. A.; BASTOS, L. F.; GODIN, A. M.; ROCHA, L. T.; NASCIMENTO, E. B. J. R.; PAIVA, A. L.; MORAES-SANTOS, T.; ZUMPANO, A. A.; BASTOS, E. M.; HENEINE, L. G.; COELHO, M. M.. Effects induced by *Apis mellifera* venom and its components in experimental models of nociceptive and inflammatory pain. **Toxicon**, v.57, n.5, p.764-771, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2011.02.010>

MEYER, C. R.; WIESE, H.. Breves noções de morfologia e anatomia das abelhas. In: WIESE, H. **Nova apicultura**. Porto Alegre: ed. Agropecuária, 1985. Cap. 3.

MICHENER, C. D.. **The bees of the world**. 2 ed. United States of America: The Johns Hopkins, 2007.

MIRSHAFIEY, A.. Venom therapy in multiple sclerosis. **Neuropharmacology**, v.53, n.3, p.353-361, 2007.

MITCHELL, A.. Africanized Killer bees: a case study. **Critical Care Nurse**, v.26, n.3, p.23-32, 2006.

MONTALVANI, A. P.; ARAÚJO, E. S.; BRANDEBURGO, M. A. M.. The effect of *A. mellifera* bee venom on tumour developed. Short Communication. **Bioscience Journal**, v.18, n.2, p.83-85, 2002.

MOON, D. O.; PARK, S. Y.; HEO, M. S.; KIM, K. C.; PARK, C.; KO, W. S.. Key regulators in bee venom-induced apoptosis are Bcl-2 and caspase-3 in human leukemic U937 cells through down regulation of ERK and Akt. **International Immunopharmacology**, v.6, n.12, p.1796-1807, 2006.

MOON, D. O.; PARK, S. Y.; LEE, K. J.; HEO, M. S.; KIM, K. C.; KIM, M. O.; LEE, J. D.; CHOI, Y. H.; KIM, G. Y.. Bee venom and melittin reduce proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. **International Immunopharmacology**, v.7, n.8, p.1092-1101, 2007.

MOURRE, C.; FOURNIER, C.; SOUMIREU-MOURAT, B.. Apamin, a blocker of the calciumactivated potassium channel, induces neurodegeneration of Purkinje cells exclusively. **Brain Research**, v.778, n.2, p.405-408, 1997.

NAM, K. W.; JE, K. H.; LEE, J. H.; HAN, H. J.; LEE, H. J.; KANG, S. K.; MAR, W.. Inhibition of COX-2 activity and proinflammatory cytokines (TNF-alpha and IL-1beta) production by water-soluble sub-fractionated parts from bee (*Apis mellifera*) venom. **Archives Pharmacology Research**, v.26, n.5, p.383-388, 2003.

NAMAKA, M.; CROOK, A.; DOUPE, A.; KLER, K.; VASCONCELOS, M.; KLOWAK, M.; GONG, Y.; WOJEWNIAK-SMITH, A.; MELANSON, M.. Examining the evidence: Complementary adjunctive therapies for multiple sclerosis. **Neurological Research**, v.30, n.7, p.710-719, 2008.

NOGUEIRA-COUTO, R. H.; COUTO, L. A.. Apicultura: manejo e produtos. 2. ed., Jaboticabal: FUNEP, 2002.

OBISPO, T.. Nuevos conceptos en la fabricación de extractos de veneno de himenópteros. **Alergología Inmunología Clínica**, v.17, p.215-220, 2002.

OGAWA, H.; KAWAKAMI, Z.; YAMAGUCHI, T.. Motor pattern of the stinging response in the honeybee *apis mellifera*. **The Journal of Experimental Biology**, v.198, n.1, p.39-47, 1995.

OKUMARA, K.; KATO, T.; ITO, J.; TANAKA, R.. Inhibition by calmodulin antagonists of glioblast DNA synthesis and morphological changes induced by glial maturation factor. **Brain Research**, v.255, n.4, p.662-667, 1982.



- OLIVEIRA, M. E. C.; PODEROSO, J. C. M.; FERREIRA, A. F.; RIBEIRO, G. T., ARAÚJO, E. D.. Apicultores do Estado de Sergipe, Brasil. **Scientia Plena**, v.6, n.1, p.1-7, 2010.
- ORŠOLIĆ, N.. Potentiation of Bleomycin lethality on HeLa and V79 cells by bee venom. **Archives of Industrial Hygiene and Toxicology**, v.60, p.317-326, 2009.
- ORŠOLIĆ, N.. Bee venom in cancer therapy. **Cancer Metastasis Reviews**, v.31, n.1-2, p.173-194, 2011.
- ORŠOLIĆ, N., SVER, L., VERSTOVSEK, S., TERZIC, S., BASIC, I.. Inhibition of mammary carcinoma cell proliferation in vitro and tumor growth in vivo by bee venom. **Toxicon**, v.41, n.7, p.861-870, 2003.
- OWNBY, C. L.; POWELL, J. R.; JIANG, M. S.; FLETCHER J. E.. Melittin and phospholipase A<sub>2</sub> from bee (*Apis mellifera*) venom cause necrosis of murine skeletal muscle in vivo. **Toxicon**, v. 35, n.1, p.67-80, 1997.
- PACÁKOVÁ, V.; ŠTULÍK, K.; HAU, P. T.; JELÍNEK, I.; VINŠ, I.; SY´KORA, D.. Comparison of highperformance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the determination of some bee venom components. **Journal of Chromatography A**, v.700, n.1-2, p.187-193, 1995.
- PACÁKOVÁ, V.; ŠTULÍK, K.. Validation of a method for determination of phospholipase A<sub>2</sub> and melittin in bee venom preparations by capillary electrophoresis, **Journal of AOAC International**, v.83, n.3, p.549-554, 2000.
- PARK, J. H.; KIM, K. H.; KIM, S. J.; LEE, W. R.; LEE, K. G.; PARK, K. K.. Bee venom protects hepatocytes from tumor necrosis factor- $\alpha$  and actinomycin D. **Archives Pharmacol Research**, v.33, n.2, p.215-223, 2010a.
- PARK, C.; LEE, D. G.. Melittin induces apoptotic features in *Candida albicans*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.394, n.1, p.170-172, 2010b.
- PARK, H. J.; LEE, S. H.; SON, D. J.; OH, K. W.; KIM, K. H.; SONG, H. S.; KIM, G. J.; OH, G. T.; YOON, D. Y.; HONG, J. T.. Antiarthritic Effect of Bee Venom - Inhibition of Inflammation Mediator Generation by Suppression of NF-KB Through Interaction With the p50 Subunit. **Arthritis & Rheumatism**, v.50, n.11, p.3504-3515, 2004.
- PARK, J. H.; KUM, Y. S.; LEE, T. I.; KIM, S. J.; LEE, W. R.; KIM, B.; KIM, H. S.; KYUNG, H. K.; PARQUE, K. K.. Melittin attenuates liver injury in thioacetamide-treated mice through modulating inflammation and fibrogenesis. **Experimental Biology and Medicine**, v.236, n.11, p 1306-1313, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1258/ebm.2011.011127>
- POPPLEWELL, J. F.; SWANN, M. J.; FREEMAN, N. J.; MCDONNELL, C.; FORD, RC.. Quantifying the effects of melittin on liposomes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1768, n.1, p.13-20, 2007.
- RATCLIFFE, N. A.; MELLO, C. B.; GARCIA, E. S.; BUTT, T. M.; AZAMBUJA, P.. Insect natural products and processes: New treatments for human disease. **Insect Biochemistry and molecular biology**, v.41, n.10, p.747-769, 2011.
- RIGHI, A. A.; ALVES, T. R., NEGRI, G.; MARQUES, L. M.; BREYER, H.; SALATINO, A.. Brazilian red propolis: unreported substances, antioxidant and antimicrobial activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, n.13, p.2363-2370, 2011.
- ROAT, T. C.; NOCELLI, R. C. F.; LANDIM, C. C.. The venom gland of queens of *Apis mellifera* (Hymenoptera, Apidae): morphology and secretory cycle. **Micron**, v.37, n.8, p.717-723, 2006.
- ROH, D. H.; KIM, H. W.; YOON, S. Y.; KANG, S. Y.; KWON, Y. B.; CHO, K. H.; HAN, H. J.; RYU, Y. H.; CHOI, S. M.; LEE, H. J.; BEITZ, A. J.; LEE, J. H.. Bee venom injection significantly reduces nociceptive behavior in the mouse formalin test via capsaicin-insensitive afferents. **The Journal of Pain**, v.7, n.7, p.500-512, 2006.
- RUSSELL, P. J.; HEWISH, D.; CARTER, T.; STERLING-LEVIS, K.; OW, K.; HATTARKI, M.; DOUGHTY, L.; GUTHRIE, R.; SHAPIRA, D.; MOLLOY, P. L.; WERKMEISTER, J. A.; KORTT, A. A.. Cytotoxic properties of immunoconjugates containing melittin-like peptide 101 against prostate cancer: *in vitro* and *in vivo* studies. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v.53, n.5, p.411-421, 2004.

- SANDOZ, J. C.. Behavioral and neurophysiological study of olfactory perception and learning in honeybees. **Frontiers in Systems Neuroscience**, v.5, n.98, p.1-20, 2011.
- SCHUMACHER, M. J.; EGEN, N. B.. Significance of Africanized bees for public health. **Archives of Internal Medicine**, v.155, n.19, p. 2038-2043, 1995.
- SCHUMACHER, M. J.; SCHMIDT, J. O.; EGEN, N. B.; LOWRY, J. E.. Quantity, analysis and lethality of European and Africanized honey bee venoms. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.43, n.1, p.79-86, 1990.
- SCIANI, J. M.; MARQUES-PORTO, R.; LOURENÇO Jr., A.; ORSI, R. de O.; FERREIRA-JUNIOR, R. S.; BARRAVIERA, B.; PIMENTA, D. C.. Identification of a novel melittin isoform from Africanized *Apis mellifera* venom. **Peptides**, v.31, n.8, p.1473-1479, 2010.
- SON, D. J.; LEE, J. W.; LEE, Y. H.; SONG, H. S.; LEE, C. K.; HONG, J. T.. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. **Pharmacology & Therapeutics**, v.115, n.2, p.246-270, 2007.
- SOUZA, D.C.. Importância Socioeconômica. In: SOUZA, D.C.. **Apicultura: Manual do Agente de Desenvolvimento Rural**. Brasília: SEBRAE, 2004. Cap. 4 e 5, p.35-41.
- SPOERRI, P.E.; JENTSCH, J.; GLEES, P.. Apamin from bee venom: effects of the neurotoxin on subcellular particles of neural cultures. **FEBS Letters**, v.53, n.2, p.143-147, 1975.
- SUMIKURA, H.; ANDERSEN, O.K.; DREWES, A.M.; ARENDT-NIELSEN, L.. A comparison of hyperalgesia and neurogenic inflammation induced by melittin and capsaicin in humans. **Neuroscience Letters**, v.337, n.3, p.147-150, 2003.
- SUMIKURA, H.; ANDERSEN, O.K.; DREWES, A.M.; ARENDT-NIELSEN, L.. Secondary heat hyperalgesia induced by melittin in humans. **European Journal of Pain**, v.10, n.2, p.121-125, 2006
- SUN, G. Y.; XU, J.; JENSEN, M. D.; SIMONYI, A.. Phospholipase A<sub>2</sub> in the central nervous system: implications for neurodegenerative diseases. **Journal of Lipid Research**, v.45, n.2, p.205-213, 2004.
- TRELLE, S.; REICHENBACH, S.; WANDEL, S.; HILDEBRAND, P.; TSCHANNEN, B.; VILLIGER, P. M.; EGGER, M.; JUNI, P.. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs: network meta-analysis. **BMJ Clinical research**, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.c7086>
- URHAUSEN, A.; TORSTEN, A.; WILFRIED, K.. Reversibility of the effects on blood cells, lipids, liver function and hormones in former anabolic-androgenic steroid abusers. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.84, n.2-3, p.369-375, 2003.
- WANG, G. L.; NA, J.; PAN, L. Z.; XING, Z.; FANG, H. J.. Ultrastructural observation on sterilization of melittin. **Science China Life Sciences**, v.54, n.2, p.166-170, 2011.
- WINSTON, M. L.. The Africanized "Killer" bee: biology and public health. **The Quarterly Journal of Medicine**, v.87, n.5, p.263-267, 1994.
- YAN, H.; LI, S.; SUN, X.; MI, H.; HE, B.. Individual substitution analogs of Mel (12-26), melittin's C-terminal 15-residue peptide: their antimicrobial and hemolytic actions. **FEBS Letters**, v.554, n.1-2, p.100-104, 2003.
- YANG, E. J.; JIANG, J. H.; LEE, S. M.; YANG, S. C.; HWANG, H. S.; LEE, M. S.; CHOI, S. M.. Bee venom attenuates neuroinflammatory events and extends survival in amyotrophic lateral sclerosis models. **Journal of Neuroinflammation**, v.7, p.69, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1742-2094-7-69>
- YANG, E. J.; KIM, S. H.; YANG, S. C.; LEE, S. M.; CHOI, S. M.. Melittin restores proteasome function in an animal model of ALS. **Journal of Neuroinflammation**, v.8, n.1, p.69-78, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1742-2094-8-69>
- YOON, S. Y.; YEO, J. H.; HAN, S. D.; BONG, D. J.; OH, B.; ROH, D. H.. Diluted bee venom injection reduces ipsilateral mechanical allodynia in oxaliplatin-induced neuropathic mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.36, n.11, p.1787-1793, 2013.

YUN, S. P.; SUN, B. C.. Apipuncture treatment for central post-stroke pain. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v.16, n.2, p.223-224, 2010.

ZHOU, J.; ZHAO, J.; ZHANG, S.; SHEN, J.; QI, Y.; XUE, X.; LI, Y.; WU, L.; ZHANG, J.; CHEN, F.; CHEN, L.. Quantification of melittin and apamin in bee venom lyophilized powder from *Apis mellifera* by liquid chromatography–diode array detector–tandem mass spectrometry. **Analytical Biochemistry**, v.404, n.2, p.171-178, 2010.

ZURIER, R. B.; MITNICK, H.; BLOOMGARDEN, D.; WEISSMANN, G.. Effect of bee venom on experimental arthritis. **Annals of the rheumatic diseases**, v.32, n.5, p.466-470, 1973.



Copyright of Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais is the property of CBPC - Companhia Brasileira de Producao Cientifica and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserv without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.