



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro Janeiro Ascensão

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Apitoxina: toxicidade e potencial terapêutico”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Rita Almeida, Dra. Olga Simões e da Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2020



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

João Pedro Janeiro Ascensão

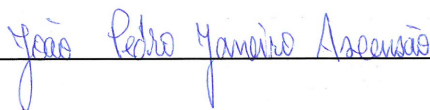
Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Apitoxina: toxicidade e potencial terapêutico”, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Rita Almeida, Dra. Olga Simões e da Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2020

Eu, João Pedro Janeiro Ascensão, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2013169404, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Apitoxina: toxicidade e potencial terapêutico” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão por mim utilizada está referenciada na bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os direitos de autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 7 de setembro de 2020.



(João Pedro Janeiro Ascensão)

Agradecimentos

À minha mãe, por tudo o que fez por mim, por toda a paciência e motivação, pelas contas e propinas que pagou, pelo carinho e por todo o apoio. Sem ela, nunca teria alcançado esta etapa.

Aos meus avós, em especial ao meu avô Janeiro e à minha avó Conceição, que me ajudaram em tudo e que nunca deixaram que me faltasse nada. Já não se fazem pessoas assim.

À minha namorada que muito aturou nestes últimos tempos. Foi ela que me deu força para terminar este percurso.

A todos os docentes que tentaram ensinar-me algo durante todo o meu percurso académico, embora eu não fosse muito assíduo nas teóricas. Foi um privilégio poder ser aluno de todos. Muito ou pouco, todos contribuíram para os conhecimentos que adquiri ao longo destes 7 anos.

À minha orientadora, Professora Doutora Isabel Rita Rebelo Ferreira Barbosa, pelas horas que perdeu a ajudar-me e a corrigir este trabalho. Foi incansável. A ela um muito obrigado.

A todo o pessoal não docente pertencente à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, em especial à Sra. Idalina, ao Sr. Mário, à Sra. Patrícia, à Sra. Fátima, à Sra. Anabela e à Sra. Graça. São pessoas fantásticas que estão lá sempre para nos animar nos dias mais difíceis e claro, para entrarem na brincadeira sempre com um sorriso na cara. Estiveram lá sempre para mim quando precisei e isso nunca esquecerei. A Faculdade deve muito a estas pessoas.

Aos meus amigos. Aqueles que já foram embora, aqueles que já são doutores e aqueles que ainda virão a ser. Não vou nomear porque são bastantes. Vocês sabem quem são. Obrigado por tudo. Pela diversão constante, pelo apoio em dias complicados, pelas noitadas, pelos copos e petiscos. Muito mais que um curso, levo daqui amizades para a vida. Obrigado.

A toda a equipa da Farmácia Central, Dra. Isabel, Dra. Rita, Dr. Hermano, Dra. Catarina, Dra. Melany, caríssima Leonor e caríssima Bárbara. Obrigado por todas as lições e ensinamentos. Alargaram todo o meu conhecimento sobre o mundo das farmácias comunitárias e também no geral. Além de excelentes profissionais, são excelentes pessoas. Receberam-me de braços abertos e fizeram de tudo para que me sentisse em casa. Espero um dia poder retribuir tudo o que fizeram por mim.

Por fim, à Dra. Olga Simões e a toda a equipa da Plural. Um enorme obrigado pela oportunidade e pela confiança depositada em mim. Senti-me em casa durante os dois meses de estágio. Não esquecerei os conselhos dados por todos.

“Believe you can and you’re half way there”

Theodore Roosevelt

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Acrónimos e Siglas	8
1 – Introdução	9
2 – A Farmácia Central.....	10
3 – Pontos Fortes	11
3.1. - A equipa e sua versatilidade	11
3.2. - A localização e utentes.....	11
3.3. - Medicamentos manipulados	12
4 – Pontos Fracos	12
4.1. - Organismos de comparticipação.....	12
4.2. - Medicamentos de marca	13
4.3. - Aconselhamento	13
4.4. - Medicamentos veterinários	13
5 – Oportunidades	14
5.1. - Formações internas.....	14
5.2. - Preparação individualizada da medicação.....	14
5.3. - População	15
6 – Ameaças.....	15
6.1. - Genéricos	15
6.2. - Medicamentos esgotados/rateados.....	15
7 – COVID-19	16
8 – Considerações Finais	17
9 – Referências	18
10 – Anexo	19

Parte II – Relatório de Estágio em Armazém e Distribuição Farmacêutica

Lista de Acrónimos e Siglas	24
1 – Introdução	25
2 – PLURAL – Serviços Multipharma	26
3 – Pontos Fortes	27
3.1. - Formações de integração.....	27
3.2. - Versatilidade da equipa.....	27
3.3. - Automatização e modernização	28
3.4. - Apoio	28
3.5. - Variedade nas funções desempenhadas	28
3.6. - Higienização	29
4 – Pontos Fracos	29
4.1. - Restrições nos acessos.....	29
4.2. - Pouca formação em SAP	29
5 – Oportunidades	30

5.1. - Desenvolvimento de novos conhecimentos e habilidades	30
5.2. - Estágio diferenciador.....	30
6 – Ameaças.....	31
6.1. - Peso do farmacêutico na distribuição	31
7 – Considerações Finais	31
8 – Referências	32

Parte III – Apitoxina: toxicidade e potencial terapêutico

Lista de Acrónimos e Siglas	34
1 – Resumo.....	36
1 – Abstract	37
2 – Introdução	38
2.1. - Toxicologia.....	38
2.2. - Toxina	38
2.3. - Abelhas.....	39
2.4. - Espécies, comportamento e epidemiologia.....	39
3 – A picada da abelha	40
4 – Apitoxina	41
4.1. - Melitina.....	42
4.2. - Apamina	44
4.3. - Peptídeo Desgranulador de Mastócitos.....	45
4.4. - Escapina.....	46
4.5. - Adolapina.....	46
4.6. - Enzimas.....	46
4.6.1. - Fosfolipase A2.....	46
4.6.2. - Hialuronidase	47
4.6.3. - Fosfomonoesterase ácida.....	48
4.6.4. - Fosfolipase B	48
4.6.5. - α -Glucosidase	48
4.7. - Aminas.....	49
4.7.1. - Histamina	49
4.7.2. - Dopamina e Noradrenalina	49
5 – As Doenças Neuro Degenerativas	49
5.1. - Doença de Parkinson (PD).....	51
5.1.1. - O Veneno da Abelha na Doença de Parkinson.....	52
5.2. - Doença de Alzheimer.....	53
5.2.1. - O Veneno da Abelha na Doença de Alzheimer	54
6 – Artrite Reumatóide	55
6.1. - O Veneno da Abelha na Artrite Reumatóide.....	56
7 – Cancro.....	57
7.1. - O Veneno da Abelha no Cancro.....	58
8 – Perspetivas Futuras.....	59
9 – Conclusão.....	60
10 – Referências	61

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Central



Farmácia Central

Dir. Téc. *Rita I. A. Nunes de Almeida*

Lista de Acrónimos e Siglas

CIMPI – Centro de Informação do Medicamento de Preparação Individualizada

COVID19 – *Coronavirus Disease 2019*

EDP – Energias de Portugal

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PIM – Preparação Individualizada da Medicação

SARS-CoV-2 – Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2

SNS – Sistema Nacional de Saúde

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I – Introdução

O Mestrado Integrado em Ciências farmacêuticas (MICF) da Universidade de Coimbra introduz no mercado farmacêutico centenas de profissionais anualmente. Para que estes estejam preparados para o mundo profissional, todos têm uma etapa final: o estágio curricular.

Neste estágio os alunos têm a hipótese de adquirir experiência em farmácia comunitária, bem como nas áreas da Produção, Investigação e Distribuição dos medicamentos, caso assim o desejem. É aqui que são postos à prova os conhecimentos adquiridos ao longo dos 5 anos de estudo, bem como a capacidade de adaptação ao mundo real do trabalho, onde diariamente somos expostos a novas situações às quais temos de saber dar uma resposta.

O estágio é de extrema importância para a formação final do aluno, daí ser levado com rigor e motivação do início até ao fim. O presente relatório realizado sob a forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) tem como objetivo enunciar os pontos fortes e fracos sentidos durante o estágio, bem como as oportunidades e ameaças sentidas/presenciadas.

O meu estágio curricular na Farmácia Central começou dia 6 de janeiro de 2020 sob a orientação da Dra. Rita Nunes de Almeida, Diretora Técnica e Coproprietária da farmácia, e terminou dia 31 de julho de 2020.

2 – A Farmácia Central

A Farmácia Central localiza-se no Largo Dr. Abílio de Magalhães Mexia, na Vila de Pereira, pertencente ao Concelho de Montemor-o-Velho.

A farmácia encontra-se junto à estação de comboios de Pereira e a poucos metros da Urbanização São Luís, local onde se fixaram novas famílias dada a proximidade e acessibilidades à Cidade de Coimbra.

Atualmente a Vila de Pereira apresenta uma população bastante heterogénea, constituída pelos habitantes originais da Vila, que constituem a fração mais envelhecida, e a fração mais jovem, que se foi fixando na nova Urbanização. Para dar resposta a esta realidade, a farmácia procurou adaptar o horário e a oferta de produtos e serviços, de forma a satisfazer ambos os extremos da população.

A Farmácia Central apresenta um espaço renovado e atual, possui na zona de atendimento 3 balcões, expositores de produtos de higiene e bem-estar, ortopedia e dermocosmética acessíveis ao público; um gabinete de atendimento destinado à prestação de serviços tais como medições de glicémia, pressão arterial, colesterol, administração de injetáveis e também as consultas de podologia e nutrição; na parte interior da farmácia onde o acesso é restrito aos funcionários, encontra-se o armazém, a sala de receção de encomendas, o laboratório, um wc e um escritório.

A farmácia encontra-se aberta das 9h às 13:00h e das 14h às 20:00h de segunda a sexta-feira. Aos sábados o horário é das 9h às 19h encerrando das 13h às 15h. No terceiro domingo de cada mês a farmácia abre 4 horas no período da manhã para atender os clientes da feira mensal que se realiza nas imediações da farmácia.

A equipa é constituída por 6 elementos, dos quais quatro são farmacêuticas (Dra. Isabel Almeida, Dra. Rita Almeida, Dra. Catarina Lopes e Dra. Melany Leal), e duas são Técnicas de Farmácia (D. Leonor Ferreira e D. Bárbara Almeida). Todos os elementos fazem atendimento ao público, mas existem funções cuja responsabilidade está distribuída pelos elementos da equipa.

Além destes 6 elementos, ainda fazem parte da Farmácia o Dr. Hermano, responsável pela gestão e a Dona Clara, auxiliar de limpeza.

3 – Pontos Fortes

3.1. - A equipa e sua versatilidade

A equipa da Farmácia Central é sem dúvida um dos fatores que marca a diferença das restantes farmácias da zona. O atendimento começa mal se entra na farmácia. Ninguém chega até ao balcão sem ter ouvido um bom dia ou boa tarde primeiro. O sorriso na cara de todos os elementos está sempre presente. Toda a atenção dada ao utente faz com que este prefira a Farmácia Central, mesmo tendo outra farmácia na localidade onde reside. A equipa entretém-se e sempre que é preciso ajuda, está lá logo outro elemento. Não há inveja nem disputa por lugares. Todos fazem o que é preciso para que a farmácia, como um todo, cresça. Assim, sempre que me surgia alguma dúvida, qualquer membro da equipa se aprontava para me ajudar.

3.2. - A localização e utentes

A Farmácia Central localiza-se em Pereira do Campo, junto à estação de comboios. Sendo Pereira do Campo uma localidade com uma elevada população (situa-se a 15 min do centro da cidade de Coimbra, através de uma ligação direta pela via rápida), clientes não faltam. Os tempos mortos na farmácia eram muito reduzidos e quase inexistentes. Isso permitiu que o meu estágio fosse bastante completo e dinâmico.

Além disso, é uma localidade onde a população é heterogénea, o que se reflete nos clientes/utentes da farmácia. Os clientes da farmácia são muito diferentes e procuram aconselhamento e produtos diversificados. Isso expôs-me a uma variedade de situações que contribuíram imenso para a minha aprendizagem.

Ainda relativamente aos utentes, a maioria encontra-se fidelizado, o que permite um regular e correto acompanhamento da situação de cada utente, chegando grande parte destes a tornarem-se mais que simples utentes/clientes. A ligação criada é tal que os utentes olham para nós como mais que os seus farmacêuticos. Somos muitas vezes “o amigo” que está lá para ouvir os desabafos e frustrações. Isso faz com que esta profissão seja muito mais que estar atrás de um balcão.

3.3. - Medicamentos manipulados

De acordo com a definição, um manipulado é “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico” [1]. Assim, existem várias regras de segurança e higiene a cumprir para que o produto final seja de excelente qualidade, 100 % seguro.

Na Farmácia Central a preparação de manipulados é frequente, desde preparações para uso veterinário a medicamentos manipulados para crianças. Para ser possível a sua preparação segundo as Boas Práticas Farmacêuticas, é necessário um laboratório devidamente equipado. Quando chega um pedido de preparação de um manipulado nunca antes preparado na farmácia, a farmácia envia um pedido de informação ao CIMPI – Centro de Informação do Medicamento de Preparação Individualizada, que avalia o mesmo e responde com os procedimentos e informações necessárias para a elaboração do manipulado.

Durante o meu estágio tive oportunidade de preparar diversos manipulados como por exemplo uma pomada reparadora à base de ácido salicílico e ácido benzóico, receitada pelo serviço hospitalar de Dermato-Venereologia. O ácido benzóico e o ácido salicílico tópico (para a pele) são um medicamento combinado usado para tratar irritações e inflamações da pele causadas por queimaduras, picadas de insetos, infeções por fungos ou eczema. Segue nos anexos a ficha de preparação assim como cópia da receita prescrita pelo médico e do rótulo realizado para a embalagem final. Todos os dados pessoais do utente e do prescriptor foram apagados por segurança dos mesmos.

4 – Pontos Fracos

4.1. - Organismos de participação

Além do SNS – Sistema Nacional de Saúde (código SIFARMA 01), existem diversos subsistemas de saúde criados através de organizações e empresas como a EDP (Sãvida, código AA) ou Fidelidade (código FM). Relativamente ao SNS, existem Portarias para determinadas doenças e condições, como por exemplo a Psoríase, Lúpus ou Paramiloidose.

Sendo que a lista de Organismos de Participação é enorme e o nosso “contacto” com o tema, durante todo o curso, é quase zero, acho que o MICF apresenta várias falhas nesse campo. Senti que cheguei ao estágio sem qualquer noção sobre o assunto e que se não tivesse tido o devido apoio no estágio, ainda hoje estaria sem essa noção.

4.2. - Medicamentos de marca

Na Farmácia Central os medicamentos de marca e os genéricos estão separados e ordenados alfabeticamente. Tive uma grande dificuldade em saber dar informações aos utentes quando estes me questionavam sobre um determinado nome de um medicamento de marca, tendo que recorrer ao SIFARMA 2000® e aos elementos da equipa. Acho que ao longo de todas as unidades curriculares se deveria fazer mais referências aos medicamentos de marca de forma a estarmos melhor preparados, e não só aos princípios ativos dos medicamentos.

4.3. - Aconselhamento

Durante todo o estágio fui questionado sobre diversos tipos de aconselhamento, incluindo afeções oculares, cosmética e produtos para grávidas e bebés. Inicialmente, sentia-me totalmente perdido. O curso não nos prepara para este tipo de aconselhamento, especialmente nas áreas referidas atrás. Acho que toda a informação sobre Dermofarmácia e Cosmética lecionada na FFUC é útil, mas não para um bom aconselhamento ao público. São-nos ensinadas diversas formas de produção e constituintes das formulações, mas quando nos perguntam o que aconselhamos para uma pele oleosa, ficamos a olhar para as diversas gamas de cada marca disponíveis na farmácia e não conseguimos obter logo uma resposta.

4.4. - Medicamentos veterinários

Nas áreas mais rurais como é o caso da Farmácia Central, os pedidos sobre aconselhamento de produtos veterinários é frequente. Deparei-me inúmeras vezes com perguntas sobre posologias e sobre que produtos aconselhava para determinada doença de um determinado animal, às quais não tinha resposta. Tive sempre um grande apoio nesta área por parte de toda a equipa, o que melhorou o meu conhecimento. Acho que este é um dos maiores pontos fracos do MICF. Toda a formação que temos nesta área é pouca e mal direcionada. Assim afirmo que este foi um ponto fraco do meu estágio, não por falta de orientação durante o mesmo, mas sim por falta de preparação base.

5 – Oportunidades

5.1. - Formações internas

A formação é a base de tudo. Para se ser um bom farmacêutico, este deve acompanhar a evolução e dar uso a toda a formação disponível. Como o meu estágio se iniciou no mês de janeiro, as visitas de delegados de informação médica foram recorrentes, chegando mesmo a ter semanas em que a presença destes era diária, vários por dia. A Dra. Rita permitiu-me assistir à grande maioria destes “encontros”, desde o processo de compra e encomenda até à formação sobre novos produtos e novas linhas. Esta formação foi, é e será essencial durante toda a minha carreira como farmacêutico, tudo para poder fazer chegar a informação adequada ao utente.

5.2. - Preparação individualizada da medicação

Existem muitos utentes com dificuldade em tomar corretamente a sua medicação. Esta não adesão á terapêutica, seja ela intencional ou não, é prejudicial para o próprio utente, para a população geral e para o meio ambiente. Quando a não adesão é não intencional, o farmacêutico pode ter um papel importantíssimo para reverter a situação. É aqui que entra a preparação individualizada da medicação (PIM). A PIM consiste na preparação de uma caixa ou dispositivo dispensador adequado, contendo as formas farmacêuticas sólidas para uso oral, de acordo com a posologia prescrita pelo médico. Esta caixa ou dispositivo é entregue semanalmente ao utente, o que lhe permite ter um seguimento adequado da toma da medicação e, conseqüentemente, uma otimização dos resultados. Durante todo o estágio, fiz semanalmente a PIM do mesmo utente, o Sr. António. Isto permitiu que fosse conhecendo melhor o utente e tivesse uma maior noção do seu estado de saúde e uma maior ligação profissional e pessoal com o mesmo [2].

E porque o farmacêutico não é só um(a) senhor(a) que vende medicamentos, foram várias as histórias que o Sr. António e eu partilhámos, todas elas com alguma lição para retirar.

5.3. - População

Devido à localização da farmácia (meio rural), a maioria dos clientes está fidelizada. São clientes regulares. Isto permite um maior conhecimento da situação de saúde de cada um e um melhor aconselhamento individualizado. Criam-se hábitos e ligações com cada um. Isto permite, além de garantir o aconselhamento mais adequado, desenvolver uma área que não nos é ensinada em nenhum livro: a componente social. Tive a oportunidade de conhecer pessoas fantásticas que demonstraram, desde o início do estágio, um enorme respeito por mim e pela minha atividade, tal como uma enorme simpatia e compreensão sempre que necessária.

6 – Ameaças

6.1. - Genéricos

Um medicamento genérico é “... um medicamento com a mesma composição qualitativa e quantitativa em substâncias ativas, a mesma forma farmacêutica que o medicamento de referência e cuja bioequivalência com este último tenha sido demonstrada por estudos adequados de biodisponibilidade.” [3]. No momento da dispensa e da aquisição dos medicamentos, o utente tem o direito de escolher entre o medicamento de referência (de marca) ou o medicamento genérico. Grande parte das pessoas que atendi ao longo do estágio, quando confrontadas com a pergunta “deseja genéricos ou o medicamento de marca?”, respondiam que queriam o medicamento de marca pois se fosse igual ao genérico, o preço não seria tão diferente ou então “o genérico é tão barato que não faz nada certamente”. Embora me esforçasse diariamente para desmistificar essas crenças, notei que ainda existe uma grande parte da população reticente aos medicamentos genéricos.

Seria de grande utilidade uma ação a nível nacional neste âmbito, de modo a demonstrar à população geral a semelhança entre os genéricos e os medicamentos de referência.

6.2. - Medicamentos esgotados/rateados

Todas as semanas nos deparamos com medicamentos esgotados no mercado farmacêutico. Esta situação leva a que certos utentes deixem de ter o habitual fornecimento

da sua medicação para doenças crónicas pois, como o medicamento está esgotado no laboratório, conseqüentemente deixará de haver na farmácia. Quando chegava o momento de explicar ao utente que o seu medicamento habitual estava esgotado, este demonstrava uma certa desconfiança da nossa palavra, ficando por vezes aborrecido e frustrado, e associado ao problema da falta de informação sobre os medicamentos genéricos, chegava mesmo a não aceitar a substituição pelo genérico e a dizer “vou procurar noutra farmácia”. Pior que isso, alguns utentes decidiam suspender a medicação crónica até ao reabastecimento da mesma.

Este problema é bastante recorrente e, como por vezes é uma situação por tempo indeterminado, o doente fica sem medicação e nós, farmacêuticos, não conseguimos arranjar uma solução ou alternativa.

7 – COVID-19

No mês de dezembro de 2019, em Wuhan, China, teve início uma nova pandemia mundial causada pelo novo coronavírus “SARS-CoV-2”. Este vírus provoca uma doença respiratória chamada COVID-19, que advém da infeção pelo mesmo. Os sintomas mais frequentes são febre, tosse e dificuldades respiratórias, podendo ainda originar diarreia, cefaleias fortes, perda de olfato, entre outros. O período de contágio são 14 dias. Os primeiros casos foram reportados na China, na província originária da pandemia, no último dia do ano de 2019.

Quando iniciei o meu estágio no mês de janeiro, nunca imaginei que a infeção pelo novo coronavírus chegasse a uma pandemia mundial. O meu estágio manteve-se até ao dia 19 de março, dia em que foi declarado Estado de Emergência em Portugal e dia em que fui forçado a fazer uma pausa no estágio.

Durante as últimas semanas de estágio antes da pausa, estive exposto a uma nova realidade: exercer o meu estágio com as limitações e seguranças que uma pandemia destas requer. Toda a equipa da Farmácia Central se esforçou ao máximo para que a farmácia pudesse continuar a prestar os seus serviços à população, claro que de uma forma mais limitada. O atendimento passou a ser feito inicialmente com uma barreira física a separar os membros da equipa da população, em cada balcão, tendo sido depois alterado para um atendimento à porta, através de uma barreira de acrílico com uma passagem para os produtos e dinheiro. Todo o balcão era desinfetado entre atendimentos e toda a equipa tomou as devidas medidas de segurança para não meter em risco a saúde dos utentes e a própria saúde (desinfeção de todo

o espaço e equipa, várias vezes ao dia, desinfeção das banheiras aquando da receção de encomendas, uso de luvas e máscaras, entre outros).

Foi com um orgulho enorme que desempenhei as minhas funções como estagiário até ao último dia permitido pela Universidade de Coimbra. Olho para este capítulo como uma aprendizagem que só foi possível devido à infelicidade desta pandemia. Tenho agora uma noção do que é trabalhar sob condições extremas de segurança, onde estamos expostos a um elevado risco de contaminação. Este risco existirá sempre, e é um risco que aceitamos ter quando escolhemos a área de Farmácia.

8 – Considerações Finais

O MICF engloba quatro anos e meio de estudos teóricos repletos de diversos conhecimentos técnicos e científicos, com o intuito de fornecer ao aluno a melhor formação possível, formação esta essencial para o que se segue, o mercado de trabalho.

Ao longo destes anos, mesmo sem entender o motivo de ter que aprender certas coisas, esperei ansiosamente pelo momento que poderia aplicar todos os conhecimentos na prática, na vida real. Foi esse o motivo que não me fez desistir antes do fim do curso. Quando finalmente cheguei a esta etapa final, deparei-me com uma realidade dura: eu não estava assim tão bem preparado para o que é o mundo real da farmácia comunitária. No início do estágio tinha de recorrer quase constantemente a outro membro da equipa para conseguir responder perante o problema que tinha na frente ou à questão colocada pelo utente para a qual eu não sabia a resposta. Deixo isto aqui referido porque gostava de ver aplicada uma vertente mais prática no MICF, num futuro próximo, para que os próximos alunos tenham assim uma melhor oportunidade de preparação para o estágio final.

Perante estas dificuldades iniciais, hoje afirmo que ter escolhido a Farmácia Central foi uma mais-valia pois o apoio por parte de todos os membros da equipa foi excepcional, assim como a paciência e calma necessária para formar um estagiário.

Concluindo, este estágio foi uma experiência única pela qual voltaria a passar sem dúvida alguma. Pude contactar com as mais diversas situações e utentes, onde me foi dada total confiança para tentar resolver cada situação, cada problema, de forma autónoma. O apoio foi constante, tanto em horário laboral como extra laboral. Entendo agora melhor que nunca que o papel do Farmacêutico não é só vender medicamentos mas sim ser um apoio de quem o procura. A farmácia comunitária tem um impacto enorme na sociedade, especialmente nas camadas mais idosas.

9 – Referências

- [1] - INFARMED. Medicamentos Manipulados, Âmbito de aplicação. Página: 11. Lisboa, Portugal - 2005. ISBN: 972-8425-66-X. [Consultado a 03/04/2014].
- [2] - Ordem dos Farmacêuticos (2018). Norma Geral para a Preparação Individualizada da Medicação. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
- [3] - Minas, R. (2014). Regulamentação Farmacêutica na garantia da qualidade, eficácia e segurança dos medicamentos genéricos. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/editor2/Colegios_de_Especialidade/Titulo_Especialidade/Especialidade_AR/Especialistas_Anteriores/2014/2014_Renata_Minis.pdf





Farmácia Central



Ficha de Preparação de Medicamentos Manipulados

Página 2

Prazo de utilização e Condições de conservação

Condições de conservação: Conservar à temperatura ambiente na embalagem bem fechada.	Operador: 
Prazo de utilização: 2 meses	Operador: 

Verificação

Ensaio	Especificação	Resultado		Rubrica do operador
		Conforme	Não Conforme	
I. Características organolépticas				
1.1. Cor. Verificar conformidade com a especificação	Pomada de cor branca.	✓		
1.2. Odor. Verificar conformidade com a especificação	Pomada inodora	✓		
1.3. Aspecto. Verificar conformidade com a especificação	Pomada de aspecto homogéneo	✓		
		Aprovado <input checked="" type="checkbox"/>	Rejeitado <input type="checkbox"/>	
Supervisor: 		30/01/20		

Nome, morada e telefone do doente

--

Nome do prescriptor

Dr. _____

Anotações

--

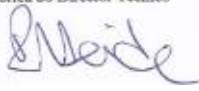
Rubrica do Director Técnico 	Data 30/01/20
--	------------------

Figura 2: Cópia de uma ficha de preparação de medicamentos manipulados, realizada por mim durante o meu estágio. (Com autorização do doente e da Diretora Técnica Dra. Rita Almeida).

Receita Médica Nº




201100004858963820X

Utente: 		MM
Telefone: _____ R.C.: _____ Entidade Responsável: SNS		
Nº de Beneficiário		
 u59*	- Dr(a), Especialidade: DERMATO-VENEREOLOGIA Telefone: 239797570	THERAPOS  72463*
R_x	DCL / Nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem, posologia	Nº Extensão
<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px; margin-bottom: 5px;">1</div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px; margin-bottom: 5px;">2</div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px; margin-bottom: 5px;">3</div> <div style="border: 1px solid black; width: 20px; height: 20px; margin-bottom: 5px;">4</div> </div>	Aquaphor - pomada rep 100 Gramas; Ácido Salicílico - 3 Gramas; Ácido Benzóico - 3 Gramas; FSA e mande , Po Posologia - 1 aplicação à noite nos pés	
Validade: 30 DIAS Data: 2020-01-29		 (assinatura do Médico Prescritor)

Processado por computador - GLINTT FOR PRESCRIPTION, VERSÃO 6.0 - GLINTT-HS

Figura 3: Cópia da receita de um utente para preparação do manipulado referido nas figuras anteriores. (Com autorização do doente e da Diretora Técnica Dra. Rita Almeida).



Figura 4: Cópia do rótulo do produto acabado após a preparação do manipulado. (Com autorização do doente e da Diretora Técnica Dra. Rita Almeida)

Parte II

Relatório de Estágio em Armazém e Distribuição Farmacêutica

Plural



plural
SERVIÇOS MULTIPHARMA

Lista de Acrónimos e Siglas

BPD – Boas Práticas da Distribuição

COVID19 – *Coronavirus Disease 2019*

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SAP – *System Analysis Program Development*

SWOT – *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I – Introdução

Em Portugal, a profissão farmacêutica tem os seus primeiros registos em 1449, época bastante diferente da atualidade. Os farmacêuticos dessa data eram chamados boticários, e a profissão tinha uma vertente mais direcionada à produção e preparação de medicamentos, contrariamente aos dias de hoje. A farmácia comunitária era chamada Farmácia de Oficina e o seu responsável era alguém dotado de grande inteligência e sabedoria na área da saúde.

Como o farmacêutico é um especialista do medicamento, este desempenha funções em todas as áreas inerentes ao circuito do medicamento, incluindo Farmácia Hospitalar, Indústria Farmacêutica, Investigação Científica e Distribuição Farmacêutica.

A distribuição farmacêutica é um elo importantíssimo no circuito do medicamento. É um setor cada vez mais moderno e automatizado, garantindo o acesso atempado aos medicamentos e produtos de saúde às farmácias e outras unidades de saúde, e por consequência, a todos os portugueses. Neste setor, o farmacêutico desempenha funções de elevada responsabilidade nas diversas áreas e departamentos, nomeadamente a Direção Técnica dos armazéns de distribuição de produtos farmacêuticos. [1]

Dado o crescimento elevado da importância dos distribuidores por grosso no circuito do medicamento, a FFUC, em parceria com a Plural, desenvolveu a oportunidade dos alunos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas poderem realizar o seu estágio curricular na área da Distribuição Farmacêutica. Assim, optei por realizar o meu estágio neste setor com o objetivo de compreender melhor a complexa área da distribuição e obter conhecimentos sobre o papel do farmacêutico num armazém de distribuição por grosso.

Este relatório de estágio é apresentado sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), onde menciono os pontos fortes sentidos ao longo do estágio, assim como os pontos fracos. É ainda objetivo referir as oportunidades obtidas e as ameaças sentidas durante a duração total do estágio, dois meses.

O meu estágio em Distribuição Farmacêutica teve início dia 4 de maio de 2020 e terminou a 3 de julho de 2020, tendo lugar nas instalações da sede da Plural, em Eiras, Coimbra, sob a orientação da Dra. Olga Simões, Diretora Técnica do armazém.

2 – PLURAL – Serviços *Multipharma*

A Plural – Cooperativa Farmacêutica, CRL, situada em Eiras, Coimbra, é uma empresa cooperativa que exerce a atividade grossista no circuito do medicamento, interagindo a montante com a Indústria Farmacêutica e a jusante com as Farmácias Comunitárias. É uma empresa com mais de 40 anos em que a sua origem remonta às 3 cooperativas farmacêuticas da Região Centro: Cofarbel, Farbeira e Farcentro. A sua fusão deu-se em 2006, tendo sido alterada a sua designação para Plural em 2008. A Plural tem apresentado um crescimento contínuo, assim como uma melhoria constante na prestação dos seus serviços. Em 2017 foi inaugurado o novo edifício e armazém sede da empresa, em Eiras, Coimbra. Embora não seja o maior armazém da Plural, é onde é comandada toda a empresa. [2], [3]

A empresa tem neste momento 5 armazéns espalhados pelo país. A sede localiza-se em Coimbra, e os restantes localizam-se na Maia, nas Caldas da Rainha, no Cacém e em Faro. É presidida pelo Dr. Miguel Silvestre, Farmacêutico, e a sua Direção Técnica é assumida pela Dra. Olga Simões, Farmacêutica. [2], [3]

A Plural tem como objetivo ser o maior e melhor distribuidor farmacêutico do país, prestando um serviço de excelência às farmácias, apresentando soluções inovadoras e eficientes, sempre seguindo as BPD (Boas Práticas da Distribuição). Assume neste momento o primeiro lugar a nível nacional como Cooperativa Farmacêutica de capital próprio 100 % português. O seu principal concorrente é a *Alliance Healthcare*, empresa com capital internacional. [4]

As suas funções são centradas na distribuição por grosso a nível nacional, embora também se dediquem à exportação de medicamentos e produtos de saúde como dispositivos médicos.

Neste estágio tive oportunidade de passar por todas as secções da empresa, assim como de conhecer de perto a função do farmacêutico na distribuição por grosso. Comecei por realizar trabalho de apoio na reposição dos canais que dispensam as embalagens para o tapete automático. Tive oportunidade de trabalhar com vários colaboradores, incluindo o Sr. Mário, que me ajudou bastante e me explicou como rentabilizar o meu trabalho. Seguiu-se o posto de *picking* do “carrocel”, onde se trabalha num processo mais automatizado com um robot gigante chamado “carrossel”. Ajudei neste posto durante o primeiro mês, na hora de almoço em que há menos pessoal, e durante o *picking* da tarde. Aqui é um trabalho mais mecanizado que implica movimentos repetitivos, o que acaba por ser mais cansativo. Para impedir isso, o chefe responsável troca o colaborador nesta secção regularmente, facilitando

assim o processo. Por fim, a secção da Logística Inversa. Esta secção estava a ser chefiada pela Dra. Inês, farmacêutica substituta. A Dra. Inês garantiu-me todo o apoio necessário, dentro e fora da empresa. Explicou-me todo o processo inerente à Logística Inversa e deu-me a oportunidade de realizar todas as funções junto dos colaboradores Clara, Eugénio, Fábio, Marta e Nuno. Todos eles foram incansáveis a prestar-me todo o auxílio que necessitei e a responder a todas as perguntas que tinha. Foi a secção onde passei mais tempo e onde desenvolvi mais aptidões. Consegui entender melhor todo o processo que vai da farmácia até aos laboratórios.

3 – Pontos Fortes

3.1. - Formações de integração

A Plural proporciona a todos os novos colaboradores a oportunidade de conhecer toda a empresa assim como a maioria da equipa integrante. Assim que cheguei fui recebido pela Diretora Técnica, Dra. Olga Simões, que me apresentou a equipa e o Diretor Geral, Dr. Paulo Fonseca, e me mostrou as instalações, assim como me deu uma introdução sobre a empresa e sobre o papel do farmacêutico num armazém de distribuição por grosso. Recebi todas as informações necessárias e ferramentas para desempenhar o meu estágio com todas as condições adequadas.

Considero esta introdução essencial pois permitiu-me ter logo uma visão sobre a empresa, o trabalho desempenhado e toda a equipa, assim como as responsabilidades associadas a este setor.

3.2. - Versatilidade da equipa

Todos os funcionários do armazém aprendem as funções desempenhadas em cada secção. Esta versatilidade permite que um colaborador possa ser chamado para qualquer secção para realizar uma função sempre que necessário. Além de ter o conhecimento de todo o processo, também permite que o trabalhador não se sature de realizar a mesma função todo o dia, todos os dias, aumentando assim o seu rendimento e conseqüente rendimento da empresa como um todo.

3.3. - Automatização e modernização

O armazém da Plural está dotado de vários equipamentos automatizados, como o “carrossel”, uma linha de canais com uma passadeira onde caem os produtos e são levados até ao baque respetivo. Estes equipamentos permitem eliminar erros humanos associados ao processo de *picking* manual e agilizar o processo, reduzindo assim o tempo de preparação das encomendas. As pessoas continuam a ser essenciais pois são elas que alimentam os canais e o carrossel, tal como são elas que repõem o *stock*. Assim, os erros humanos continuam a ser alvo de elevado controlo.

3.4. - Apoio

Desde que comecei o meu estágio que toda a equipa da Plural, desde os colaboradores do armazém até aos membros da direção, me receberam e apoiaram como se fizesse parte da equipa. Sempre que precisei de alguma informação, ajuda ou acesso, certificaram-se de que eu a recebia. Isto permitiu não só sentir-me mais confiante a realizar as minhas funções, mas também permitiu que o ambiente fosse o melhor para que todo o estágio corresse da melhor forma. Todos os colaboradores são extremamente educados e dedicados ao seu trabalho, o que faz com que a empresa cresça como tem crescido e tenha um serviço de excelência na prestação dos seus serviços.

Além disso, tudo o que precisei de material de trabalho e formação foi-me cedido sem qualquer incómodo. A comunicação entre mim, a Dra. Olga e a Dra. Inês (pessoas responsáveis pela minha orientação) sempre foi bastante fácil, permitindo assim a eliminação de qualquer constrangimento e impasse.

3.5. - Variedade nas funções desempenhadas

A minha entrada na Plural coincidiu com um período de alguma mudança na empresa. Estávamos a sair de um período de Estado de Emergência e a empresa estava a iniciar a atividade no armazém do Cacém. Este maior movimento na empresa foi bom para o meu desenvolvimento laboral pois permitiu que eu ajudasse e colaborasse em diversos processos, tendo passado pela maioria das secções onde me foi dada a formação necessária para realizar a minha função. Assim pude sentir de perto esta parte do circuito do medicamento, não estando só a realizar trabalho administrativo.

3.6. - Higienização

Embora seja um local onde a higiene e limpeza sejam imperativas, a pandemia do COVID-19 implicou um maior controlo e rigor na higienização dos espaços e de todo o pessoal. A Plural fornece todo o equipamento de segurança necessário para a realização de um trabalho seguro, livre de focos de infeção. Estão espalhados frascos com desinfetante em várias zonas da empresa, assim como em todas as entradas e saídas e portas de acesso às diversas áreas. Para garantir uma maior segurança, todos os colaboradores recebem diariamente duas máscaras cirúrgicas descartáveis certificadas que permite a troca das mesmas a meio do dia de trabalho. Assim, tive toda a certeza e confiança em realizar este estágio na Plural.

4 – Pontos Fracos

4.1. - Restrições nos acessos

Todos os colaboradores da empresa recebem um cartão eletrónico que lhes garante acesso às áreas essenciais à sua função dentro da empresa. Como estagiário, por vezes, necessitava de acesso à área de expedição do armazém, à qual não tinha acesso. Isso impedia que o meu trabalho fosse desenvolvido com maior rapidez, tendo sempre que incomodar outro colaborador para me garantir a abertura das portas.

4.2. - Pouca formação em SAP

Como estagiário a realizar estágio de curta duração, compreende-se que seja impossível receber formação suficiente para realizar todas as funções em SAP. Refiro este ponto como ponto fraco pois por vezes, apercebi-me que alguns funcionários tinham alguma dificuldade em realizar certas funções que envolvessem o sistema, assim como saberem ajudar-me nas mesmas. Embora a maior parte dos elementos da empresa já tenha conhecimento mais que suficiente para que o trabalho seja realizado, alguns colaboradores ainda não o têm. Este facto pode dever-se também ao pouco interesse por parte do colaborador, mas achei importante referir.

5 – Oportunidades

5.1. - Desenvolvimento de novos conhecimentos e habilidades

Ao longo dos estudos no MICF adquirimos uma enorme variedade de conhecimentos sobre a área de farmácia, teóricos e práticos. São estes conhecimentos que nos permitem chegar ao fim com as aptidões necessárias para ser um bom profissional. Embora seja um plano de estudos bastante abrangente, não é na faculdade que se aprende o verdadeiro trabalho. Cheguei ao estágio com todas as bases necessárias para realizar o mesmo, mas foi lá que aprendi a realizar o trabalho prático exigido para o bom funcionamento de um armazém de distribuição farmacêutica. Aprendi a trabalhar com várias pessoas de diversos setores, desenvolvi competências linguísticas no que toca à comunicação pois comunicar com um operário é diferente de comunicar com um diretor, atividade constante no meu dia-a-dia, assim como atividades laborais exigidas a um colaborador de armazém.

5.2. - Estágio diferenciador

Ao longo dos anos, a FFUC tem vindo a aumentar o portefólio de colaborações para estágios curriculares, em todo o país. Com essas colaborações, a faculdade concede aos seus alunos a oportunidade de realizar estágios em diversas áreas além da farmácia comunitária. Uma dessas áreas é a distribuição farmacêutica.

Este estágio foi uma excelente oportunidade para mim visto que me permitiu conhecer toda uma nova realidade do mundo da farmácia que é impossível ter acesso ao longo dos nossos estudos. Adquiri novas competências pessoais e profissionais, sendo que a capacidade de trabalho em equipa, onde a equipa não são “meia dúzia” de colaboradores, mas sim dezenas, foi uma das mais importantes. Aprendi a lidar com uma hierarquia estrutural que não se consegue contactar numa empresa mais pequena como uma farmácia comunitária. Penso que esta experiência foi uma mais-valia para a minha entrada no mercado de trabalho.

6 – Ameaças

6.1. - Peso do farmacêutico na distribuição

Durante a nossa jornada no MICF, o farmacêutico é referido como um elemento de extrema importância em todos os setores, incluindo na Distribuição. Na Plural, o farmacêutico assume o papel de Diretor Técnico e é responsável por tudo o que se passa na cadeia do medicamento. Embora assuma esta responsabilidade, na prática, o trabalho do farmacêutico resume-se maioritariamente ao contacto com as indústrias farmacêuticas e com as empresas que garantem o transporte das cargas entre o armazém e a indústria e vice-versa.

Na Plural, além da Diretora Técnica e de alguns dos Diretores Gerais, também a chefe da Logística Inversa é farmacêutica. Este é um cargo bastante importante numa empresa como esta, mas não precisa necessariamente de ser chefiado por um farmacêutico, tal como as outras posições além da Direção Técnica. Posto isto, afirmo que o peso do farmacêutico neste setor tem diminuído e acredito que num futuro não muito longínquo, apenas será necessário para uma questão burocrática e não prática.

7 – Considerações Finais

Este estágio foi de facto uma excelente oportunidade concedida pela FFUC pois permitiu-me contactar com uma realidade diferente, desenvolver novas aptidões e competências, tal como adquirir novos conhecimentos. Este estágio será sem dúvida um fator diferenciador no acesso à fase seguinte, o mercado de trabalho.

Embora o estágio tenha sido curto, cerca de 2 meses, permitiu-me evoluir a nível pessoal e profissional. Consegui entender o papel do farmacêutico neste setor assim como o papel da maioria dos funcionários da empresa. Todo o processo inerente à distribuição é bastante complexo e agora sei o trabalho que exige, desde o fornecimento às farmácias a uma simples devolução ao armazenista por parte de uma farmácia. Fui exposto a diversos tipos de trabalho com várias equipas de trabalho, desde os colaboradores do armazém à Diretora Técnica. Aprendi novas formas de resolver um problema sempre que ele aparecia, assim como a ver o trabalho feito no armazém estando a realizar trabalho de operário como trabalho de farmacêutico. Além disso, tive ainda oportunidade de ver, ainda que ao de leve, uma parte do processo de exportação de um medicamento (neste caso, vacinas para a gripe, exportadas para países africanos).

Concluindo, o estágio na Plural foi sem dúvida uma experiência gratificante que contribuiu para a minha formação final como farmacêutico. Acho que todos os alunos deveriam passar por outro setor que não só a farmácia comunitária, para conseguirem entender melhor o ciclo do medicamento. Posto isto, considero que a experiência que adquiri ao longo destes dois meses foi bastante positiva.

8 – Referências

[1] – ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Áreas Profissionais. Distribuição Farmacêutica. [Consult. 7 junho 2020]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/distribuicao-farmaceutica/>

[2] – PLURAL – COOPERATIVA FARMACÊUTICA, CRL – Mensagem do Presidente. [Consult 7 junho 2020]. Disponível em: https://www.plural.pt/quem-somos/mensagem-do-presidente_13

[3] – PLURAL – COOPERATIVA FARMACÊUTICA, CRL – História. [Consult. 7 junho 2020]. Disponível em: https://www.plural.pt/quem-somos/historia_16

[4] – PLURAL – COOPERATIVA FARMACÊUTICA, CRL – Política e Missão [Consult. 7 junho 2020]. Disponível em: https://www.plural.pt/quem-somos/politica-e-missao_14

Parte III

Monografia

Apitoxina: toxicidade e potencial terapêutico

Lista de Acrónimos e Siglas

AChEI – Inibidor da Acetilcolinesterase

AD – Doença de Alzheimer

ALS – Esclerose Lateral Amiotrófica

APC – *Antigen Presenting Cells*

Api m(x) – Classificação dos alergénios

AvTx-7 – Neurotoxina

A β – Beta-amilóide

Bax – Gene Bcl-2 associado

Bcl-2 – Família de genes

BHE – Barreira Hematoencefálica

BV – Veneno da Abelha

CA1 – 1ª Região do Hipocampo

Ca²⁺ – Ião Cálcio

CaMKII – Proteína cinase dependente de Ca²⁺/calmodulina

Células T – Linfócitos T

Células T CD4+ – Linfócitos T auxiliares

COX – Cicloxigenase

COX-2 – Cicloxigenase 2

cPLA2 – Fosfolipase A2 citosólica

Cys20 – *Cysteine auxotroph 20*

Cys9 – *Cysteine auxotroph 9*

DL50 – Dose Letal Média

HCC – Carcinoma Hepatocelular

IFN-gama – Interferão gama

IgE – Imunoglobulina E

IKK-NFkB – Enzima principal da cascata NF-kB

IL – Interleucina

IL 1 – Interleucina 1

IL 6 – Interleucina 6

IL1B – Interleucina 1B
iNOS – Óxido Nítrico Sintase indutível
JNK/p38 – Proteína cinases ativadas por mitogénio
K⁺ – Ião Potássio
LPS – Lipopolissacarídeos
MCD – Peptídeo Desgranulador de Mastócitos
MS – Esclerose Múltipla
NF-κβ – Fator Nuclear κβ
NFTs – Tranças Fibrilares
NMDA – *N-metil-D-aspartato*
NO – Óxido Nítrico
NTs – Neurotransmissores
OMS – Organização Mundial de Saúde
PD – Doença de Parkinson
PGE2 – Prostaglandina E2
PLA1 – Fosfolipase A1
PLA2 – Fosfolipase A2
PLB – Fosfolipase B
PM – Peso Molecular
RA – Artrite Reumatoide
Rac1 – Proteína codificada pelo gene Rac1
SN – *Substantia Nigra*
SNC – Sistema Nervoso Central
SOT – *Society of Toxicology*
sPLA2 – Fosfolipase A2 secretora
TAK1 – *Transforming growth factor-beta-activated kinase 1*
TNF-α – Fator de Necrose Tumoral alfa
TRAIL – *Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand*

I – Resumo

As abelhas do mel, *Apis mellifera*, podem ser encontradas em todo o mundo e são essenciais aos ecossistemas devido ao processo de polinização. A maioria das espécies são inofensivas e a interação com os humanos é bastante pacífica, embora as abelhas tenham a capacidade de injetar um veneno bastante complexo nas suas vítimas, como um mecanismo de defesa. Apesar deste lado mais pacífico, após a introdução acidental das abelhas africanizadas no Brasil, em 1956, os ataques aos humanos têm vindo a aumentar. Como ainda não existe um antídoto específico para este veneno, o tratamento das picadas foca-se no controlo das reações alérgicas provocadas pelo veneno.

Os produtos naturais têm sido alvo de estudos intensivos na tentativa de descobrir novas terapias e fármacos. O veneno da abelha (BV), cuja composição já é conhecida há mais de 50 anos, ainda é alvo de vários estudos com o objetivo de tentar entender o seu verdadeiro potencial no tratamento de diversas doenças em humanos.

Embora tenha havido um enorme avanço científico nos últimos anos, doenças como o cancro, a Artrite Reumatoide (RA) e as doenças neuro degenerativas continuam a ser uma prioridade devido à sua prevalência na atualidade.

O veneno da abelha (BV), apitoxina, é descrito como anti-inflamatório e neuro protetor, e o seu componente principal, a melitina, parece apresentar propriedades anticancerígenas. Assim, o estudo do veneno da abelha (BV) parece ser um caminho promissor como possível terapêutica ou como adjuvante em terapêuticas atuais, nas doenças atrás referidas.

Palavras-chave: Abelhas, *Apis mellifera*, Veneno da Abelha, Apitoxina, Cancro, Artrite Reumatoide, Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson.

I – Abstract

Honey bees, *Apis mellifera*, can be found all around the world. They are essential to the ecosystems and to life in general due to their pollination process. Most species are harmless and interactions with humans are quite peaceful, although bees have the ability to inject a complex poison into their victims as a defence mechanism. Despite this peaceful side, the accidental introduction of Africanised bees in Brazil, 1956, increased the number of bee attacks on humans. As there is still no specific antidote for this poison, the treatment of bee stings focuses on controlling allergic reactions caused by the poison.

Natural products have been subject of intensive studies in an attempt to discover new therapies and drugs. Bee venom (BV) whose composition has been known for more than 50 years is still the main target of several studies with the aim of trying to understand its true potential in the treatment of various diseases in humans.

Although there has been a huge scientific advance in recent years, diseases like Cancer, Rheumatoid Arthritis (RA) and Neurodegenerative Diseases continue to be a priority due to their present prevalence.

Bee venom (BV), apitoxin, is described as anti-inflammatory and neuroprotective and its main component, melitin, appears to have anti-cancer properties. Thus the study of Bee venom (BV) seems to be a promising path as a possible therapy or as an adjuvant to current therapies in the diseases previously mentioned.

Keywords: Bees, *Apis mellifera*, Bee Venom, Apitoxin, Cancer, Rheumatoid Arthritis, Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease.

2 – Introdução

2.1. - Toxicologia

Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (Fig. 1), considerado o pai da Toxicologia Moderna contribuiu de forma significativa para a Toxicologia atual. *Toxicology is the study of the adverse effects of chemical, physical, or biological agents on living organisms and the ecosystem, including the prevention and amelioration of such adverse effects*, definição estabelecida pela Sociedade de Toxicologia (SOT), torna a toxicologia uma área de atuação diversificada e complementar como profissional farmacêutico na garantia da segurança de um paciente.

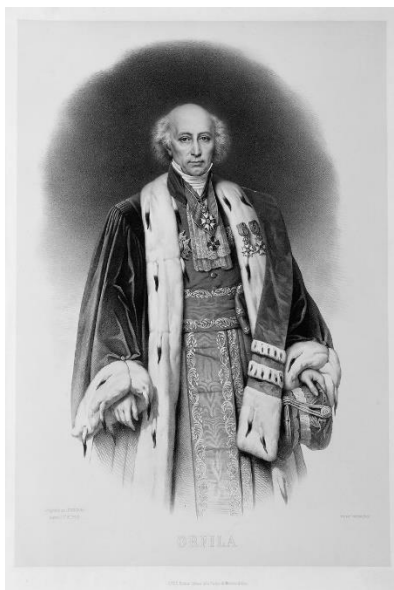


Figura 1: Mathieu Joseph Bonaventure Orfila, 1835. (Imagem retirada de:<https://www.nlm.nih.gov/exhibition/visibleproofs/galleries/biographies/orfila.html>)

2.2. - Toxina

Segundo a definição, toxina é uma substância tóxica produzida por sistemas biológicos como plantas, animais ou por organismos microbiológicos, instável, e notavelmente tóxica quando em contacto ou por absorção num organismo vivo [1].

2.3. - Abelhas

A existência das abelhas é datada do Período *Cretáceo*, na Era *Mesozoica* (entre 66 e 145 milhões de anos atrás). As abelhas têm vindo a providenciar ao Homem vários produtos e substâncias, tais como o mel, a cera de abelha, o pólen, a geleia real e própolis. Além destes produtos, as abelhas desempenham um papel crucial na natureza, através da polinização, sem a qual nós não sobreviveríamos. Embora a polinização seja bastante importante para a humanidade, as abelhas podem ser bastante prejudiciais para a espécie humana devido ao seu mecanismo de defesa/ataque, a picada, dolorosa e tóxica. A maioria das abelhas não são agressivas para os humanos e apenas agem quando se sentem ameaçadas mas com a introdução humana da Abelha Africanizada, uma espécie híbrida mais agressiva, o número de ataques tem vindo a aumentar [2], [3].

Existem tratamentos médicos para minimizar as reações alérgicas excessivas, onde as pessoas alérgicas são expostas ao veneno da abelha (BV), mas não existe nenhum antídoto para tratar envenenamentos graves por parte deste veneno. [2], [3].

2.4. - Espécies, comportamento e epidemiologia

As Abelhas do Mel (género *Apis*) são insetos sociais que habitam em comunidades extremamente organizadas e estruturais. Embora estas abelhas sejam de extrema importância económica a nível mundial devido ao seu papel polinizador na agricultura, têm recebido uma maior atenção nas últimas décadas devido à sua habilidade de provocar uma picada venenosa. As espécies responsáveis pela grande maioria das picadas em humanos na Europa são a *Apis mellifera mellifera* (*A. m. mellifera*) e a *Apis mellifera ligustica* (*A. m. ligustica*), e em África é a espécie *Apis mellifera scutellata* (*A. m. scutellata*) [2].

As picadas das abelhas datam de há mais de 7 mil anos, quando os humanos decidiram fazer criações artificiais de colmeias de abelhas, de forma a obter a sua cera e mel, e claro, auxílio no processo de polinização. Apesar do aumento da criação de determinadas espécies com características específicas, a diversidade genética tem aumentado, contrariando a tendência. Estes cruzamentos entre espécies permitiram obter maiores taxas de reprodução, menores ciclos reprodutivos (diminuição de 1 a 2 dias em relação ao normal), melhor capacidade de adaptação aos climas, locais de colonização e alimentação e maior resistência a doenças [2].

Pensa-se que as picadas de abelhas causam uma grande diversidade de problemas de saúde, mas como a maioria das picadas são de pequena gravidade e as vítimas não procuram auxílio médico, existem dados insuficientes sobre a gravidade, diversidade e frequência [2].

3 – A picada da abelha

A abelha possui um complexo associado ao “ferrão” que possui 3 partes funcionais: a parte motora, a parte perfurante e a parte relacionada com o veneno (Fig. 2). Na parte perfurante, o ferrão é coberto por farpas tetraédricas, dispostas em forma de espiral, que permite uma penetração facilitada na pele Humana. Estas farpas fazem com que seja quase impossível a abelha retirar o ferrão da pele, deixando assim para trás o complexo associado ao ferrão, que devido aos músculos, tem capacidade autónoma de continuar a introduzir o veneno no corpo humano durante aproximadamente 30 segundos (aproximadamente 90 % do conteúdo do saco do veneno é introduzido na vítima durante os primeiros 20 segundos após a picada, sendo pouco provável a diminuição da toxicidade retirando o ferrão 1 minuto após a picada). Embora se pense que as abelhas morrem logo após a picada, elas conseguem sobreviver por um período entre 18h a 114h, continuando o seu papel defensor e trabalhador na comunidade até ao momento da morte [2].

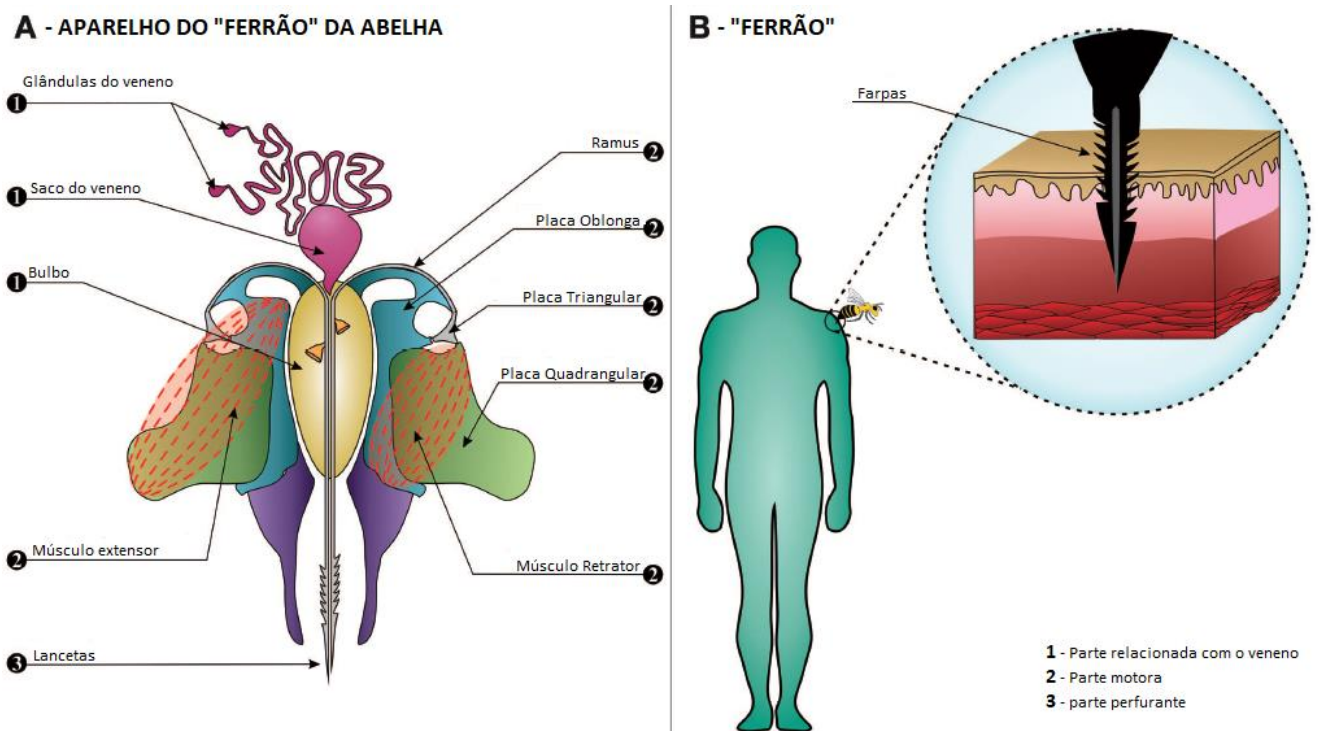


Figura 2: (A) – Aparelho perfurante da abelha. (B) – Disposição das farpas do ferrão da abelha. [2]

Cada picada de abelha deposita no corpo da vítima, em média, 140 µg a 150 µg de veneno, sendo que o seu DL50 varia entre 2,8 e 3,5 mg de veneno por quilograma de peso corporal. Isto significa que uma pessoa não-alérgica que pese entre 60 kg a 70 kg tem 50 % de hipóteses de sobreviver às picadas de 1000 a 1500 abelhas, embora tenham sido reportados casos de mortes por picadas de abelhas estando apenas envolvidas 200 a 500 picadas. A gravidade do envenenamento depende da idade da vítima, do peso corporal, do número de picadas e das características específicas de cada indivíduo (sistema imunitário, comorbilidades e exposição prévia ao veneno) [2], [3].

4 – Apitoxina

A apitoxina, também conhecida por veneno de abelha (BV), do género *Apis*, é produzida em duas glândulas na cavidade abdominal da abelha trabalhadora, e é utilizada por esta para defender a sua colónia. É um líquido amarelo claro, com um cheiro pouco agradável, um gosto amargo e tem um pH ácido entre 4,5 e 5,5. [4]. Uma gota de BV consiste em 88% de água e apenas 0,1 µg de veneno seco [5].

É uma mistura complexa de peptídeos biologicamente ativos, incluindo melitina, o maior componente do BV, apamina, Peptídeo Desgranulante de Mastócitos (Peptídeo MCD, também conhecido por peptídeo 401), adolapina, peptídeo mastocitolítico, escapina, minimina; aminas, como a histamina, a dopamina, a noradrenalina e a norepinefrina; enzimas incluindo fosfolipase A2 (PLA2) e fosfolipase B (PLB), lisofosfolipase, hialuronidase, ácido fosfomonoesterase, alfa-glucosidase, dipeptidil peptidase IV e vitelogenina; aminoácidos como o ácido gama-aminobutírico e α -aminoácidos; diversos carboidratos, incluindo a glucose e frutose; feromonas; minerais incluindo fósforo, cálcio e magnésio, e lípidos [4]. Esta composição está representada na Tabela I.

Tabela 1: Principais constituintes da apitoxina. [4], [6], [7]

Classe de Moléculas	Componente da apitoxina	% Peso seco de veneno
Peptídeos	Melitina	40 - 60
	Apamina	2 - 3
	MCD Peptide	2 - 3
	Adolapina	0,5 - 1
	Escapina	0,5 - 2
	Minimina	2 - 3
Aminas	Histamina	0,5 - 2
	Dopamina	0,13 - 1
	Noradrenalina	0,1 - 0,7
Enzimas	PLA2	10 -12
	PLB	1
	Hialuronidase	1 - 3
	Lisofosfolipase	1
	Fosfomonoesterase Ácida	1 - 2
	α -Glucosidase	0,6
Carboidratos	Glucose	2 - 4
	Frutose	
Minerais	Fósforo	3 - 4
	Cálcio	
	Magnésio	

4.1. - Melitina

A melitina (Fig. 3), também conhecida por *Alergénio Api m4*, é o maior constituinte da apitoxina (40 % a 60 % do seu peso seco). É um peptídeo linear, catiónico, α -helicoidal, constituído por 26 aminoácidos [4], com a região terminal carboxílica do peptídeo hidrofílica, responsável pela ação lítica (lise), e com a região terminal amina hidrofóbica, sem atividade lítica [6]. Como apresenta propriedades anfipáticas, esta é solúvel em água, tanto na sua forma monomérica como tetramérica. Esta característica também permite que a melitina se insira facilmente nas membranas rompendo as bicamadas fosfolípídicas naturais e sintéticas [6].

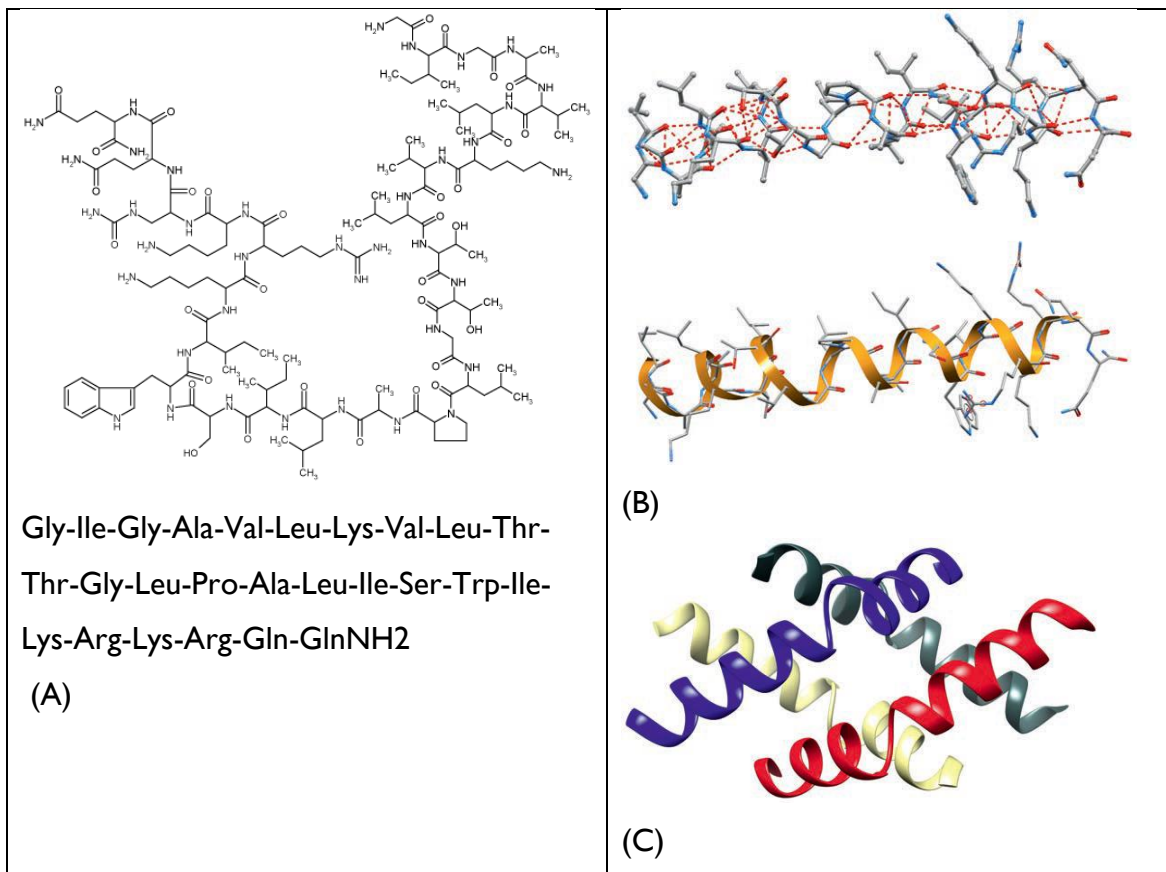


Figura 3: Melitina: A - estrutura química e a sequência exata de seus 26 aminoácidos Gly = glycine; Ile = L-isoleucine; Ala = L-alanine; Val = L-valine; Leu = L-leucine; Lys = L-Lysine; Thr = L-threonine; Pro = L-proline; Ser = L-serine ;Trp = L-tryptophan; Arg = L-arginine; Gln = L-glutamine; (B) Estrutura molecular e em fita da melitina, por cristalografia de raios-X; as ligações por pontes de hidrogênio N-H...O=C estão representadas a tracejado vermelho; (C) A estrutura tetramérica da melitina mostrada na representação da fita. Adaptado de [8], [9].

O seu mecanismo de ação, que consiste na ruptura das membranas, é mediado pela formação de poros que leva à lise tanto de células procariotas como de células eucariotas, de forma não seletiva. A melitina liga-se às membranas como monômero, com ação na própria membrana e, consegue induzir a formação de poros transitórios ou poros estáveis em função da sua concentração [7]. Quando os primeiros são formados, apenas os íons conseguem difundir através da membrana. No segundo caso, a membrana torna-se permeável a moléculas de maiores dimensões, como a glucose [10]. A formação destes poros é responsável pelas atividades hemolítica, antimicrobiana, antifúngica e anti tumoral da melitina. Os últimos trabalhos experimentais revelam que a melitina causa alterações plásticas neurais nas vias de sinalização da dor, ativando e sensibilizando as células nociceptoras [6].

A sua principal propriedade é ser um potente agente anti-inflamatório, isto é, 100 vezes mais potente do que a hidrocortisona, em modelos animais [11]. A sua atividade anti-inflamatória tem sido explorada em diversas áreas, como no tratamento da *acne vulgaris*, neuro inflamação, aterosclerose, artrite e inflamação hepática [4].

A sua capacidade de romper membranas inibe significativamente a replicação dos vírus envelopados e não envelopados, diminuindo assim a sua infectividade através da interação de carga superficial. A anterior propriedade aliada com as suas propriedades antimicrobianas permitiram abrir novos caminhos no estudo do tratamento de infeções fármaco-resistentes [12], [13], [14], [15].

Embora apresente as vantagens acima referidas, a melitina, quando inserida numa camada lipídica, pode passar para a sua forma dimérica, destabilizando e alterando as camadas lipídicas artificiais que contém dioleoil-fosfatidilcolina, possibilitando mudanças morfológicas de maneira dose-dependente, transformando-se assim num peptídeo citolítico não seletivo capaz de induzir a lise dos glóbulos vermelhos nos linfócitos sanguíneos periféricos dos humanos. Podemos então afirmar que a melitina, em doses baixas, possui efeito anti-inflamatório e permite a permeabilidade capilar, enquanto que em doses elevadas pode causar inflamação, comichão, irritação e dor local [16]. O mecanismo por detrás da sua toxicidade tem por base a quebra das bicamadas fosfolipídicas que leva à lise dos mastócitos e à libertação de enzimas lisossomais, histamina e serotonina, originando então a dor e inflamação [17].

4.2. - Apamina

A apamina é a neurotoxina mais pequena do veneno da abelha. É um peptídeo com 18 aminoácidos, contendo duas pontes dissulfeto [18] (Fig. 4), compreendendo assim 2 a 3 % do peso seco do veneno [4], [19], [20].

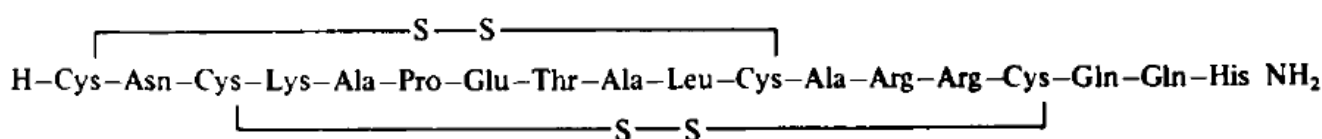


Figura 4: Estrutura peptídica da apamina. Adaptado de [21]

Esta consegue atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), afetando o funcionamento do sistema nervoso central (SNC), produzindo hiperatividade e convulsões através dos efeitos neurotóxicos na espinal medula dos mamíferos [6], [22]. Este peptídeo é um bloqueador específico de alta afinidade dos canais de K⁺ Ca²⁺ dependentes (canais SK), especificamente dos canais SK2 e SK3. Quando estes são bloqueados, há uma diminuição do atraso da hiperpolarização das células, o que resulta numa transmissão contínua de neurónios no

cerebelo e mesencéfalo, aumentando a sensibilidade das células até à sua excitação. Isto traduz-se em espasmos musculares que podem levar a uma paragem respiratória. Além disto, a apamina é capaz de inibir os recetores muscarínicos dos terminais motores nervosos, reduzindo a transmissão neuromuscular, estando assim a ser testado como um potencial tratamento contra doenças com elevada excitabilidade muscular (como por exemplo a doença de Parkinson) [23].

Esta neurotoxina tem sido estudada em diversas aplicações, tais como anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antifibrótica [24], anticancerígena [25], anti aterosclerose [26], antinocicetiva e citotóxica contra células cancerígenas [18]. Além destas aplicações, têm sido realizados estudos que demonstram que a apamina facilita a aprendizagem e melhora a memória [27].

4.3. - Peptídeo Desgranulador de Mastócitos

O peptídeo desgranulador de mastócitos (MCD), também conhecido por peptídeo 401, contém 22 aminoácidos e duas pontes dissulfeto (Fig. 5), estrutura esta semelhante à apamina. Este corresponde a cerca de 2% a 3% do peso seco do veneno [28].

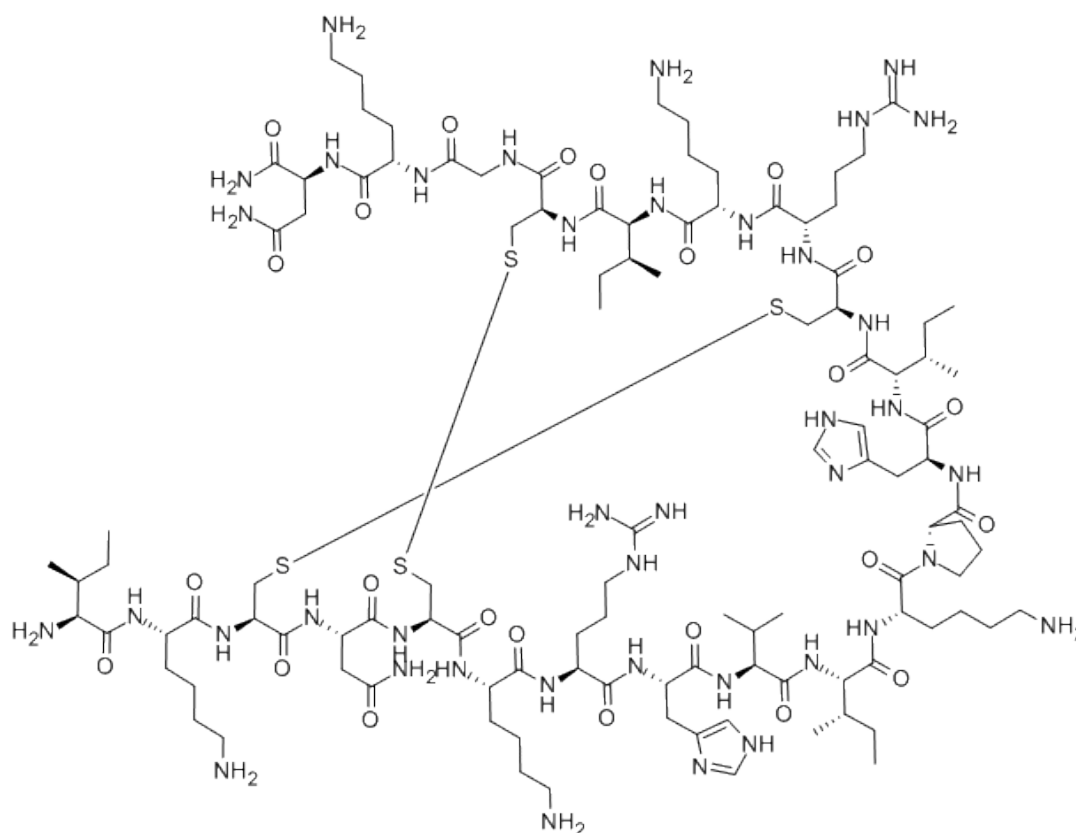


Figura 5: Estrutura molecular do MCD. (Consulta em: https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4493264_EN.htm)

O MCD, em baixas doses, promove a desgranulação dos mastócitos, libertando histamina, desempenhando assim um papel importante na alergia e no processo de inflamação [19]. Já em maiores quantidades, este peptídeo apresenta uma ação oposta, inibindo a desgranulação dos mastócitos e consequente libertação de histamina, atuando como uma molécula antialérgica (anti-inflamatória) [20].

Este peptídeo é também uma neurotoxina, bloqueando os canais de K^+ Ca^{2+} dependentes de ativação lenta e rápida, aumentando assim a excitabilidade neuronal (embora os seus efeitos no SNC estejam ainda pouco evidenciados) [13], [29].

4.4. - Escapina

A Escapina é uma potente neurotoxina que contém 25 aminoácidos e uma ponte dissulfeto entre Cys9 e Cys20. Corresponde entre 0,5 % e 2 % do peso seco do veneno [19].

Esta neurotoxina é um peptídeo inibidor da protéase serina com atividade antifibrinolítica (inibidor da plasmina), anti-elastolítica, antifúngica e antibacteriana, embora os seus mecanismos estejam fracamente estudados [30].

4.5. - Adolapina

A adolapina é um polipeptídeo básico com 103 aminoácidos, correspondendo a menos de 1 % do peso seco do veneno [19].

Este peptídeo bloqueia a síntese de prostaglandinas através da inibição da atividade da cicloxigenase (COX), PLA2 e da lipoxigenase, possuindo assim atividade anti-inflamatória, antinocicetiva e antipirética [28]. Ao inibir a lipoxigenase, esta pode exercer um efeito analgésico [31].

4.6. - Enzimas

4.6.1. - Fosfolipase A2

A fosfolipase A2 (PLA2) é a enzima mais abundante e mais letal (mais alérgica e imunogénica) do veneno da abelha, correspondendo entre 10 % a 12 % do seu peso seco, o que a torna no segundo composto mais abundante [32]. Apresenta uma cadeia polipeptídica

única de 128 aminoácidos com 4 pontes dissulfeto e é extremamente alcalina. A PLA2 pertence ao grupo de enzimas III sPLA2 e consegue atuar como ligando para recetores específicos [33].

Esta enzima é uma enzima Ca^{2+} dependente hidrolítica sendo capaz de clivar a ligação sn2 acilo dos fosfolípidos numa superfície água/lípido, produzindo um ácido gordo e um lisofosfolípido. Consegue destruir fosfolípidos, destruindo a integridade das bicamadas lipídicas deixando assim as células suscetíveis a uma posterior degradação [34].

A sua ação pode ser aumentada na presença de melitina (formação do complexo “fator hemolítico”) pois, esta última, ajuda a expor os fosfolípidos membranares ao local de catalisação das enzimas através da abertura dos canais induzidos por melitina [35].

Os produtos de reação da PLA2 como a lisofosfatidilcolina, o ácido lisofosfatídico e a esfingosina 1-fosfato podem ter um efeito citotóxico ou imunoestimulante em diversos tipos de células, causando inflamação e respostas imunitárias [36].

Segundo alguns estudos recentes, a PLA2 apresenta potencial no tratamento de várias doenças como a doença de Parkinson, asma, vários tipos de cancro, assim como de doenças do foro imunológico como nefrotoxicidade induzida por cisplatina, hepatotoxicidade e nefrite de Lupus [25].

No que toca a bactérias, esta enzima inibe o crescimento de bactérias Gram-negativas e do parasita protozoário *Trypanosoma brucei*, tendo sido também demonstrada atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius* e *Lactobacillus casei* [37].

4.6.2. - Hialuronidase

A hialuronidase é uma enzima amplamente distribuída na natureza, particularmente em venenos de animais, como a abelha, a vespa, o escorpião, a aranha, alguns peixes e crustáceos [38].

É composta por 350 aminoácidos, correspondendo entre 1 % a 3 % do peso seco do veneno, sendo assim o segundo maior alergénio do BV [13]. Degrada especificamente o ácido hialurónico na matriz extracelular da pele, permitindo a penetração dos compostos do veneno na corrente sanguínea devido ao aumento de fluxo sanguíneo na área afetada [39]. Este mecanismo faz com que o veneno se espalhe mais rapidamente pelo corpo, daí ela ser conhecida também por *spreading factor* – fator de alastramento [40]. Embora tenha uma toxicidade diminuída, a hialuronidase pode aumentar os efeitos de outras toxinas presentes nos venenos, contribuindo para os efeitos locais e sistémicos do envenenamento [38].

No que toca à sua aplicação na saúde, a hialuronidase pode atuar como adjuvante no aumento da absorção e dispersão de fármacos injetados, pode ser usada em cirurgias oftálmicas e no tratamento de doenças associadas à presença excessiva de “*Ground Substance*”, seja aplicada de forma subcutânea ou tópica [41]. Esta enzima desempenha ainda funções em diversos mecanismos fisiológicos, como a angiogénese, embriogénese, formação de metástases, cicatrização e em algumas doenças como Pneumonia, Meningite e Sepsis [38].

4.6.3. - Fosfomonoesterase ácida

A fosfomonoesterase ácida, também conhecida por fosfatase ácida ou *Api m3*, é uma glicoproteína e um potente alergénio presente no BV, representando cerca de 1 % a 2 % do peso seco do veneno [19].

Embora o seu mecanismo ainda seja fracamente entendido/estudado, esta enzima é responsável pelas reações alérgicas IgE mediadas e promove a libertação de histamina dos basófilos de humanos, causando reações espontâneas e urticária. A sua aplicação em imunoterapia está a ser estudada pois 37 % das pessoas alérgicas ao BV desenvolvem IgE específicas para *Api m3* [42].

4.6.4. - Fosfolipase B

A fosfolipase B (PLB), também conhecida por lisofosfolipase, é uma enzima presente no veneno da abelha em pequenas concentrações, cerca de 1 % do seu peso seco. O seu pH varia entre 8,5 e 10, sendo mais estável a 100 °C, a pH 7 [43].

Esta enzima apresenta atividade PLA1 e PLA2, sendo responsável por clivar fosfolípidos nas posições sn1 e sn2 das cadeias acilo, aumentando a atividade da PLA2 [2]. Além disto, a PLB pode ser ativada na presença dos iões cálcio e magnésio [43].

4.6.5. - α -Glucosidase

A α -glucosidase é uma enzima com um valor inferior a <1 % do peso seco do veneno. Apresenta estabilidade a pH entre 5 e 10, sendo o seu pH ótimo igual a 5,5, mas desnatura a um pH inferior a 4,5. Relativamente à temperatura, ela é estável a 40 °C mas fica totalmente disfuncional quando deixada a 60 °C durante 15 minutos [44].

A α -glucosidase atua na ligação α -glicosídica no terminal não redutor de um substrato e liberta α -glucose como produto. A sua função é degradar a sacarose do néctar em glucose e frutose para formar o mel [44].

4.7. - Aminas

4.7.1. - Histamina

A histamina é a maior amina biogénica no BV, correspondendo entre 0,5 % e 2 % do peso seco do veneno [45].

Durante a resposta alérgica, esta amina é o principal mediador inflamatório libertado de imediato na pele, principalmente mediado pelo peptídeo MCD. A histamina promove o efeito de vazamento capilar (libertação de plasma sanguíneo através das paredes dos capilares, do sistema circulatório para os tecidos circundantes), provocando irritação, inchaço e dor [19].

4.7.2. - Dopamina e Noradrenalina

A dopamina e a noradrenalina são compostos de baixo PM, correspondendo a <1 % do peso seco do veneno [19].

São agentes inotrópicos e têm sido apontados como inibidores de protéases, desempenhando assim um papel na homeostase e atuando como um agente anti-inflamatório [46]. Além disso, estas duas aminas são responsáveis pelo aumento da distribuição do BV devido ao aumento do *output* cardíaco que provocam [2], [47].

5 – As Doenças Neuro Degenerativas

As doenças neuro degenerativas são, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), um grupo de doenças que incluem Epilepsia, doença de Alzheimer (AD) e outras demências, doença de Parkinson (PD), Esclerose Múltipla (MS), doença Cerebrovascular, Poliomielite, Meningite, Tétano, Encefalite Japonesa, entre outras. Estas doenças são uma das grandes causas de morte em todo o mundo, correspondendo a 12 % do total de mortes [48]. Existe um

enorme estigma à volta destas doenças devido ao seu poder incapacitante a nível social, o que, além dos sintomas da própria doença, pode levar a depressão e mesmo ao suicídio [49].

A efetividade do veneno da abelha e da vespa (Fig. 6) contra este tipo de doenças tem sido testado apenas em algumas delas, assim sendo, este trabalho de revisão foca-se nas seguintes doenças: doença de Alzheimer e doença de Parkinson; além destas duas doenças degenerativas, falarei também na Artrite Reumatoide e no Cancro.

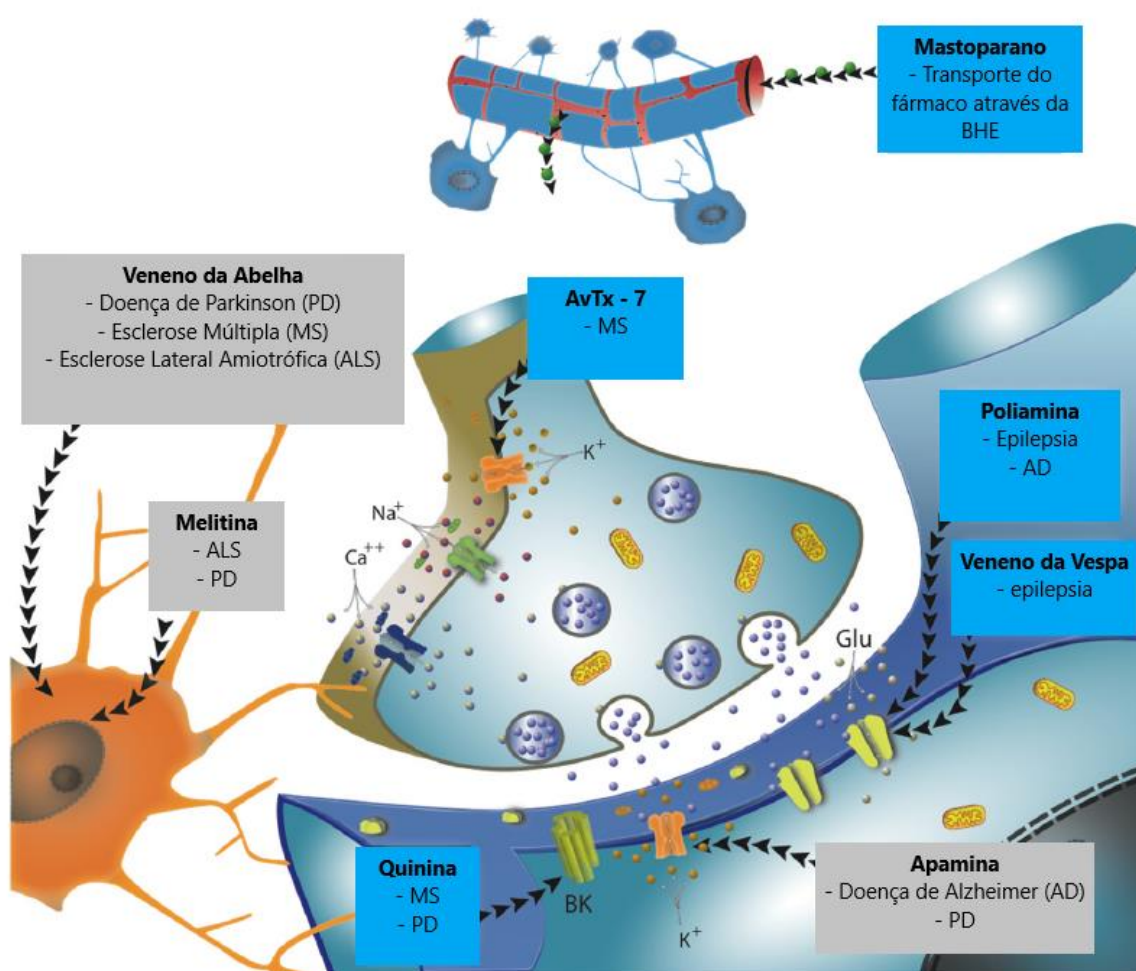


Figura 6: Principais alvos terapêuticos para o veneno da abelha e da vespa, no sistema nervoso, de acordo com a doença neuro degenerativa. Adaptado de: [45]

Independentemente da doença neurológica, este tipo de condições afeta significativamente o próprio doente e quem o rodeia, seja família, cuidadores ou mesmo a sociedade. A doença mais predominante deste grupo é a doença de Alzheimer, seguida pela doença de Parkinson e Epilepsia. As doenças neuro degenerativas são um grupo heterógeno com uma progressão imparável, onde a idade é o maior fator de risco [50]. Apesar da sua heterogeneidade, todas estas doenças são caracterizadas por incapacidade cognitiva, alterações motoras e mudanças de personalidade. Apesar dos milhares de estudos e do

esforço contínuo da comunidade científica, a etiologia específica da morte neuronal e da deposição de proteínas, nestas doenças, permanece desconhecida [50], [51].

5.1. - Doença de Parkinson (PD)

A doença de Parkinson (PD) foi definida em 1817, pelo médico *James Parkinson*, baseada em sintomas específicos dos seus pacientes [52].

É uma doença neuro degenerativa crónica, progressiva, sem cura, que afeta aproximadamente 10 milhões de pessoas a nível mundial [52]. A maioria dos doentes são pessoas de meia-idade e idosos. A ingestão elevada de cafeína, fumar e uma elevada exposição a pesticidas são fatores de risco comuns em todo o mundo [53].

A PD é caracterizada pela presença de agregados de proteínas α -sinucleares (*alpha-synuclein*) sob a forma de *Corpos de Lewis*, em regiões específicas do cérebro. Pensa-se que estes agregados possam ser responsáveis pela progressão da doença devido a promoverem a disfunção mitocondrial, ativação microglial e respostas neuroinflamatórias. Estudos recentes demonstram que esta patologia inicia-se nos intestinos e viaja até ao cérebro através do nervo vago, onde posteriormente se espalha, seguindo os 6 estágios definidos por *Braak* e seus colaboradores [54].

Embora o foco tenha sido a degeneração da substancia *nigra pars compacta*, é agora conhecido e bem aceite que o alastramento da α -sinucleína no cérebro ocorre em estágios e que o dano em outras áreas precede a degeneração dos neurónios do SNC, afetando os sistemas glutamatérgicos, noradrenérgicos, serotoninérgicos, histaminérgicos e colinérgicos [55], [56]. Esta neuro degeneração progressiva heterogénica explica a sintomatologia diversa da PD, que inclui alterações motoras e não motoras [57].

Os sintomas da PD normalmente evoluem gradualmente, são ligeiros inicialmente, diversos, caracterizados em motores e não motores, e normalmente pioram à medida que a doença vai progredindo com o tempo [58]. Existem 4 sintomas primários motores: tremores, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural. No que toca aos sintomas não motores, os doentes experienciam distúrbios olfativos, problemas em dormir, depressão e ansiedade, dor, psicose, fadiga, alterações cognitivas, perda de peso, problemas gastrointestinais, problemas urinários, problemas do foro sexual, transpiração excessiva, melanomas, mudanças de humor e problemas de visão. Nem todos os doentes experienciam todos estes sintomas, e a sua intensidade varia de doente para doente [52].

As terapias sintomáticas na PD têm como objetivo restaurar os níveis de dopamina ou normalizar a atividade dos gânglios basais no cérebro, mas o grande objetivo da comunidade científica permanece no desenvolvimento de estratégias neuro protetoras para abrandar a degeneração dos neurónios e consequente diminuição da progressão da doença.

5.1.1. - O Veneno da Abelha na Doença de Parkinson

Os tratamentos de acupuntura com BV demonstraram uma melhoria dos sintomas motores através de um efeito anti degenerativo, tanto *in vitro* como *in vivo* [59].

Começando pelos primeiros, em células de microglia enriquecidas com lipopolissacarídeos (LPS), o BV inibiu significativamente a produção de NO, iNOS, COX-2, PGE2, NF-kB e citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1B e IL6) [60], [61], [62]. Além disso, o BV aumentou a viabilidade neuronal diminuindo a apoptose [63].

Já *in vivo*, este tratamento preveniu a perda dos neurónios dopaminérgicos no *Striatum* (devido à hiperpolarização resultante do bloqueio dos canais de K⁺ ativados pelo Ca²⁺ por parte da apamina) e SN, e aumentou os níveis de dopamina em ratos [64]. No que toca à atividade locomotora, esta foi reestabelecida após a administração do BV nos ratos, depois de terem sido expostos a *Rotenona* (substância química existente nas raízes e talos de várias plantas, causadora dos sintomas da PD). O tratamento diminuiu o dano do DNA e inibiu a expressão dos genes Bax, Bcl-2 e caspase-3 no cérebro dos ratos. Estes resultados demonstram que o BV normalizou todos os marcadores apoptóticos e neuro inflamatórios, restabelecendo a atividade cerebral após a lesão derivada da exposição à *Rotenona* [65].

Embora todos estes resultados sejam promissores, alguns estudos [66] sugerem que a administração do BV, mesmo em pequenas doses, durante períodos excessivos de tempo, com pequenos intervalos entre tratamentos, pode causar a morte dos neurónios. Aumentando o tempo de intervalo entre tratamentos, com doses muito pequenas de BV, consegue-se um efeito neuroprotetor [67].

Um outro estudo [68] sugere que a proteção contra os processos neuroinflamatórios é devido à PLA2 e não a melitina. Os ratos tratados apenas com PLA2 demonstraram melhor atividade motora do que os tratados com melitina. O autor refere que mais estudos devem ser realizados, pelo que tem um resultado promissor, mas inconclusivo.

Embora os potenciais efeitos neuroprotetores da apitoxina sejam altamente relevantes para terapias futuras, os estudos clínicos não conseguiram confirmar os efeitos benéficos destes tratamentos.

Nos últimos 15 anos realizaram-se vários estudos, sendo que um deles [69] dividiu os pacientes em 3 grupos: tratamento com acupuntura com BV, tratamento apenas com acupuntura ou sem tratamento. Embora os resultados demonstrem que tanto o grupo tratado com acupuntura com BV e apenas acupuntura apresentaram melhorias significativas comparando com o grupo controle, não se consegue afirmar que se deve ao BV ou só à acupuntura.

Outro estudo concluiu ainda que, para se obterem resultados mais promissores e significantes, devia aumentar-se a frequência de administração e a dose individual do BV [67].

Assim, é necessário a realização de estudos mais aprofundados para se isolar o verdadeiro responsável pelas melhorias no que toca a estes tratamentos.

5.2. - Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (AD) é a doença degenerativa mais comum. É responsável por 60 % a 70 % dos casos de demência, correspondendo a cerca de 40 a 50 milhões de pessoas a nível mundial, tendo os números duplicado desde 1990 [70].

Tipicamente, a AD caracteriza-se por uma degeneração neurológica progressiva com perda gradual da memória e alterações de funções cognitivas, como noção de espaço, pensamento, procura de palavras, julgamento e resolução de problemas [71]. Sendo a idade o maior fator de risco desta doença (embora possa aparecer em qualquer idade), a maior incidência verifica-se em pessoas com mais de 65 anos, é esporádica e não está relacionada com os genes, enquanto que a AD em pessoas entre os 35 e os 65 anos de idade apresenta uma alta taxa de recorrência em famílias afetadas em gerações anteriores, existindo assim uma relação genética com a doença [72], [73].

É ativada pela acumulação de peptídeos beta-amiloides ($A\beta$) (formando depósitos) e neuro inflamação (NFTs e NTs) [74], [75]. A deposição de peptídeos beta-amiloides ($A\beta$) é um processo que ocorre ao longo dos anos, muito antes do aparecimento dos sintomas [76], [77], sendo que cerca de um terço da população com mais de 65 anos e com uma função cognitiva normal, tem esses mesmos depósitos equivalentes a uma pessoa com AD [78].

Embora a etiologia da AD permaneça desconhecida, as evidências sugerem que as respostas inflamatórias têm um papel essencial na sua patogénese [79], [80].

Desde 2002 até 2012 foram testadas 221 substâncias devido ao seu possível potencial no tratamento da AD e, nenhuma demonstrou efeito diferente do placebo [81]. O tratamento da AD é um tratamento sintomático e consiste na administração de inibidores da

acetilcolinesterase (AChEI) (estão aprovados apenas o Donepezilo, a Tacrina, a Rivastigmina e a Galantamina) e antagonistas dos recetores de NMDA (Memantina) [51]. Ao utilizar os AChEI, há uma diminuição do metabolismo da acetilcolina e consequente melhoria da neurotransmissão [82]. Os antagonistas dos recetores de NMDA atuam compensando a ativação anormal do tónico pelo Glutamato e são mais eficientes em estados mais avançados da doença [83]. Como dito anteriormente, estes fármacos apenas ajudam no tratamento dos sintomas, logo há uma urgência em desenvolver tratamentos inovadores para a AD [48]. Dada a existência de vários mecanismos para explicar a doença de Alzheimer a figura 7 mostra os possíveis tratamentos, quer atuais quer futuros, baseados na modificação dessas vias mecanísticas.[84].

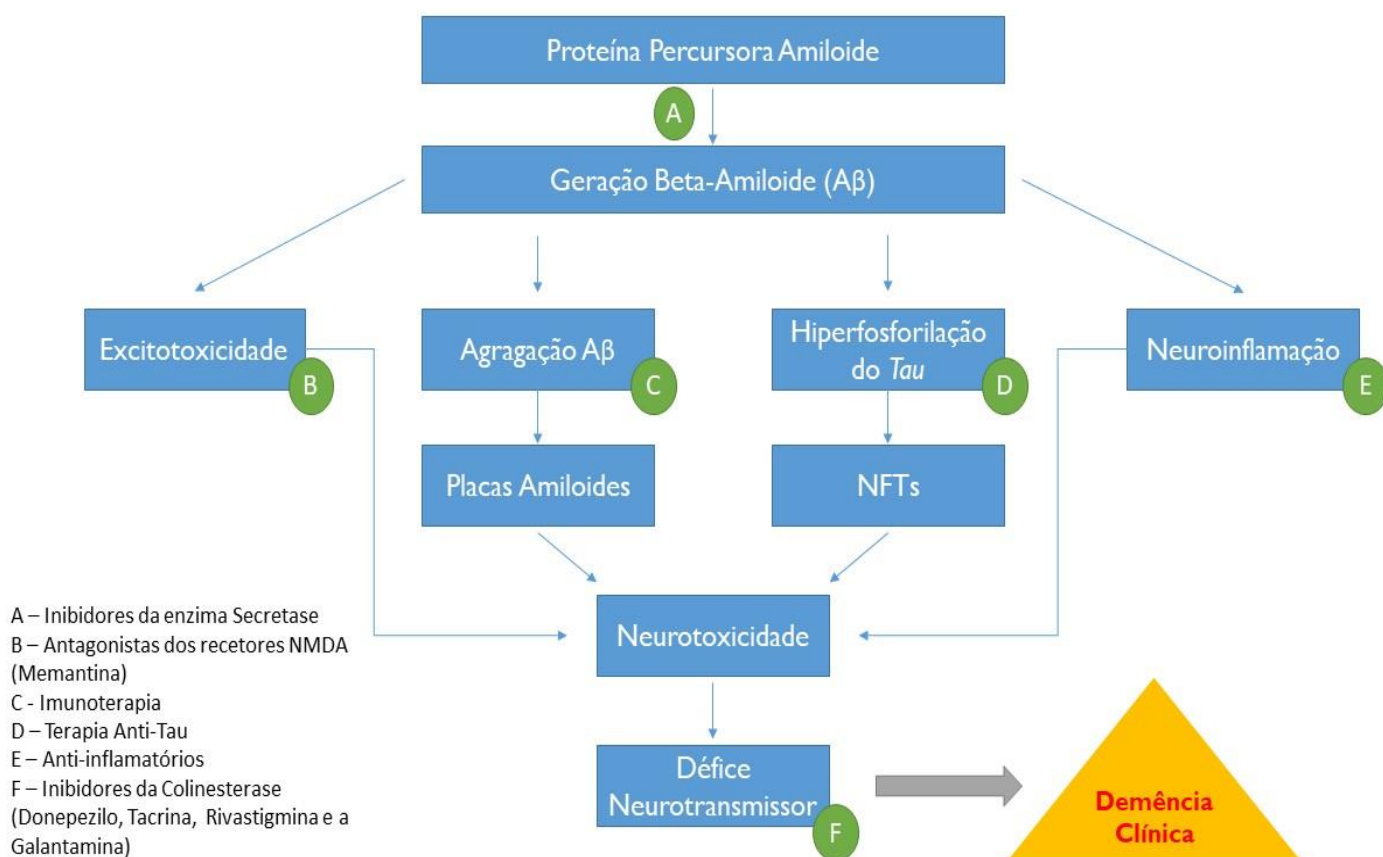


Figura 7: Alvos terapêuticos na AD. Adaptado de: [84]

5.2.1. - O Veneno da Abelha na Doença de Alzheimer

A apamina consegue aumentar a excitabilidade neuronal no hipocampo, na região CA1, assim como a plasticidade sináptica em ratos senis, sugerindo um potencial terapêutico

na AD [85]. *Gu e colaboradores* [86] descobriram que, em ratos com perda de memória induzida por LPS, o BV inibiu significativamente a amiloidogênese e a resposta neuro inflamatória através da inibição da via de sinalização NF- κ B no cérebro e em células de cultura. *Ye e colaboradores* [87] demonstraram que a PLA2 consegue aumentar a função cognitiva através da desativação da microglia e da redução da infiltração celular de células T CD4⁺. Assim, a PLA2 pode ser utilizada para bloquear a progressão da doença. Este mesmo estudo demonstrou que a PLA2 pode aumentar o metabolismo cerebral da glucose e reduzir as respostas neuro inflamatórias no hipocampus, o que pode limitar a patogênese da doença. Um estudo mais recente mostrou que as populações de células T reguladoras podem ser moduladas pelo tratamento com PLA2 derivado do BV, em modelos animais. Assim, estes autores sugerem que uma nova terapêutica associando a PLA2 do BV com a vacinação A β (peptídeos beta amiloides) deve ser testada, de forma a prevenir a resposta inflamatória adversa da vacinação A β [88].

6 – Artrite Reumatóide

A Artrite Reumatóide (RA) pertence às artropatias inflamatórias mais comuns. É uma doença crônica autoimune, que origina dor e rigidez, inchaço e deformação das articulações, o que pode originar perda de funcionalidade, reduzir a qualidade de vida e aumentar a morbidade e a mortalidade [89].

O quadro clínico é precedido por uma fase pré-RA, que dura vários anos, caracterizada por anticorpos circulantes, concentrações elevadas de quimiocinas e citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1, etc.) assim como um diferente metabolismo. Tratamentos extremamente agressivos e imunoterapia ajudam a retardar a progressão da doença, mas não existe uma cura [90].

O objetivo principal do tratamento da RA é parar a inflamação, aliviar os sintomas, prevenir o dano das articulações e órgãos, melhorar a função física e reduzir as complicações a longo prazo. Os modelos atuais de tratamento são tratamentos intensivos da inflamação num estado precoce da doença [89].

6.1. - O Veneno da Abelha na Artrite Reumatóide

Como alguns doentes não respondem aos tratamentos convencionais, é necessário um desenvolvimento rápido de novas estratégias para combater a doença. É aí que entra o BV, mais especificamente a melitina, com vários estudos que provam o seu potencial anti-inflamatório, sendo uma possível estratégia terapêutica [91].

O BV é usado tradicionalmente na medicina oriental para o tratamento da RA. Os primeiros estudos publicados remontam à década de 70, onde se demonstra que a terapia com BV reduz significativamente a rigidez matinal, a inflamação nas articulações, assim como melhora a qualidade de vida dos doentes [92]. Além disto, o BV é capaz de diminuir os efeitos secundários tóxicos associados aos fármacos utilizados no tratamento da doença, aumentando mesmo o seu efeito quando utilizado em combinação [93]. *Darwish e seus colaboradores* [94] descobriram que a combinação do BV com o metotrexato potencia o efeito antiartrítico do metotrexato e reduz a hepatotoxicidade associada ao mesmo.

Nestes estudos são utilizados, na maioria das vezes, “ratos com artrite induzida por colagénio”. Para provocar artrite autoimune, estes ratos são imunizados com uma emulsão de colagénio tipo II e adjuvante de Freud, levando a uma progressão da doença similar à verificada na RA [95].

Quando injetado o BV nos ratos através de acupuntura, o veneno demonstrou ter efeitos anti-nociceptivos, enquanto que a solução salina administrada da mesma forma ou a apitoxina administrada sem ser por acupuntura não tiveram qualquer efeito [96].

Curiosamente, embora o efeito não se altere na presença de um antagonista dos recetores μ -opióides, um pré-tratamento com um antagonista dos recetores alfa2-adrenérgicos provocou uma elevada nocicepção, levando a assumir que os efeitos anti-nociceptivos dependem da via alfa2-adrenérgica [96]. Em contraste, outro estudo relatou que a inflamação local induzida pela melitina, dor e hipersensibilidade aquando da injeção nos ratos, provocou uma maior e mais intensa resposta comparando com as respostas obtidas por outros componentes da apitoxina [97]. Além disso, sugeriu-se que a apitoxina iniba a produção de citocinas (IFN-gama, IL-1B, TNF- α , etc.) em ratos, em doses mais elevadas, diminuindo assim a progressão da doença [98]. A fração solúvel em água da apitoxina (que contem, entre outros, melitina) demonstrou suprimir o edema nas patas dos ratos e várias mudanças radiológicas, e diminuiu também os níveis de IL-6 e o comportamento nociceptivo. Neste estudo, os autores sugerem que os resultados positivos não são dependentes apenas de uma substância isolada mas sim da mistura complexa presente na fração solúvel da apitoxina [99].

O BV reduziu também os níveis de proteases extracelulares, citoplasmáticas e lisossomais, mas o mecanismo responsável e a sua relevância permanecem desconhecidos [100].

7 – Cancro

O Cancro engloba um grupo heterogéneo de doenças, definido pela divisão celular descontrolada e o seu potencial para invadir outros tecidos como fenótipo. É a principal causa de morte a nível mundial, com 8,2 milhões de mortes e 14,1 milhões de novos casos, anualmente, sendo assim um dos maiores custos dos sistemas nacionais de saúde [101]. Devido a uma maior preocupação por parte da população, tem-se verificado um maior número de casos detetados numa fase mais inicial do cancro e uma melhoria dos tratamentos, o que significa que existe um maior número de pessoas a viver com conhecimento da doença e também um maior número de pessoas que conseguiram vencer a doença (só possível devido à sua deteção precoce) [102].

Um elevado número de doentes com cancro, ou que já superaram o cancro, experiênciam uma baixa qualidade de vida, isto devido a problemas associados ao cancro como a depressão, ansiedade, angústia, medo de recorrência, fraco apoio social e, por vezes, problemas familiares. Quando um doente sente qualquer um destes problemas, acaba por se isolar mais, o que torna o processo de tratamento e recuperação mais difícil. Esta vertente psicológica é importantíssima e não deve ser omitida pelos doentes [103].

Apesar do progresso nas terapias para o cancro, nos últimos anos, incluindo cirurgia, quimioterapia, radioterapia e terapia com hormonas, problemas como a reincidência, seletividade insuficiente de efeitos tóxicos ou a formação de resistência aos tratamentos, ainda permanecem, resultando em taxas de sucesso inferiores a 50 %. Além disto, o acesso a tratamentos especiais, como a radioterapia, é limitado, especialmente em países pobres ou em desenvolvimento. Assim, existe uma urgência na descoberta de novas terapias de forma a ultrapassar estes problemas, onde se poderá inserir o BV [45].

7.1. - O Veneno da Abelha no Cancro

O uso da apitoxina, especialmente o seu principal composto melitina, tem ganho mais atenção por parte da comunidade científica no que toca a terapêutica contra o cancro [104], [105]. A melitina é conhecida por ser um peptídeo citolítico não específico que consegue atacar a bicamada lipídica, levando a uma elevada toxicidade quando injetado via IV [106]. Independentemente, várias abordagens têm sido realizadas. O BV “cru”, assim como a melitina isolada, mostraram ter efeitos anti tumorais contra diferentes tipos de células cancerígenas, incluindo no peito, fígado, pulmões, melanomas, próstata e leucemia [104], [106], [107], [108], [109]. Wang e colaboradores [110] estudaram o mecanismo por trás da atividade anti tumoral da melitina, concluindo que esta consegue induzir apoptose de células de carcinoma hepatocelular (HCC) através da ativação da via de sinalização CaMKII-TAK1-JNK/p38 (CaMKII: proteína cinase dependente de Ca^{2+} /calmodulina; TAK1: Transforming growth factor-beta-activated kinase I; JNK/p38: proteína cinases ativadas por mitogénio). Além disso, a melitina consegue sintetizar células HCC resistentes a TRAIL (Tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand) em apoptose induzida por TRAIL, provavelmente ativando a via referida atrás e inibindo a via IKK-NFkB. Estes estudos estão de acordo com a ativação dos canais de cálcio pela melitina, que leva a um aumento do Ca^{2+} intracelular e à ativação do CaMKII cálcio-sensível (Fig. 8) [6].

Park e colaboradores [111] referiram que a melitina inibe o crescimento das células cancerígenas, tanto *in vitro* como *in vivo*, através da ativação da via das caspases (3 e 9) e da inibição da sinalização NF-kB (Fig. 8) [6].

No cancro, a metastização e a invasão de células malignas são as principais razões da proliferação da doença. Assim, os investigadores na área do cancro tentam focar-se no entendimento dos mecanismos moleculares que regulam a migração de células malignas, e uma possível forma de a prevenir [112], [113]. Neste contexto, foi descoberto que a Melitina inibe, *in vitro* e *in vivo*, a motilidade das células HCC suprimindo as vias dependentes de Rac1 [107]. Por outro lado, um estudo recente provou que a combinação da melitina com um agente quimioterapêutico, como a Temozolomida, diminui o crescimento tumoral e a invasão dos melanomas, quando comparado com condições onde apenas se usou um deles isoladamente [105].

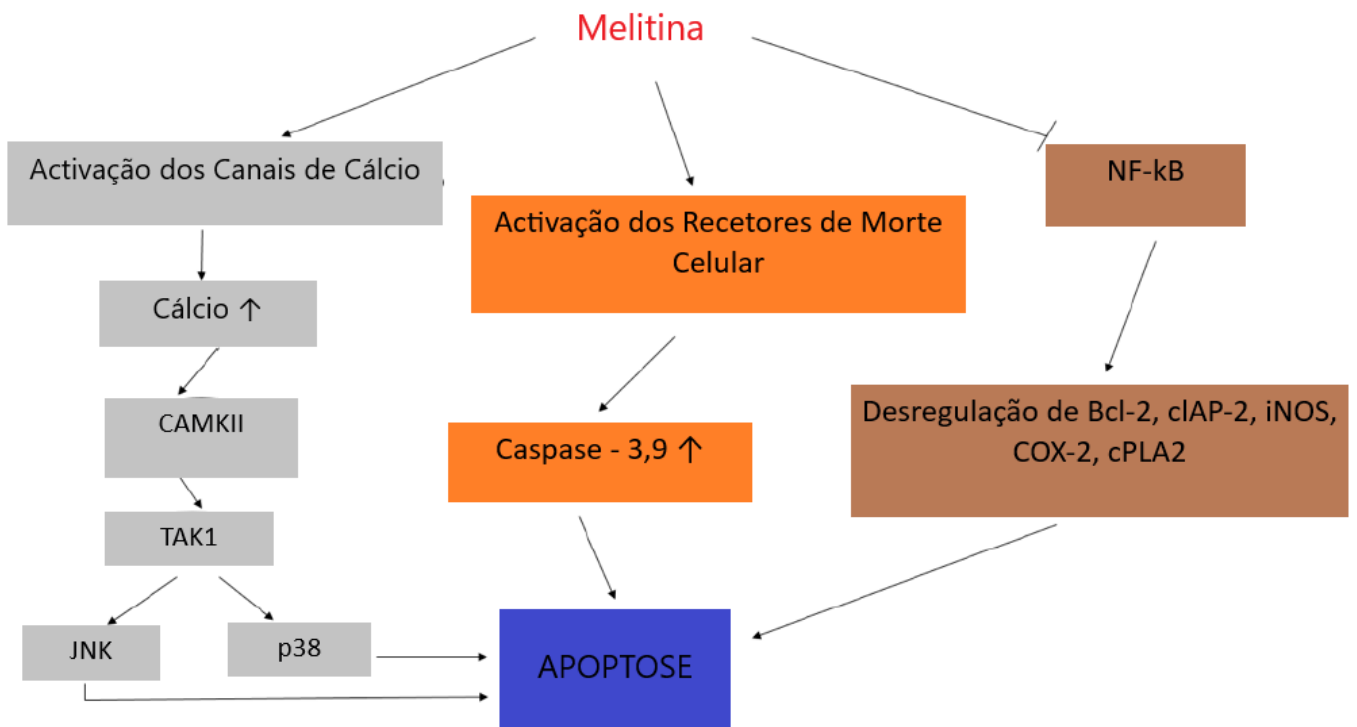


Figura 8: Principais mecanismos de ação da melitina como agente anticancerígena. Adaptado de: [6]

Embora haja dados suficientes para se avançar com mais estudos sobre o BV e a melitina na área do cancro, a sua aplicação em humanos permanece bastante desafiante devido à sua citotoxicidade não específica. Estão em estudo modelos baseados em nanotecnologia, permitindo assim a otimização dos métodos para tentar diminuir a citotoxicidade.

8 – Perspetivas futuras

As abordagens terapêuticas utilizadas com o BV estão ainda muito rudimentares. Os estudos existentes são poucos e a área ainda não está muito desenvolvida. É incrível como é que 50 anos depois de se caracterizar o veneno da abelha, os avanços científicos sejam ainda relativamente poucos.

Está visto que este composto é bastante promissor através dos estudos publicados. Assim, sugiro que se desenvolvam mais pesquisas, onde se apliquem maiores concentrações do BV “cru” ou de algum dos compostos isolado e se aumente a frequência de administração, de forma a tentar verificar se a teoria já estudada se aplica na parte prática. De referir que é também necessário identificar melhor qual dos componentes do BV é responsável por cada

processo. Esta parte está ainda muito incerta, o que faz com que seja muito difícil aplicar terapias corretas pois a totalidade dos mecanismos é ainda desconhecida.

Como referido anteriormente, estão em desenvolvimento terapias envolvendo a nanotecnologia e o BV. Este parece-me um caminho promissor pois é sabido na comunidade científica que a nanotecnologia é capaz de resolver problemas de toxicidade adjacentes às terapêuticas atuais, tal como de especificidade.

9 – Conclusão

O ser Humano está exposto a diversas toxinas no seu dia-a-dia que podem ou não levar à morte. A apitoxina é um desses exemplos. Em certas pessoas, uma picada de abelha pode ser fatal, devido a uma reação inflamatória exagerada por parte do corpo humano.

A existência das abelhas é conhecida há milhões de anos mas, no entanto, o seu veneno apenas começou a relevar interesse em meados do século passado. Após mais de 60 anos, o conhecimento sobre o seu potencial terapêutico ainda permanece pouco estudado.

Com este trabalho de revisão podemos verificar que a composição do veneno da abelha está bem detalhada, embora a maioria dos mecanismos associados a cada composto seja desconhecido na sua totalidade. As doenças degenerativas são uma área de elevado interesse devido à falta de terapias eficazes. Assim, tem-se estudado o potencial da aplicação da apitoxina neste campo, onde se conclui que os estudos existentes são inconclusivos. São necessários mais estudos onde se determine com maior precisão os mecanismos de ação associados a cada componente do veneno para um melhor entendimento sobre qual composto pode ser mais promissor, e isolá-lo de forma a poder estudar novas abordagens terapêuticas.

Os avanços da nanotecnologia poderão trazer novas abordagens, sendo assim uma área de elevado interesse neste tema.

10 – Referências

- [1] C. D. KLAASSEN, *Casarett & Doull's Toxicology*, 9th ed. McGraw Hill Education, (2019).
- [2] PUCCA MB, CERNI FA, OLIVEIRA IS, et al. Bee Updated: Current Knowledge on Bee Venom and Bee Envenoming Therapy. *Front Immunol.* (2019);10:2090. doi:10.3389/fimmu.2019.02090
- [3] DANFORTH B, “Bees,” *Current Biology*, vol. 17, no. 5, pp. 156–161.
- [4] PASCOAL A, ESTEVINHO MM, CHOUPINA AB, SOUSA-PIMENTA M, ESTEVINHO LM. An overview of the bioactive compounds, therapeutic properties and toxic effects of apitoxin. *Food Chem Toxicol.* (2019);134:110864. doi:10.1016/j.fct.2019.110864
- [5] BELLIK, Y. (2015). Bee Venom: Its Potential Use in Alternative Medicine. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*. 13. 3-16. 10.2174/2211352513666150318234624.
- [6] WEHBE R, FRANGIEH J, RIMA M, EL OBEID D, SABATIER JM, FAJLOUN Z. Bee Venom: Overview of Main Compounds and Bioactivities for Therapeutic Interests. *Molecules*. 2019;24(16):2997. doi:10.3390/molecules24162997
- [7] PINO-ANGELES A, LAZARIDIS T. Effects of Peptide Charge, Orientation, and Concentration on Melittin Transmembrane Pores. *Biophys J.* (2018);114(12):2865-2874. doi:10.1016/j.bpj.2018.05.006
- [8] PARK MH, KIM JH, JEON JW, et al. Preformulation Studies of Bee Venom for the Preparation of Bee Venom-Loaded PLGA Particles. *Molecules*. (2015);20(8):15072-15083. doi:10.3390/molecules200815072
- [9] HOUSECROFT CE. The Sting's the Thing. *Chimia (Aarau)*. (2019);73(12):1037-1038. doi:10.2533/chimia.2019.1037
- [10] LEE MT, SUN TL, HUNG WC, HUANG HW. Process of inducing pores in membranes by melittin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* (2013);110(35):14243-14248. doi:10.1073/pnas.1307010110
- [11] EZE O. B. L., NWODO O. F. C., and OGUGUA V. N., “Therapeutic Effect of Honey Bee Venom”, *J Pharm Chem Biol Sci*, vol. 4, no. 1, pp. 48–53, (2016).
- [12] CHOI, C. S., PARK, J. K., AN, C. G., LEE, E. H., & AHN, K. J. (2015). Multiple Benefits of Bee Venom in Aged Skin Manifestations . *Kor J Aesthet Cosmetol*, 13(5), 679–688. Retrieved from <http://e-ajbc.org/journal/view.php?number=884>

- [13] CORNARA L, BIAGI M, XIAO J, BURLANDO B. Therapeutic Properties of Bioactive Compounds from Different Honeybee Products. *Front Pharmacol.* (2017);8:412. doi:10.3389/fphar.2017.00412
- [14] NGUYEN, HV; HEGER, Z; KOMINKOVA, M; MICHALEK, P; GUMULEC, J; GURAN, R; PRIDAL, A; FERNANDEZ, C; HYNEK, D; ADAM, V; KIZEK, R, (2015): The Electrochemical and Statistical Evaluation of Isolation of Mellitin and Apamin from Honey Bee (*Apis Mellifera*) Venom. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ELECTROCHEMICAL SCIENCE* 10(2), p. 1249 - 1260
- [15] UDDIN MB, LEE BH, NIKAPITIYA C, et al. Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses in vitro and in vivo. *J Microbiol.* (2016);54(12):853-866. doi:10.1007/s12275-016-6376-1
- [16] LEE G, BAE H. "Anti-Inflammatory Applications of Melittin, a Major Component of Bee Venom: Detailed Mechanism of Action and Adverse Effects". *Molecules.* (2016);21(5): 616. doi:10.3390/molecules21050616
- [17] KACHEL, H. S., BUCKINGHAM, S. D., & SATTELLE, D. B. (2018). Insect toxins – selective pharmacological tools and drug/chemical leads. *Current Opinion in Insect Science*, 30, 93–98.
- [18] SON DJ, LEE JW, LEE YH, SONG HS, LEE CK, HONG JT. "Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds". *Pharmacol Ther.* (2007); 115(2):246-270.
- [19] RADY I, SIDDIQUI IA, RADY M, MUKHTAR H. "Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy". *Cancer Lett.* (2017);402:16-31. doi:10.1016/j.canlet.2017.05.010
- [20] MOGA MA, DIMIENESCU OG, ARVĂTESCU CA, IFTENI P, PLEȘ L. "Anticancer Activity of Toxins from Bee and Snake Venom-An Overview on Ovarian Cancer". *Molecules.* (2018);23(3):692. doi:10.3390/molecules23030692
- [21] GRANIER, C., MULLER, E.P. and VAN RIETSCHOTEN, J. (1978), Use of Synthetic Analogs for a Study on the Structure-Activity Relationship of Apamin. *European Journal of Biochemistry*, 82: 293-299. doi:10.1111/j.1432-1033.1978.tb12023.x
- [22] KIM JY, KIM KH, LEE WR, et al. Apamin inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration through suppressions of activated Akt and Erk signaling pathway. *Vascul Pharmacol.* (2015);70:8-14. doi: 10.1016/j.vph.2014.12.004

- [23] KIM JY, AN HJ, KIM WH, PARK YY, PARK KD, PARK KK. Apamin suppresses biliary fibrosis and activation of hepatic stellate cells. *Int J Mol Med.* (2017);39(5):1188-1194. doi:10.3892/ijmm.2017.2922
- [24] SHIN SH, YE MK, CHOI SY, PARK KK. The Effects of Melittin and Apamin on Airborne Fungi-Induced Chemical Mediator and Extracellular Matrix Production from Nasal Polyp Fibroblasts. *Toxins (Basel).* (2017);9(11):348. doi:10.3390/toxins9110348
- [25] RATCLIFFE N, AZAMBUJA P, MELLO CB. Recent advances in developing insect natural products as potential modern day medicines. *Evid Based Complement Alternat Med.* (2014);2014:904958. doi:10.1155/2014/904958
- [26] KIM JY, LEE WR, KIM KH, et al. Effects of bee venom against *Propionibacterium acnes*-induced inflammation in human keratinocytes and monocytes. *Int J Mol Med.* (2015);35(6):1651-1656. doi:10.3892/ijmm.2015.2180
- [27] MESSIER C, MOURRE C, BONTEMPI B, SIF J, LAZDUNSKI M, DESTRADE C. Effect of apamin, a toxin that inhibits Ca(2+)-dependent K⁺ channels, on learning and memory processes. *Brain Res.* (1991);551(1-2):322-326. doi:10.1016/0006-8993(91)90950-z
- [28] CHERNIACK EP, GOVORUSHKO S. To bee or not to bee: The potential efficacy and safety of bee venom acupuncture in humans. *Toxicon.* (2018);154:74-78. doi:10.1016/j.toxicon.2018.09.013
- [29] CHEN J, GUAN SM, SUN W, FU H. Melittin, the Major Pain-Producing Substance of Bee Venom. *Neurosci Bull.* (2016);32(3):265-272. doi:10.1007/s12264-016-0024-y
- [30] LEE, K. S., KIM, B. Y., YOON, H. J., CHOI, Y. S., & JIN, B. R., Secapin, a bee venom peptide, exhibits anti-fibrinolytic, anti-elastolytic, and anti-microbial activities. *Developmental & Comparative Immunology*, 63, 27–35. (2016) <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.05.011>
- [31] JUNG SY, LEE KW, CHOI SM, YANG EJ. Bee Venom Protects against Rotenone-Induced Cell Death in NSC34 Motor Neuron Cells. *Toxins (Basel).* (2015);7(9):3715-3726. doi:10.3390/toxins7093715
- [32] DOS SANTOS-PINTO JRA, PEREZ-RIVEROL A, LASA AM, PALMA MS. Diversity of peptidic and proteinaceous toxins from social Hymenoptera venoms. *Toxicon.* (2018);148:172-196. doi:10.1016/j.toxicon.2018.04.029
- [33] SAMEL M, VIJA H, KURVET I, et al. Interactions of PLA2-s from *Vipera lebetina*, *Vipera berus berus* and *Naja naja oxiana* venom with platelets, bacterial and cancer cells. *Toxins*

- (Basel). (2013);5(2):203-223. doi:10.3390/toxins5020203
- [34] LU ZM, XIE F, FU H, et al. Roles of peripheral P2X and P2Y receptors in the development of melittin-induced nociception and hypersensitivity. *Neurochem Res.* (2008);33(10):2085-2091. doi:10.1007/s11064-008-9689-6
- [35] MINGARRO I, PÉREZ-PAYÁ E, PINILLA C, APPEL JR, HOUGHTEN RA, BLONDELLE SE. Activation of bee venom phospholipase A2 through a peptide-enzyme complex. *FEBS Lett.* (1995);372(1):131-134. doi:10.1016/0014-5793(95)00964-b
- [36] WELKER S, MARKERT Y, KÖDITZ J, MANSFELD J, ULBRICH-HOFMANN R. Disulfide bonds of phospholipase A2 from bee venom yield discrete contributions to its conformational stability. *Biochimie.* (2011);93(2):195-201. doi:10.1016/j.biochi.2010.09.012
- [37] BOUTRIN, M.-C. F., FOSTER, H. A., & PENTREATH, V. W. (2008). The effects of bee (*Apis mellifera*) venom phospholipase A2 on *Trypanosoma brucei brucei* and enterobacteria. *Experimental Parasitology*, 119(2), 246–251. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.02.002>
- [38] BORDON KC, WIEZEL GA, AMORIM FG, ARANTES EC. Arthropod venom Hyaluronidases: biochemical properties and potential applications in medicine and biotechnology. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* (2015);21:43. doi:10.1186/s40409-015-0042-7
- [39] MARKOVIĆ-HOUSLEY Z, MIGLIERINI G, SOLDATOVA L, RIZKALLAH PJ, MÜLLER U, SCHIRMER T. Crystal structure of hyaluronidase, a major allergen of bee venom. *Structure.* (2000);8(10):1025-1035. doi:10.1016/s0969-2126(00)00511-6
- [40] ELIEH ALI KOMI D, SHAFAGHAT F, ZWIENER RD. Immunology of Bee Venom. *Clin Rev Allergy Immunol.* (2018);54(3):386-396. doi:10.1007/s12016-017-8597-4
- [41] REITINGER, S., BOROVIK, T., LASCHNER, G. T., FEHRER, C., MÜLLEGER, J., LINDNER, H., & LEPPERDINGER, G. (2008). High-yield recombinant expression of the extremophile enzyme, bee hyaluronidase in *Pichia pastoris*. *Protein Expression and Purification*, 57(2), 226–233.
- [42] GRUNWALD, T., BOCKISCH, B., SPILLNER, E., RING, J., BREDEHORST, R., & OLLERT, M. W. (2006). Molecular cloning and expression in insect cells of honeybee venom allergen acid phosphatase (Api m 3). *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(4), 848–854.

- [43] DOERY HM, PEARSON JE. Phospholipase B in snake venoms and bee venom. *Biochem J.* (1964);92(3):599-602. doi:10.1042/bj0920599
- [44] KUBOTA M, TSUJI M, NISHIMOTO M, et al. Localization of alpha-glucosidases I, II, and III in organs of European honeybees, *Apis mellifera* L., and the origin of alpha-glucosidase in honey. *Biosci Biotechnol Biochem.* (2004);68(11):2346-2352. doi:10.1271/bbb.68.2346
- [45] MORENO M, GIRALT E. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. *Toxins (Basel).* (2015);7(4):1126-1150. doi:10.3390/toxins7041126
- [46] NITECKA-BUCHTA A, BUCHTA P, TABEŃSKA-BOSAKOWSKA E, WALCZYŃSKA-DRAGON K, BARON S. Myorelaxant effect of bee venom topical skin application in patients with RDC/TMD Ia and RDC/TMD Ib: a randomized, double blinded study. *Biomed Res Int.* (2014);2014:296053. doi:10.1155/2014/296053
- [47] HABERMANN E. Bee and wasp venoms. *Science.* (1972);177(4046):314-322. doi:10.1126/science.177.4046.314
- [48] SILVA J, MONGE-FUENTES V, GOMES F, et al. Pharmacological Alternatives for the Treatment of Neurodegenerative Disorders: Wasp and Bee Venoms and Their Components as New Neuroactive Tools. *Toxins (Basel).* (2015);7(8):3179-3209. doi:10.3390/toxins7083179
- [49] DE BOER HM, MULA M, SANDER JW. The global burden and stigma of epilepsy. *Epilepsy Behav.* (2008);12(4):540-546. doi:10.1016/j.yebeh.2007.12.019
- [50] BEAL MF. Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Ann Neurol.* (1995);38(3):357-366. doi:10.1002/ana.410380304
- [51] HAMPEL H, PRVULOVIC D, TEIPEL S, et al. The future of Alzheimer's disease: the next 10 years. *Prog Neurobiol.* (2011);95(4):718-728.
- [52] CHENG YC, SU CH. Evidence Supports PA Prescription for Parkinson's Disease: Motor Symptoms and Non-Motor Features: A Scoping Review. *Int J Environ Res Public Health.* (2020);17(8):2894. doi:10.3390/ijerph17082894
- [53] GBD 2016 PARKINSON'S DISEASE COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology.* (2018). doi:10.1016/S1474-4422(18)30295-3

- [54] ULUSOY A, RUSCONI R, PÉREZ-REVUELTA BI, et al. Caudo-rostral brain spreading of α -synuclein through vagal connections. *EMBO Mol Med.* (2013);5(7):1119-1127. doi:10.1002/emmm.201302475
- [55] DEL TREDICI K, RÜB U, DE VOS RA, BOHL JR, BRAAK H. Where does parkinson disease pathology begin in the brain?. *J Neuropathol Exp Neurol.* (2002);61(5):413-426. doi:10.1093/jnen/61.5.413
- [56] BRAAK H, DEL TREDICI K, RÜB U, DE VOS RA, JANSEN STEUR EN, BRAAK E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging.* (2003);24(2):197-211. doi:10.1016/s0197-4580(02)00065-9
- [57] CHAUDHURI KR, SCHAPIRA AH. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *Lancet Neurol.* (2009);8(5):464-474. doi:10.1016/S1474-4422(09)70068-7
- [58] SVEINBJORNSDOTTIR S. The clinical symptoms of Parkinson's disease. *J Neurochem.* (2016);139 Suppl 1:318-324. doi:10.1111/jnc.13691
- [59] ZHANG S, LIU Y, YE Y, et al. Bee venom therapy: Potential mechanisms and therapeutic applications. *Toxicon.* (2018);148:64-73.
- [60] MOON DO, PARK SY, LEE KJ, et al. Bee venom and melittin reduce proinflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia. *Int Immunopharmacol.* (2007);7(8):1092-1101. doi:10.1016/j.intimp.2007.04.005
- [61] HAN S, LEE K, YEO J, et al. Effect of honey bee venom on microglial cells nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production stimulated by LPS. *J Ethnopharmacol.* (2007);111(1):176-181. doi:10.1016/j.jep.2006.11.008
- [62] JANG HS, KIM SK, HAN JB, AHN HJ, BAE H, MIN BI. Effects of bee venom on the pro-inflammatory responses in RAW264.7 macrophage cell line. *J Ethnopharmacol.* (2005);99(1):157-160. doi:10.1016/j.jep.2005.02.026
- [63] DOO, A.-R., KIM, S.-N., KIM, S.-T., PARK, J.-Y., CHUNG, S.-H., CHOE, B.-Y., ... PARK, H.-J. (2012). Bee venom protects SH-SY5Y human neuroblastoma cells from 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced apoptotic cell death. *Brain Research*, 1429, 106–115. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.10.003>
- [64] ALVAREZ-FISCHER D, NOELKER C, VULINOVIĆ F, et al. Bee venom and its component apamin as neuroprotective agents in a Parkinson disease mouse model. *PLoS One.* (2013);8(4):e61700. doi:10.1371/journal.pone.0061700

- [65] KHALIL WK, ASSAF N, ELSHEBINEY SA, SALEM NA. Neuroprotective effects of bee venom acupuncture therapy against rotenone-induced oxidative stress and apoptosis. *Neurochem Int.* (2015);80:79-86. doi:10.1016/j.neuint.2014.11.008
- [66] FLOREA A, PUICĂ C, VINȚAN M, BENGĂ I, CRĂCIUN C. Electrophysiological and structural aspects in the frontal cortex after the bee (*Apis mellifera*) venom experimental treatment. *Cell Mol Neurobiol.* (2011);31(5):701-714. doi:10.1007/s10571-011-9667-4
- [67] HARTMANN A, MÜLLNER J, MEIER N, et al. Bee Venom for the Treatment of Parkinson Disease - A Randomized Controlled Clinical Trial. *PLoS One.* (2016);11(7):e0158235. doi:10.1371/journal.pone.0158235
- [68] KIM KH, KIM M, LEE J, JEON HN, KIM SH, BAE H. Comparison of the Protective Effects of Bee Venom Extracts with Varying PLA₂ Compositions in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Toxins (Basel).* (2019);11(6):358. doi:10.3390/toxins11060358
- [69] CHO SY, SHIM SR, RHEE HY, et al. Effectiveness of acupuncture and bee venom acupuncture in idiopathic Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord.* (2012);18(8):948-952. doi:10.1016/j.parkreldis.2012.04.030
- [70] GBD 2016 PARKINSON'S DISEASE COLLABORATORS. Global, regional, and national burden of Parkinson's disease, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet Neurology.* (2018). doi:10.1016/S1474-4422(18)30295-3
- [71] MCKHANN GM, KNOPMAN DS, CHERTKOW H, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* (2011);7(3):263-269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005
- [72] GUERREIRO RJ, GUSTAFSON DR, HARDY J. The genetic architecture of Alzheimer's disease: beyond APP, PSENs and APOE. *Neurobiol Aging.* (2012);33(3):437-456. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.03.025
- [73] CACACE R, SLEEGERS K, VAN BROECKHOVEN C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimers Dement.* (2016);12(6):733-748. doi:10.1016/j.jalz.2016.01.012
- [74] MASTERS CL, BATEMAN R, BLENNOW K, ROWE CC, SPERLING RA, CUMMINGS JL. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers.* (2015);1:15056. doi:10.1038/nrdp.2015.56

- [75] SCHELTENS, P., BLENNOW, K., BRETHER, M. M. B., DE STROOPER, B., FRISONI, G. B., SALLOWAY, S., & VAN DER FLIER, W. M. (2016). Alzheimer's disease. *The Lancet*, 388(10043), 505–517. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1)
- [76] JACK CR JR, KNOPMAN DS, JAGUST WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol.* (2013);12(2):207-216. doi:10.1016/S1474-4422(12)70291-0
- [77] VILLEMAGNE VL, BURNHAM S, BOURGEAT P, et al. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* (2013);12(4):357-367. doi:10.1016/S1474-4422(13)70044-9
- [78] ROWE CC, BOURGEAT P, ELLIS KA, et al. Predicting Alzheimer disease with β -amyloid imaging: results from the Australian imaging, biomarkers, and lifestyle study of ageing. *Ann Neurol.* (2013);74(6):905-913. doi:10.1002/ana.24040
- [79] VAN ELDIK LJ, CARRILLO MC, COLE PE, et al. The roles of inflammation and immune mechanisms in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* (2016);2(2):99-109. doi:10.1016/j.trci.2016.05.001
- [80] KINNEY JW, BEMILLER SM, MURTISHAW AS, LEISGANG AM, SALAZAR AM, LAMB BT. Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y).* (2018);4:575-590. doi:10.1016/j.trci.2018.06.014
- [81] CUMMINGS JL, MORSTORF T, ZHONG K. Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimers Res Ther.* (2014);6(4):37. doi:10.1186/alzrt269
- [82] FRÖLICH L. The cholinergic pathology in Alzheimer's disease--discrepancies between clinical experience and pathophysiological findings. *J Neural Transm (Vienna).* (2002);109(7-8):1003-1013. doi:10.1007/s007020200083
- [83] SCHNEIDER LS, DAGERMAN KS, HIGGINS JP, MCSHANE R. Lack of evidence for the efficacy of memantine in mild Alzheimer disease. *Arch Neurol.* (2011);68(8):991-998. doi:10.1001/archneurol.2011.69
- [84] BRIGGS R, KENNELLY SP, O'NEILL D. Drug treatments in Alzheimer's disease. *Clin Med (Lond).* (2016);16(3):247-253. doi:10.7861/clinmedicine.16-3-247
- [85] ROMERO-CURIEL, A., LÓPEZ-CARPINTEYRO, D., GAMBOA, C., DE LA CRUZ, F., ZAMUDIO, S. AND FLORES, G. (2011), Apamin induces plastic changes in hippocampal

- neurons in senile Sprague–Dawley rats. *Synapse*, 65: 1062-1072. doi:10.1002/syn.20938
- [86] GU W, WANG H, WANG K. Extended X-ray absorption fine structure and multiple-scattering simulation of nickel dithiolene complexes Ni[S₂C₂(CF₃)₂]₂(n) (n = -2, -1, 0) and an olefin adduct Ni[S₂C₂(CF₃)₂]₂(1-hexene). *J Synchrotron Radiat.* (2015);22(1):124-129. doi:10.1107/S1600577514025041
- [87] YE, R. , OHTA, K. AND BABA, M. (2016) Temperature Dependence of Electrical Properties of Organic Thin Film Transistors Based on pn Heterojunction and Their Applications in Temperature Sensors. *Journal of Computer and Communications*, 4, 10-15. doi: 10.4236/jcc.2016.45002.
- [88] BAEK H, LEE CJ, CHOI DB, et al. Bee venom phospholipase A2 ameliorates Alzheimer's disease pathology in A β vaccination treatment without inducing neuro-inflammation in a 3xTg-AD mouse model. *Sci Rep.* (2018);8(1):17369. doi:10.1038/s41598-018-35030-1
- [89] FERRO F, ELEFANTE E, LUCIANO N, TALARICO R, TODOERTI M. One year in review 2017: novelties in the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* (2017);35(5):721-734.
- [90] FIRESTEIN GS, MCINNIS IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity.* (2017);46(2):183-196. doi:10.1016/j.immuni.2017.02.006
- [91] AUFSCHNAITER A, KOHLER V, KHALIFA S, et al. Apitoxin and Its Components against Cancer, Neurodegeneration and Rheumatoid Arthritis: Limitations and Possibilities. *Toxins (Basel).* (2020);12(2):66. doi:10.3390/toxins12020066
- [92] LEE JD, PARK HJ, CHAE Y, LIM S. An Overview of Bee Venom Acupuncture in the Treatment of Arthritis. *Evid Based Complement Alternat Med.* (2005);2(1):79-84. doi:10.1093/ecam/neh070
- [93] LIU XD, ZHANG JL, ZHENG HG, LIU FY, CHEN Y. "Clinical randomized study of bee-sting therapy for rheumatoid arthritis," *Zhen Ci Yan Jiu.* (2008);33(3):197-200.
- [94] DARWISH SF, EL-BAKLY WM, ARAFA HM, EL-DEMERDASH E. Targeting TNF- α and NF- κ B activation by bee venom: role in suppressing adjuvant induced arthritis and methotrexate hepatotoxicity in rats. *PLoS One.* (2013);8(11):e79284. doi:10.1371/journal.pone.0079284
- [95] BRAND DD, LATHAM KA, ROSLONIEC EF. Collagen-induced arthritis. *Nat Protoc.* (2007);2(5):1269-1275. doi:10.1038/nprot.2007.173

- [96] BAEK YH, HUH JE, LEE JD, CHOI DY, PARK DS. Antinociceptive effect and the mechanism of bee venom acupuncture (Apupuncture) on inflammatory pain in the rat model of collagen-induced arthritis: Mediation by alpha2-Adrenoceptors. *Brain Res.* (2006);1073-1074:305-310. doi:10.1016/j.brainres.2005.12.086
- [97] CHEN, Y.-N., LI, K.-C., LI, Z., SHANG, G.-W., LIU, D. N., LU, Z. M., ... CHEN, J. (2006). Effects of bee venom peptidergic components on rat pain-related behaviors and inflammation. *Neuroscience*, 138(2), 631–640.
- [98] KIM, K., SHIN, Y., KIM, K., CHANG, Y., PARK, K., PARK, J., ... KIM, C. (2008). Suppressive effects of bee venom on the immune responses in collagen-induced arthritis in rats, 15, 1099–1107. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.02.015>
- [99] KWON YB, LEE HJ, HAN HJ, et al. The water-soluble fraction of bee venom produces antinociceptive and anti-inflammatory effects on rheumatoid arthritis in rats. *Life Sci.* (2002);71(2):191-204. doi:10.1016/s0024-3205(02)01617-x
- [100] SUH SJ, KIM KS, KIM MJ, et al. Effects of bee venom on protease activities and free radical damages in synovial fluid from type II collagen-induced rheumatoid arthritis rats. *Toxicol In Vitro.* (2006);20(8):1465-1471. doi:10.1016/j.tiv.2006.06.016
- [101] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, FERLAY J, LORTET-TIEULENT J, JEMAL A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* (2015);65(2):87-108. doi:10.3322/caac.21262
- [102] DUNCAN M, MOSCHOPOULOU E, HERRINGTON E, et al. Review of systematic reviews of non-pharmacological interventions to improve quality of life in cancer survivors. *BMJ Open.* (2017);7(11):e015860. doi:10.1136/bmjopen-2017-015860
- [103] JARRETT, N., SCOTT, I., ADDINGTON-HALL, J., AMIR, Z., BREARLEY, S., HODGES, L., ... FOSTER, C. (2013). Informing future research priorities into the psychological and social problems faced by cancer survivors: A rapid review and synthesis of the literature. *European Journal of Oncology Nursing*, 17(5), 510–520. <https://doi.org/10.1016/j.ejon.2013.03.003>
- [104] JUNG GB, HUH JE, LEE HJ, et al. Anti-cancer effect of bee venom on human MDA-MB-231 breast cancer cells using Raman spectroscopy. *Biomed Opt Express.* (2018); 9(11):5703-5718. doi:10.1364/BOE.9.005703
- [105] LIM HN, BAEK SB, JUNG HJ. Bee Venom and Its Peptide Component Melittin Suppress Growth and Migration of Melanoma Cells via Inhibition of PI3K/AKT/mTOR and MAPK Pathways. *Molecules.* (2019);24(5):929. doi:10.3390/molecules24050929

- [106] HONG J, LU X, DENG Z, XIAO S, YUAN B, YANG K. How Melittin Inserts into Cell Membrane: Conformational Changes, Inter-Peptide Cooperation, and Disturbance on the Membrane. *Molecules*. (2019);24(9):1775. doi:10.3390/molecules24091775
- [107] LIU S, YU M, HE Y, et al. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. *Hepatology*. (2008);47(6):1964-1973. doi:10.1002/hep.22240
- [108] SAIDEMBERG DM, BAPTISTA-SAIDEMBERG NB, PALMA MS. Chemometric analysis of Hymenoptera toxins and defensins: A model for predicting the biological activity of novel peptides from venoms and hemolymph. *Peptides*. (2011);32(9):1924-1933. doi:10.1016/j.peptides.2011.08.001
- [109] 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. *J Pharm Pharmacol*. (2002);54(8):1083-1089.
- [110] WANG C, CHEN T, ZHANG N, et al. Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting I κ B α kinase-NF κ B. *J Biol Chem*. (2009);284(6):3804-3813. doi:10.1074/jbc.M807191200
- [111] PARK MH, CHOI MS, KWAK DH, et al. Anti-cancer effect of bee venom in prostate cancer cells through activation of caspase pathway via inactivation of NF- κ B. *Prostate*. (2011);71(8):801-812. doi:10.1002/pros.21296
- [112] ZUAZO-GAZTELU I, CASANOVAS O. Unraveling the Role of Angiogenesis in Cancer Ecosystems. *Front Oncol*. (2018);8:248. doi:10.3389/fonc.2018.00248
- [113] RAJABI M, MOUSA SA. The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment. *Biomedicines*. (2017);5(2):34. doi:10.3390/biomedicines5020034