

# Apitoxina

## Apitoxin

Germano Leão Demolin Leite\*

Silma Leite Rocha\*

**Resumo:** Os produtos da colméia trouxeram contribuições importantes para a civilização humana, principalmente na saúde, na alimentação e, dentre os produtos utilizados, pode-se destacar o veneno das abelhas. Alguns aspectos da apitoxina como histórico, finalidade quanto ao uso humano e animal, reação alérgica, composição e a regulamentação de seu uso são apresentados nesta revisão.

**Palavras-chave:** Veneno de abelha, princípios ativos, medicina, veterinária

**Abstract:** Beehive's products brought important contributions to the human civilization, mainly for health and food. Among the utilized products stand out the bee's venom. Some aspects of apitoxin as history, purpose for human and animal use, allergic reaction, composition and the regulation of its use are showed in this revision.

**Key words:** Bee venom, active principle, medicine, veterinary science

---

\* Setor de Fitotecnia do Núcleo de Ciências Agrárias (NCA)/Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG); *e-mail*: gldleite@nca.ufmg.br

## Introdução

Os produtos da colméia representam algumas das contribuições mais importantes para a civilização humana e para o desenvolvimento econômico. É notável como essa espécie animal evoluiu para prover inúmeros produtos valiosos (Sakai & Matsuka, 1991; Broadhurst, 2001). Foram realizados mais estudos em abelhas que qualquer outra espécie de inseto. Esses estudos proveram um fluxo infinito de dados importantes para a compreensão da polinização, comunicação de insetos, a definição de inteligência, organização social e química orgânica.

Dentre os produtos apícolas, talvez o mais intrigante de todos seja o seu veneno. Esse produto tem sido utilizado na cidade de Beijing, na China, no tratamento de artrite. Nos EUA, companhias farmacêuticas têm manipulado o veneno de abelhas para confecção de remédios, até mesmo para esclerose múltipla (Mraz, 1993).

As propriedades curativas de veneno de abelha têm uma tradição muito longa. No antigo Egito, foram tratadas muitas doenças com unguento feito de abelhas. Hipócrates empregou picaduras de abelha nele próprio, além de Galen (130 D.C) e Charlemagne terem recebido tratamento semelhante em articulações com artrite. Likomskiy (1864) e Tere (1888) publicaram os primeiros estudos clínicos à respeito da influência de picadura de abelha em reumatismo (Beck, 1997).

Os apicultores relatam que as dores nas articulações parecem melhorar depois de terem sido picadas repetidamente por abelhas (Broadman, 1997). Porém, isso necessita de estudos mais profundos para verificação.

## Finalidade de veneno de abelha quanto ao uso humano e animal

O veneno é coletado usando uma caixa que se ajusta na entrada da colmeia, com uma superfície do piso eletrificada que estimula as abelhas a lançarem o ve-

veno nelas (Brandeburgo, 1992; Simics, 1999). Isso permite a coleta de um veneno puro injetável (Brandeburgo, 1992; Simics, 1999). A terapia tradicional envolve a aplicação de picaduras de abelha, durante um certo tempo, na área afetada do paciente. Gradualmente, são aumentados a frequência e número de picaduras até dessensibilização (imunidade para picaduras), sendo alcançado o máximo de benefícios artríticos (Rekka *et al.*, 1990; Yiangou *et al.*, 1993; Bech, 1997). O desenvolvimento de veneno injetável, em 1928, por Dr. Franz Kretschy, de Viena, fez com que os pacientes não tivessem que suportar o processo doloroso da picada, já que o veneno poderia ser aplicado, a partir de então, via subcutânea.

Um dos primeiros livros escritos relativos ao uso de veneno de abelha, *Terapia de veneno de Abelha* por B. Beck, lista muitos casos prósperos nos quais veneno de abelha melhorou significativamente, ou mesmo curou a artrite (Beck, 1997). Um hospital europeu informou que a aplicação de veneno de abelha em pontos de acupuntura produziu melhora significativa ou curou em 66% de casos tratados, como resultado de um período de três anos de tratamento. J. Broadman, em 1962, declarou que centenas de médicos no Oriente usavam veneno de abelha no tratamento de milhares de pacientes, obtendo bons resultados, sem uma complicação séria, efeito colateral, ou fatalidade. Porém, os médicos Ocidentais ainda não acreditam muito nisto, permanecendo céticos (Broadman, 1997).

O único modo para silenciar este ceticismo é com estudo científico com controles rígidos. Vários estudos foram realizados nos últimos vinte anos. O emprego de animais é um método popular de administrar tal pesquisa. Foram injetados vários agentes inflamatórios em articulações de ratos de laboratório para causar inflamação (induzindo artrite). Sendo que foi observado efeito deste veneno de abelha, reduzindo ou prevenindo o problema. Estudo administrado por Y. Chang e M. Bliven, por volta de 1979, observou que o veneno de abelha não só reduziu inflamação, mas preveniu o desenvolvimento de artrite em ratos. Foi administrada uma única dose de

veneno de abelha via subcutânea um dia anterior ou posterior à introdução da substância que induz artrite. O veneno de abelha suprimiu o desenvolvimento de artrite efetivamente (Beck, 1997; Broadman, 1997; Lee *et al.*, 2004). Os investigadores acreditaram que há dois mecanismos pelo menos responsáveis para este efeito: 1) alteração na resposta imune, e 2) ação antiinflamatória por cortisois naturalmente produzido (Lee *et al.*, 2004). O. Lorenzette, B. Fortenberry e E. Busby observaram resultados semelhantes em 1972. Sendo que, nesse experimento, o veneno da abelha foi administrado a ratos três vezes por semana, iniciando-se duas semanas antes ou uma semana depois da introdução da substância que induz à artrite. Estudos adicionais realizados por J. Eiseman, J. Von Bredow e One Alvares (1981) demonstraram que o veneno de abelha (quando administrado diariamente durante vinte e quatro dias) tem a habilidade de reduzir artrite em ratos (Beck, 1997; Broadman, 1997).

Cachorros artríticos (sofrendo de displasia coxofemural) foram estudados por J. VICK e colaboradores, em 1975. Nesse estudo, a atividade de cachorros enjaulados, como também o teor de cortisol no sangue de cachorros normais e artríticos foram avaliados antes, durante e depois da terapia com veneno de abelha. VICK e seus colegas observaram que a atividade de cachorros artríticos aumentou 70% depois de longo processo de terapia. O monitoramento sanguíneo indicou que o veneno de abelha estimulou a produção de cortisol (Beck, 1997; Broadman, 1997). Esse estudo foi repetido subsequentemente em outro grupo de cachorros, com resultados semelhantes. Tal estudo precisa ser visto com precaução, já que não é fácil extrapolar resultados de modelos animais para situações humanas.

Um grupo de 108 humanos com artrite, na Nova Jersey-EUA, que não tiveram melhoria com a terapia tradicional, foram tratados com veneno de abelha (cada paciente humano foi testado rigorosamente para possível alergia de veneno, anterior ao tratamento). O veneno de abelha foi administrado duas vezes por semana, em seis semanas. Não foram observados complicações ou efeitos colaterais sérios,

e a maioria dos pacientes mostrou uma melhoria no final do tratamento. A pesquisa concluiu que a terapia com veneno de abelha é efetiva, contanto que o paciente não seja alérgico ao veneno (Beck, 1997; Broadman, 1997; Lee *et al.*, 2004).

Apesar destes resultados científicos encorajadores, mais pesquisa é necessária, especialmente com modelos humanos, antes que a comunidade médica passe a usar o veneno de abelha como um tratamento para artrite. Outra área que precisa de investigação adicional é o possível uso dos componentes individuais, ao invés de uso de veneno inteiro: isto pode provar uma alternativa mais segura com os componentes alérgicos removidos. A atividade farmacológica de componentes de veneno de abelha também necessita de investigação adicional (Beck, 1997; Broadman, 1997). A comunidade médica tem obrigação de empreender investigações para que se conheça o potencial do veneno, com a finalidade de aliviar a dor de pacientes com artrite.

Porém, a mesma expansão da terapia de veneno de abelha em doenças reumáticas só começou nos anos vinte do século passado, e logo o uso de veneno de abelha esparramou ao longo da Europa. Na América, Beck foi quem iniciou o uso da apiterapia, em 1934, como observado em sua monografia (Beck, 1997). Entretanto, o declínio da apiterapia teve como causa o fato de que, por um lado, havia um entusiasmo quase místico e, por outro lado, uma repugnância teimosa de clínicos em acreditar neste tipo de tratamento. Além disso, muitas soluções utilizando o veneno de abelha feitas até agora tiveram muito freqüentemente um caráter puramente comercial e conteúdo duvidoso de substância eficiente, ou a composição deste foi mantida em segredo pelos fabricantes. Se deseja alcançar uma certa avaliação clínica de apiterapia, não se deve considerar o veneno de abelha uma panacéia para todo tipo de reumatismo, mas sim uma nova possibilidade para o tratamento de doenças reumáticas (Beck, 1997; Broadman, 1997).

Em resumo, a apiterapia tem sido usada para determinados problemas de saúde, tais como:

- 1) **Pele:** eczema, úlceras tópicas e verrugas (Goldberg *et al.*, 1994).
- 2) **Infecções:** laringite, mastites (Goldberg *et al.*, 1994).
- 3) **Viral:** herpes simples do tipo 1 e 2, neuralgia pos-to-hepática (cobreiro), verrugas (Goldberg *et al.*, 1994).
- 4) **Reumatológica:** artrite reumática, osteoartrite, artrite reumática juvenil, artrite traumática, bursites (Goldberg *et al.*, 1994; Won *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2004).
- 5) **Cardiovascular:** hipertensão, (crônico e agudo), arritmias, arteriosclerose, doença vascular periférica, veias varicosas, distrofia miotônica (Behrens *et al.*, 1994).
- 6) **Pulmonar:** Doença Pulmonar Obstrutiva crônica (COPD), enfisema, asma (Goldberg *et al.*, 1994).
- 7) **Sensório:** perda de audição, viso, glaucoma, diplopia, iritis (Goldberg *et al.*, 1994; Wagner, 2000).
- 8) **Ortopédico:** estimula a ossificação (Goldberg *et al.*, 1994).
- 9) **Psicológico:** depressão, mudanças no humor (Goldberg *et al.*, 1994).
- 10) **Endócrino:** PMS, câimbras menstruais, períodos irregulares, redução no teor de açúcar no sangue (Goldberg *et al.*, 1994).
- 11) **Câncer:** Melitina como inibidora de câncer ovariano (Kikuchi *et al.*, 1989).
- 12) **Antibiótica:** Melitina tem efeito antibiótico (Andreu *et al.*, 1992).
- 13) **Sistema Nervoso:** Contra esclerose múltipla (Mraz, 1993; Simics, 1998; Roy, 2000).

Efeitos da apiterapia constados em animais:

- 1) **Endócrino:** Hyaluronidases envolvidos na membrana

protéica de espermatozóides de mamíferos, aumentando a produção de esperma (Gmachl & Krell, 1993; Thaler & Cardullo, 1995); atua também na glândula mamária de bovinos (Kato, 1994).

- 2) **Sistema nervoso:** analgésico em ratos.

- 3) **Anticâncer:** aumento na sobrevivência de ratos tratados com veneno de abelhas quando expostos ao raio X.

- 4) **Aberrações cromossômicas:** veneno de abelha reduz o número de aberrações cromossômicas em ratos, expostos à radiação gama (Varanda *et al.*, 1992).

- 5) **Reumatológica:** veneno de abelha é 100 vezes mais poderoso que hidrocortisona em ratos.

- 6) **Antiinflamatória:** mais eficiente que culofosfamida (Lee *et al.*, 2004; Roh *et al.*, 2004).

#### **Problemas com veneno**

Têm sido observados, principalmente entre apicultores, problemas alérgicos advindos do uso de remédios antiinflamatórios não esteróides como Motrin, Ibuprofina, Tylenol, Fenoprenos, Naproxeno, Ketoprofeno, Voltaren, entre outros, após a ocorrência de picadas de abelha. Os apicultores deveriam pensar duas vezes antes de tomar algum remédio antiinflamatório, pois têm sido observados, nos EUA, casos de apicultores imunes à picada de abelha que, após ser submetido ao tratamento utilizando os remédios citados acima, sofreram reações alérgicas após picada de abelha ou mesmo de vespas. Pelo menos 3% das pessoas que utilizavam o remédio antiinflamatório Motrin sofreram de erupção cutânea, vertigem e se coçaram após picada de abelha (Roy, 2000; Simics, 2000).

Veneno de abelha tem diferentes efeitos no corpo humano. A pessoa que não é hipersensível a picaduras de abelha, quando toma até cinco picadas, o local da picada incha e fica vermelhado e começa a coçar (Price & Safko, 1987; Anfosso *et al.*, 1990; Simics, 2000). Inicialmente, os sintomas são pouco dolorosos e

depois mudam para uma sensação agradável e morna. Cinquenta a cem picaduras podem causar uma câimbra, brevidade temporária de respiração, a pele pode ficar azulada ou rapidamente se tem uma pequena paralisia temporária. Duzentas ou mais picadas podem causar paralisia do sistema respiratório. Algumas pessoas podem tolerar mais de 1000 picaduras. Em um caso notável, um indivíduo recebeu 2243 picaduras e não morreu. Muitos adultos receberam mil picadas e sobreviveram. Uma estimativa grosseira seria que os  $DL_{50}$  (dosagem letal para 50% da população) em humanos adultos é de aproximadamente 1000 a 1100 picaduras. Por outro lado, se sabe, por meio de relatórios, que 100 a 300 picaduras de abelha tiveram um efeito fatal em alguns indivíduos mais sensíveis. Às vezes, para uma pessoa que é hipersensível, basta uma picada para que desencadeie uma reação séria ou fatal (Simics, 2000).

A picada de abelha, em certos casos, pode ter efeito tóxico muito forte em humanos. Aproximadamente 0,5% a 2% da população são hipersensíveis a picadura de inseto, mas freqüentemente se lê em relatórios e em jornais de 4% a 5%. Essas diferenças vêm dos vários métodos usados em estudos de população e o que define de hipersensível. Porém, 0,1% a 2% de hipersensíveis é uma estimativa que médicos concordam (Straight & Glenn, 1993; Day *et al.*, 1994; Ferreira *et al.*, 1994; França *et al.*, 1994; Schumacher *et al.*, 1994). Geralmente, o primeiro sintoma é coceira nas palmas das mãos, aproximadamente dois minutos após a picadura e nos próximos minutos a sensação de coceira se esparrama por todo o corpo, chegando à face (Simics, 2000). O pescoço e a face começam a inchar, a pulsação aumenta a freqüência e a pessoa sua bastante e ocorre vertigem. O estado mental confuso que às vezes ocorre é devido à falta de sangue (oxigênio) no cérebro. A glote pode fechar (asfixiando-se) culminando em choque anafilático (Till *et al.*, 2004). Essa falta de oxigênio pode levar à morte cerebral ou de outros tecidos, como necrose do miocárdio (Ferreira *et al.*, 1995). É muito importante remover o ferrão assim que possível. É melhor

removê-lo com um par de pinças, mas se isto não é possível, deve-se retirá-lo raspando com a unha ou faca. Nunca se deve apertar o saco de veneno do ferrão, porque o veneno entrará mais ainda na ferida. Se for possível, deve administrar um antiestamínico ou produto à base de cortisona. Entretanto, com a extração (Brandeburgo, 1992), estudo de análogos (Ramalingam & Bello, 1992; Ramalingam *et al.*, 1992; King *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 1994) e fracionamento do veneno de abelha (Azhitskii & Azhitskii, 1993; Bradshaw *et al.*, 1994; Qi *et al.*, 1994) tem possibilitado o desenvolvimento de antídoto às picaduras de abelhas (Frew, 1993; Tretter *et al.*, 1993; Kolbe *et al.*, 1994; Liu *et al.*, 1994; Lobo & Hault, 1994; Lozano *et al.*, 1994, Schneider *et al.*, 1994 a, b).

### Composição do veneno de abelha

A composição do veneno de abelha não é precisamente conhecida e não se conhecem todos os mecanismos de sua ação terapêutica. Porém, os componentes mais importantes desta mistura de numerosas substâncias parecem ser histamina, lecitinase e hialuronidase (Beck, 1997). Substâncias de histamina provocam dor local, edema e hiperemia. Esse vasodilatador atua no sistema de axon-reflexos, tendo efeito positivo quanto à inflamação crônica, aumentando o metabolismo do tecido e, conseqüentemente, eliminando produtos inflamatórios nocivos.

Lecitinase transforma lecitina em lisolecitina (fosfolipase B) (Wysoke *et al.*, 1990; Prenner *et al.*, 1992; Hollander *et al.*, 1993; Carballido *et al.*, 1994) que tem forte efeito hemolítico, destruindo as células do tipo eritrócitas e outras células do tecido, como também tem efeito carcinogênico no pâncreas (Hanada *et al.*, 1995). Hialuronidase age esparramando o ácido hialurônico no tecido conjuntivo. Outras substâncias de caráter protéico são portadoras de propriedades antigênicas. Esses compostos apresentam uma ação de proteína não-específica que altera a sensibilidade e mecanismos imunológicos do corpo.

Veneno de abelha consiste dos compostos, até o momento conhecidos, listados abaixo :

1) Melitina: Substância de elevada ação antiinflamatória. A melitina ocasiona dor e coceira, tem poderoso efeito bactericida (Andreu *et al.*, 1992) e propriedades citotóxicas (Doltchinkova *et al.*, 2003), desencadeando sinais de inflamação devido ao lançamento de histamina, que, por sua vez, estimula o pituitário a lançar ACTH, que estimula as glândulas supra-renais para produzir cortisol. Parte da própria resposta curativa do corpo é 100 vezes mais potente como um agente antiinflamatório que hidrocortisol, quando testado em ratos com artrite. A melitina também tem atividade hemolítica (Smith & Clark, 1992; King *et al.*, 1993) e ocasiona disjunções cardiovasculares (Okamoto *et al.*, 1995; Cerne *et al.*, 2000).

2) Peptídeos: Polipeptídeo de degranulação de mastócitos, células de defesa do organismo, lança histamina criando sinais de inflamação (inchaço e coceira, vermelhidão, calor), sendo que este composto, em testes com ratos, aumentou a memória a curto prazo (Beck, 1997).

3) Apamina: bloqueia os canais de  $Ca^{+2} + K$  durante a transmissão sináptica nos nervos (Sokol *et al.*, 1994; Wadsworth *et al.*, 1994; Xu & Nelson, 1994).

4) Hialuronidase: Solta a substância conhecida como ácido hialurônico que conecta uma célula a outra (espaço extra-celular), tornando assim mais permeável. Isso facilita a entrada de substâncias curativas para e a eliminação de substâncias tóxicas em uma área danificada (Beck, 1997).

5) Dopamina: um neurotransmissor que aumenta a atividade motora. É deficiente nos pacientes de Parkinson e excessivo em pacientes psicopatas tratados com drogas neurolepticas (Beck, 1997).

6) Dopamine: Esta substância, junto com a Serotonina e com a catecolamina, é implicada como fatores responsáveis pela depressão.

7) Adolapina (neurotransmissor): Tem efeito analgésico.

### Regulamentação

Para fixação de identidade e qualidade de apitoxina, foi aprovado pelo secretário de defesa agropecuária e publicado na DOU de 23/01/01 a Instrução Normativa: Regulamentos Técnicos e identidade e qualidade da Apitoxina que estabelece o seguinte:

1) Procurou estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deve atender à apitoxina, destinada ao comércio nacional ou internacional, a ser utilizada como matéria-prima para fins opoterápicos.

2) Apitoxina foi definida como sendo o produto de secreção das glândulas abdominais das abelhas operárias e armazenado no interior da bolsa de veneno.

3) Classificação da apitoxina de acordo com apresentação do produto em:

a) Apitoxina na forma de pó amorfo.

b) Apitoxina na forma cristalizada.

4) Designação de venda: Apitoxina.

5) Composição: água e substâncias ativas, como a apamina, melitina, fosfolipase, hialuronidase e aminoácidos.

6) Características sensoriais próprias ao produto

7) O acondicionamento do produto deverá ser feito com materiais adequados para as condições de armazenamento e que lhe confirmem proteção apropriada contra contaminação.

8) Requisitos físico-químico:

a) Umidade: máxima 3%.

b) Teor protéico: 50% a 85%.

- c) Fosfolipase A: 17 a 19 U/mg proteína.
- d) O produto deverá ser acondicionado com materiais adequados para as condições de armazenamento e que lhe confiram uma proteção apropriada contra a contaminação.
- 9) Não se autoriza a utilização de aditivo.
- 10) As quantidades de contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar em quantidades superiores aos limites estabelecidos pelo Regulamento específico vigente.
- 11) As práticas de higiene para a elaboração do produto devem estar de acordo com o Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Elaboradores industrializadores de Alimentos- Portaria nº 368, de 04/09/97-MA.
- 12) O produto não deverá conter matérias estranhas, de qualquer natureza.
- 13) Quanto à rotulagem, aplica-se o Regulamento específico, além de dever constar a expressão matéria-prima destinada exclusivamente a fins opoterápicos, com o devido destaque no rótulo.
- 14) As análises são feitas de acordo com os Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produto de Origem Animal e seus Ingredientes. Portaria nº 001/81-07/10/1981. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. Arlington, AOAC, 1992.

### Conclusões

As possibilidades do uso terapêutico do veneno de abelha são inúmeras, mas muitas ainda necessitam de comprovação científica. No Brasil, ainda são poucas as pesquisas com apitoxina, bem como veneno de vespas, basicamente se concentrando na Universidade Federal de São Carlos, requerendo uma maior envergadura, tanto por parte dos órgãos oficiais de

fomento à pesquisa, dos pesquisadores e da comunidade médica.

### Referências bibliográficas

- ANDREU, D.; UBACH, J.; BOMAN, A.; WAHLIN, B.; WADE, D.; MERRIFIELD, R. B.; BOMAN, H.G. Shortened cecropin A-melittin hybrids. Significant size reduction retains potent antibiotic activity. *FEBS-Letters*, v.96, n.2, p. 190-194, 1992.
- ANFOSSO, C.F.; PHILIP-JOET, F.; REYNAUD-GAUBERT, M.; ARNAUD, A.; CAPRA, F.A.; JOET, F.P.; GAUBERT, M.R. Occurrence of cold urticaria during venom desensitization. *Dermatologica*, v.180, n.4, p. 277, 1990.
- AZHITSKII, G.YU; AZHITSKII, D.G. Development of highly efficient method of bee venom components separation. *Ukrainskii Biokhimicheskii Zhurnal*, v.65, n.4, p. 7-11, 1993.
- BECK, B.F. *The bible of bee venom therapy: bee venom, its nature, and its effect on arthritic and rheumatoid conditions*. New York: Health Resources Press, 1997. 260p.
- BEHRENS, M.I.; JALIL, P.; SERANI, A.; VERGARA, F.; ALVAREZ, O. Possible role of apamin-sensitive K<sup>+</sup> channels in myotonic dystrophy. *Muscle & Nerve*, v.17, n.11, p. 1264-1270, 1994.
- BRADSHAW, J.P.; DEMPSEY, C.E.; WATTS, A. A combined X-ray and neutron diffraction study of selective deuterated melittin in phospholipid bilayers: Effect of pH. *Molecular Membrane Biology*, v.11, n.1, p. 79-86, 1994.
- BRANDEBURGO, M.A.M. A safe device for extracting venom from honey bees. *Bee World*, v.73, n.3, p. 128-130, 1992.
- BROADMAN, J. *Bee venom: the natural curative for arthritis and rheumatism*. New York: Health Resources Press, 1997. 220p.

BROADHURST, C.L. *Health and healing with bee products*. Vancouver: Alive Books, 2001. 60p.

CARBALLIDO, J.M. CARBALLIDO-PERRIG, N.; OBERLI-SCHRAMMLI, A.; HEUSSER, C.H.; BLASER, K. Regulation of IgG4 responses by allergen specific T-cell clones to bee venom phospholipase A2 in vitro. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.93, n.4, p. 758-767, 1994.

CERNE, K.; DREVENSEK, G.; BUDIHNA, M.V. Lacidipine decreases the honeybee venom-induced vasoconstriction of the isolated porcine coronary artery. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*, v.440, n.5, p.139-140, 2000.

DAY, J.H.; BUCKERIDGE, D.L.; WELSH, A.C. Risk assessment in determining systemic reactivity to honeybee stings in sting-threatened individuals. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.93, n.4, p. 691-705, 1994.

DOLTCHINKOVA, V.; GEORGIEVA, K.; TRAYTCHEVA, N.; SLAVOV, C.; MISHEV, K. Melittin-induced changes in thylakoid membranes: particle electrophoresis and light scattering study. *Biophysical Chemistry*, v.109, n.4, p.387-397, 2003.

FERREIRA, D.B.; COSTA, R.S.; OLIVEIRA, J.S.M.; MUCCILLO, G. Cardiac noredranaline in experimental rat envenomation with Africanized bee venom. *Experimental and Toxicologic Pathology*, v.45, n.8, p. 507-511, 1994.

FERREIRA, D.B.; COSTA, R.S.; OLIVEIRA, J.S.M.; MUCCILLO, G. Na infarct-like myocardial lesion experimentally induced in Wistar rats with Africanized bee venom. *Journal of Pathology*, v.177, n.1, p. 95-102, 1995.

FRANÇA, F.O.S.; BENVENUTI, L.A.; FAN, H.W.; DOS SANTOS, D.R.; HAIN, S.H.; PICCHI-MARTINS, F.R.; CARDOSO, J.L.C.; KAMIGUTI, A.S.; THEAKSTON, R.D.G.; WARREL, D.A. Severe and fatal mass attacks by 'killer' bees (Africanized honey bee-*Apis mellifera*

*scutellata*) in Brazil: Clinicopathological studies with measurement of serum venom concentrations. *QJM*, v.87, n.5, p. 269-282, 1994.

FREW, A.J. Injection immunotherapy. *British Medical Journal*, v.307, p. 919-923, 1993.

GMACHL, M.; KREIL, G. Bee venom hyaluronidase is homologous to a membrane protein of mammalian sperm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.90, n.8, p. 3569-3573, 1993.

GOLDBERG, A.; CONFINO-COHEN, R.; MEKORI, Y.A. Deliberate bee sting challenge of patients receiving maintenance venom immunotherapy at 3-month intervals. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.93, n.6, p. 997-1001, 1994.

HANADA, K.; KINOSHITA, E.; ITOH, M.; HIRATA, M.; KAJIYAMA, G.; SUGIYAMA, M. Human pancreatic phospholipase A-2 stimulates the growth of human pancreatic cancer cell line. *FEBS Letters*, v.373, n.1, p. 85-87, 1995.

HOLLANDER, T.; AEED, P.A.; ELHAMMER, A.P. Characterization of the oligosaccharide structures on bee venom phospholipase A2. *Carbohydr. Res.*, v.247, p. 291-297, 1993.

KATOH, N. Induction by melittin of protein phosphorylation in bovine mammary gland and suppression of the phosphorylation by phosphatidylserine. *Toxicology*, v.94, n.1-3, p. 119-129, 1994.

KING, T.P.; COSCIA, M.R.; KOCHOUMIAN, L. Structure-immunogenicity relationship of melittin and its N-terminal truncated analogs. *Biochemistry*, v.32, n.13, p. 3506-3510, 1993.

KING, T.P.; WADE, D.; COSCIA, M.R.; MITCHELL, S.; KOCHOUMIAN, L.MERRIFIELD, B. Structure-immunogenicity relationship of melittin, its transposed analogue, and D-Melittin. *Journal of Immunology*, v.53, n.3, p. 1124-1131, 1994.



- KIKUCHI, Y.; MIYAUCHI, M.; NAGATA, I. Inhibition of human ovarian cancer cell proliferation by calmodulin inhibitors and the possible mechanism. *Gynecologic Oncology*, v.35, p. 156-158, 1989.
- KOLBE, L.; HEUSSER, C.; KOELSCH, E. Epitope-dependent nonreciprocal regulation of IgE and IgG2a antibody formation. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.103, n.2, p. 214-216, 1994.
- LEE, J.D.; KIM, S.Y.; KIM, T.W.; LEE, S.H.; YANG, H.L.; LEE, D.L.; LEE, Y.H. Anti-inflammatory effect of bee venom on type II collagen-induced arthritis. *American Journal of Chinese Medicine*, v.32, n.3, p.361-367, 2004.
- LIU, L.; YAN, H.; NI, A.; CHENG, X.; HE, B. Interaction of calmodulin with synthetic deletion peptides of melittin. *International Journal of Peptide and Protein Research*, v.43, n.1, p. 107-112, 1994.
- LOBO, I.B.; HOULT, J.R.S. Groups I, II and III extracellular phospholipases A-2: Selective inhibition of group II enzymes by indomethacin but not other NSAIDs. *Agents and Actions*, v.41, n.1-2, p. 11-113, 1994.
- LOZANO, R.M.; YEE, B.C.; BUCHANAN, B.B. Thioredoxin-linked reductive inactivation of venom neurotoxin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v.309, n.2, p. 356-362, 1994.
- MRAZ, C. Bee venom therapy for multiple sclerosis. *American Bee Journal*, v.133, n.3, p. 192, 1993.
- OKAMOTO, T.; ISODA, H.; KUBOTA, N.; TAKAHATA, K.; TAKAHASHI, T.; KISHI, T.; NAKAMURA, T.Y.; MUROMACHI, Y.; MATSUI, Y.; GOSHIMA, K. Melitin cardiotoxicity in cultured mouse cardiac myocytes and its correlation with calcium overload. *Toxicology and Applied Pharmacology*, v.133, n.1, p. 150-163, 1995.
- PRENNER, C.; MACH, L.; GLOSSL, J.; MARZ, L. The antigenicity of the carbohydrate moiety of an insect glycoprotein, honey-bee (*Apis mellifera*) venom phospholipase A2. The role of alpha 1,3-fucosylation of the asparagines-bound N-acetylglucosamine. *Biochemical Journal of London*, v. 284, n.2, p. 377-380, 1992.
- PRICE, L.A.; SAFKO, M. Bee venom allergy in a patient with urticaria pigmentosa. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.79, n.2, p. 407-409, 1987.
- QI, S.; ZHU, T.; ZHAO, T.; FANG, X.; SUN, Y. Purity control of different bee venom melittin preparations by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography B Biomedical Applications*, v.658, n.2, p. 397-403, 1994.
- RAMALINGAN, K.; BELLO, J. Effect of permethylation on the haemolytic activity of melittin. *Biochemical Journal of London*, v.284, n.3, p. 663-665, 1992.
- RAMALINGAN, K.; AIMOTO, S.; BELLO, J. Conformational studies of anionic melittin analogues: effect of peptide concentration, pH, ionic strength, and temperature: models for protein folding and halophilic proteins. *Biopolymers*, v.32, n.8, p. 981-992, 1992.
- REKKA, E.; KOUROUNAKIS, L.; KOUROUNAKIS, P. Antioxidant activity of and interleukin production affected by honey bee venom. *Arzneimittel Forschung*, v.40, n.8, p. 912-913, 1990.
- ROH, D.H.; KWON, Y.B.; KIM, H.W.; HAM, T.W.; YOON, S.Y.; KANG, S.Y.; HAN, H.J.; LEE, H.J.; BEITZ, A.J.; LEE, J.H. Acupoint stimulation with diluted bee venom (apipuncture) alleviates thermal hyperalgesia in a rodent neuropathic pain model: Involvement of spinal alpha(2)-adrenoceptors. *Journal of Pain*, v.5, n.6, p.297-303, 2004.
- ROY, L. Enhancing sclerolysis with bee venom. *Journal of the American Apitherapy Society*, v.6, n.3, p.33-41, 2000.
- SAKAI, T.; MATSUKA, M. Honeybee products and our health. *Honeybee-Science*, v.12, n.3, p. 97-102, 1991.
- SCHUMACHER, M.J.; TVETEN, M.S.; EGEN, N.B. Rate and quantity of delivery of venom from honeybee

- stings. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.93, n.5, p. 831-835, 1994.
- SCHNEIDER, T.; DUDLER, T.; GELB, M.H.; SUTER, M. Lysine residues in bee venom phospholipase A-2 are important for binding to human monoclonal or polyclonal antibodies of the IgG4 isotope. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.104, n.3, p. 262-269, 1994a.
- SCHNEIDER, T.; LANG, A.B.; CARBALLIDO, J.M.; BABI, L.F.S.; DUDLER, T.; KAGI, M.K.; BLASER, K.; SUTER, M. Human monoclonal or polyclonal antibodies recognize predominantly discontinuous epitopes on bee venom phospholipase A-2. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.94, n.1, p. 61-70, 1994b.
- SIMICS, M. *Bee venom therapy and multiple sclerosis*. Richmond: Apitherapy Education Service, 1998. 40p.
- SIMICS, M. *Bee venom collector devices*. Richmond: Apitherapy Education Service, 1999. 28p.
- SIMICS, M. *Symptoms of honeybee venom*. Richmond: Apitherapy Education Service, 2000. 40p.
- SMITH, L.J.; CLARK, D.C. Measurement of the secondary structure of adsorbed protein by circular dichroism. 1. Measurement of the helix content of adsorbed melittin. *Biochim. Biophys. Acta Int. J. Biochem. Biophys.*, v.1121, n.1/2, p. 111-118, 1992.
- SMITH, R.; SEPAROVIC, F.; MILNE, T.J.; WHITTAKER, A.; BENNETT, F.M.; CORNELL, B.A.; MAKRIYANNIS, A. Structure and orientation of the pore-forming peptide, melittin, in lipid bilayers. *Journal of Molecular Biology*, v.241, n.3, p. 456-466, 1994.
- SOKOL, P.T.; HU, W.; YI, L.; TORAL, J.; CHANDRA, M.; ZIAI, M.R. Cloning of an apamin binding protein of vascular smooth muscle. *Journal of Protein Chemistry*, v.13, n.1, p. 117-128, 1994.
- STRAIGH, R.C.; GLENN, J.L. Human fatalities caused by venomous animals in Utah, 1900-90. *Great Basin Naturalist*, v.53, n.4, p. 390-394, 1993.
- TILL, S.J.; FRANCIS, J.N.; NOURI-ARIA, K.; DURHAM, S.R. Molecular mechanisms in allergy and clinical immunology. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.113, n.6, p.1025-1034.
- THALER, C.D.; CARDULLO, R.A. Biochemical characterization of a glycosylphosphatidylinositol-linked hyaluronidase on mouse sperm. *Biochemistry*, v.34, n.24, p.7788-7795, 1995.
- TRETTER, V.; ALTMANN, F.; KUBELKA, V.; MAERZ, L.; BECKER, W.M. Fucose alpha-1,3-linked to the core region of glycoprotein N-Glycans creates an important epitope for IgE from honeybee venom allergic individuals. *International Archives of Allergy and Immunology*, v.102, n.3, p. 259-266, 1993.
- VARANDA, E.A.; TAKAHASHI, C.S.; SOARES, A.E.E.; BARRETO, S.A.J. Effect of *Apis mellifera* bee venom and gamma radiation on bone marrow cells of Wistar rats treated in vivo. *Revista Brasileira de Genética*, v.15, n.4, p. 807-819, 1992.
- WADSWORTH, J.D.F.; DOORTY, K.B.; SRONG, P.N. Comparable 30-kDa apamin binding polypeptides may fulfill equivalent roles within putative subtypes of small conductance Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels. *Journal of Biological Chemistry*, v.269, n.27, p. 18053-18061, 1994.
- WAGNER, P. Provisional patent granted for bee venom eye drops. *Journal of the American Apitherapy Society*, v.6, n.4, p.1-4, 2000.
- WON, C.H.; HONG, S.S.; KIM, C.M.H. Efficacy of apitox (bee venom) for osteoarthritis: a randomized active-controlled trial. *Journal of the American Apitherapy Society*, v.7, n.3, p.53-60, 2000.
- WYSOKE, J.M.; VAN DEN BERG, P.B.; MARSHALL, C. Bee sting-induced haemolysis, spherocytosis and neural dysfunction in three dogs. *J. South Afr. Vet. Assoc. Pretoria*, v.61, n.1, p. 29-32, 1990.

XU, X.; NELSON, J.W. One-disulfide intermediates of apamin exhibit native-like structure. *Biochemistry*, v.33, p.17, p. 5253-5261, 1994.

YIANGOU, M.; KONIDARIS, C.; VICTORATOS, P.; HADJIPETROU-KOUROUNAKIS, L. Modulation of

alpha1-acid glycoprotein (AGP) gene induction following honey bee venom administration to adjuvant arthritic (AA) rats; possible role of AGP on AA development. *Clinical and Experimental Immunology*, v.94, n.1, p. 156-162, 1993.

