

Toxinas Naturales: abejas y sus venenos

L. Peña¹, M. E Pineda², M. Hernández³, A. Rodríguez-Acosta⁴

Medico Toxicologo¹, Sección de Inmunoquímica, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela Farmacéutica², Laboratorio de Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Médica Hematóloga³, Sección de Inmunoquímica, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela Profesor Titular⁴, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela. **E-mail:** rodriguf@ucv.ve

Resumen

El veneno de *Apis mellífera mellífera* es una mezcla compleja de compuestos por moléculas de alto y bajo peso molecular, enzimas y peptidos, de los cuales la fosfolipasa A2, melitina y apamina son los compuestos causantes de los accidentes fatales en el ser humano y mamíferos. Provocando además, daño local en el sitio de picadura y otros efectos graves, tales como reacciones sistémicas. La toxicidad del veneno de abeja, sobre los humanos, no se conoce con exactitud, la dosis letal 50 en ratones, del veneno liofilizado y purificado es de 2.5 a 2.8 mg/kg por vía endovenosa y la dosis letal es de 6 mg/kg por vía endovenosa. Cuando una abeja pica, inyecta de 50 a 100 µg de veneno. Los efectos tóxicos de la picadura son provocados inmediatamente, el inicio de la anafilaxis es típico y rápido, desencadenado minutos después de la picadura. La enfermedad del suero puede ocurrir 10 a 14 días después del accidente. Cien picaduras pueden ser necesarias para matar a un humano, aunque hay otros casos donde una picadura puede provocar la muerte y otras que las han picado 400 ó más y han sobrevivido.

Palabras claves: Abeja, apamina, fosfolipasa A2, melitina, veneno

Abstract

Apis mellífera mellífera venom is a complex mixture of high and low molecular weight molecules, enzymes and peptides. Phospholipase A2, mellitin and apamin are the compounds causing the fatal accidents in the humans. They also cause local damage in the sting location and other serious effects, such as systemic reactions. The bee venom toxicity on the humans is not known with accuracy, the venom lethal dose 50 in mice, is from 2.5 to 2.8 mg/kg via endovenous and the lethal dose is 6 mg/kg via endovenous. When a bee stings injects from 50 to 100 µg of venom. The toxic effects of the sting are immediately originated; the beginning of the anaphylaxis is typical and quick, produced minutes after the sting. The serum disease can occur 10 to 14 days after the accident. A hundred stings can be necessary to kill a human, although there are other cases where one sting can cause the death and others that have stung them 400 or more and they have survived.

Key words: bee, apamin, phospholipase A2, mellitin, venom

El Apismo o envenenamiento producido por abeja representa un problema médico o de salud importante, dado a que no sólo causa efecto o daño local como es dolor, eritema leve, edema y prurito en el sitio de picadura, sino además puede producir o desencadenar otros efectos graves como son las reacciones tóxicas, anafilácticas y reacciones sistémicas, comprometiendo la vida del huésped y provocando muchas veces la muerte en pocos minutos. En esto influyen no sólo las fracciones tóxicas del veneno de abeja sino también la susceptibilidad del individuo, el número de picaduras del insecto, la edad del paciente y el tiempo de abordaje para iniciar el tratamiento, entre otros.

Las abejas son los insectos venenosos más importantes, conocidos por el hombre (Fig. 1). El orden himenóptera que comprende las abejas, avispas, hormigas, mariposas, escarabajos, tiene una organización social formada por individuos interdependientes, aunque morfológicamente separados. En el caso de las abejas siempre han estado bajo la influencia de la selección natural, dando origen a razas geográficas similares en morfología, fisiología y comportamiento. Se clasifican dentro del Reino Animalia, Phylum Arthropoda, Clase Insecta, Orden Hymenoptera, Familia Apiidae, Género *Apis*, Especie *Apis mellífera* (Valentine, 1981).



Fig. 1. Ejemplar adulto de abeja (*Apis Mellifera*)

En general las abejas de origen europeo, productoras de miel, son habitantes comunes de las zonas intertropicales, sin superar altitudes de 2.700 metros sobre el nivel del mar, son dóciles y comúnmente pican sólo una vez, ya que su aguijón que tiene múltiples barbillas o púas en la parte posterior del cuerpo están en comunicación con glándulas del veneno las cuales se atascan y ocasionan que parte del intestino con el sistema glandular y el saco del veneno, se desprenda del insecto al intentar sacar el mismo del tegumento de su víctima provocando posteriormente la muerte de la abeja (Valentine, 1984). Sin embargo, Las abejas africanas son más defensivas y hostiles cuando protegen sus colonias, ellas responden más rápidamente al potencial predador y recrudecen en un gran número de defensores respecto a la raza europea. Esto resulta en la tendencia de numerosos envenenamientos. Ellas se han adaptado al ambiente tropical en el cual su sobrevivencia depende sobretodo de su habilidad para formar enjambres y migrar para mantener un adecuado suplemento de alimentos y proteger la colmena de los predadores. (Vetter et al., 1999; Guimaraes et al., 2004).

Desde que se introdujeron accidentalmente en el Sur del Brasil en 1957, Las abejas Africanas se han extendido gradualmente a través de América del Sur, América Central y del norte. El veneno de las abejas Africanas parece ser cualitativamente parecido al de las abejas Europeas, aunque la mediana de la dosis letal puede ser menor. Son necesarios más estudios para determinar sus características toxicológicas y patológicas (Rodríguez-Acosta et al., 2003).

La comunicación entre las abejas se realiza por medio del contacto físico y sustancias químicas. Las feromonas son los signos de intercambio entre los miembros de estas especies, estos signos van determinando diferentes patrones de conductas preestablecidas. El disparo químico por parte de los depredadores de *Kairomonas* como conducta de defensa, también es percibido por estas abejas preparándose para la defensa. Las Allomonas son el tercer tipo de sustancias que se predisponen a la defensa ante otras especies (Breed et al. 2004).

Las abejas se extendieron desde Europa, hacia dos nuevos continentes, desembarcaron en la parte de Australia de Sydney en el año 1822 y luego a Norteamérica hacia 1850. Hace más de cien años las abejas de miel, miembro del género *Apis* ha vivido en los cinco continentes.

El veneno de las abejas es reconocido como sustancia tóxica para el hombre desde los tiempos prehistóricos, sin embargo, el conocimiento de su composición y mecanismo de acción data de los últimos 30 años (Haberman, 1972). La cantidad de veneno producido por las obreras varía con la edad, va en incremento con esta variable, aunque en estudios se ha evidenciado que las abejas viejas tienen disminuida la capacidad para generar veneno. La calidad del veneno en obreras parece ser mayor, en países con estaciones, durante el verano. (O' Connor et al., 1978).

El veneno de *Apis mellifera* parece ser generado enteramente en la glándula ácida la cual se extiende por múltiples ramificaciones hasta la glándula reservoria de Dufour, encontrándose en el interior del saco, aproximadamente 94 microgramos de veneno, cuya composición es una compleja mezcla de enzimas polipéptidos y moléculas más pequeñas (King y Valentine 1987).

En estudios realizados en animales de experimentación se halló que el veneno de abeja (*Apis mellífera*) específicamente las fracciones de melitina y fosfolipasa A2 de forma sinérgica actúan sobre las fibras postganglionares del sistema nervioso autónomo periférico, provocando aumento en la liberación de acetilcolina, conjuntamente una inhibición en la recaptación de este neurotransmisor al nivel de las vesículas, observándose una disminución en frecuencia o inicio del potencial de placa motora. Otros hallazgos encontrados fueron: un efecto directo sobre la estabilización de la membrana, provocado por el veneno de abeja (Rodríguez-Acosta et al., 2004).

En los EE.UU. cada año mueren casi dos veces más personas como consecuencia de las picaduras de insectos himenópteros (como abejas, avispa, avispones, abejorros y hormigas de fuego), que por mordeduras de serpientes venenosas (Machado y Rodríguez-Acosta, 2005). Los venenos de himenópteros contienen muchas aminas no alergénicas y péptidos tales como la histamina y varias kininas que contribuyen a la reacción local a la picadura con sus propiedades inflamatorias y vasoactivas. Las proteínas alergénicas del veneno, que inducen una respuesta de anticuerpo IgE en los individuos picados, comprenden fosfolipasas, hialuronidasas, fosfatasas ácidas y melitina (Schmidt, 1992; King et al., 1987). Los venenos son claramente diferentes en cada uno de los tres géneros de himenópteros capaces de producir reacciones alérgicas a la picadura: Apidae (varias especies de abejas), Vespidae (avispa, avispones y abejorros), y *Solenopsis* (hormiga de fuego) (Rodríguez-Acosta y Reyes-Lugo, 2002).

De forma ocasional la causa de la muerte es un número enorme de picaduras (de 500 a 1.000), en individuos hipersensibles, la respuesta a una picadura aislada puede variar desde una reacción local excesiva, no asociada a síntomas sistémicos, hasta una grave anafilaxia con urticaria, náuseas, calambres abdominales ó uterinos, broncoespasmo, edema masivo de la cara y de la glotis, disnea, cianosis, hipotensión, coma y muerte (Rojas et al., 2000) (Fig.2).



Fig. 2. Lesión de urticaria en paciente envenenado por *Apis mellífera*

Una picadura directa en un nervio periférico puede anular su función durante un tiempo, al igual que lo hace una inyección de alcohol. Se ha producido parálisis de Bell tras una picadura en el tronco del nervio facial. También se describen reacciones infrecuentes tales como neuritis óptica, polineuropatía generalizada y miastenia gravis. Se desconoce la etiología de estas reacciones (Harrison, 1991). El veneno tiene definitivamente actividad neurotóxica, provocando daño en la placa neuromotora y nervios (Rodríguez-Acosta et al., 2004).

Aunque existe una diferencia entre el contenido de veneno en el saco de la abeja Europea y la Africanizada, la toxicidad aguda del veneno de las dos especies de abejas es similar. La alta mortalidad seguida a la picadura por abeja Africanizada es relativa a la agresividad de la reacción y a las múltiples picaduras (Schumacher et al., 1992; Schmidt, 1990). Las diferencias en los componentes del veneno de los himenópteros tanto del grupo Apidos como Véspidos se observan en la [Tabla 1](#).

Tabla N° 1. Diferencias entre los componentes de veneno de Apidae y Vespidae (Schmidt, 1992; King et al., 1987; Maschuitz, 1971).

Componentes	Veneno de Apidae	Veneno de Vespidae
Proteínas	Fosfolipasa A ₂ Hialuronidasa Fosfatasa Ácida	Fosfolipasa A, B Hialuronidasa Antígeno S
Péptidos	Melitina Apamina M.C.D. Péptido (peptido degranulador de mastocitos)	Kinina Mastoparan
Aminas Biógenas	Histamina, adrenalina, noradrenalina, dopamina, serotonina, acetilcolina	Histamina Serotonina
Enzimas	Fosfolipasa A Fosfolipasa B Hialuronidasa	Fosfolipasa A Fosfolipasa B Hialuronidasa

Diversos ensayos confirman que el veneno contiene entre 80 a 88% de agua y representa una compleja mezcla de enzimas, polipeptidos y varias moléculas más pequeñas que pueden ser aminas no alergénicas las cuales incluyen acetilcolina, histaminas y catecolaminas, cuyos componentes tienen propiedades inflamatorias y propiedades vasoactivas que contribuyen a la reacción local normal del envenenamiento y acelera ó precipita la absorción de los alérgenos del veneno (Golden, 1987). Las enzimas, en general corresponden el 13% al 15% de la totalidad del veneno seco (O' Connor y Peck, 1978). Dentro de estas las fosfolipasas que representan el 40% está la fosfolipasa A₂, la cual es una proteína de 45 kDa de peso molecular. En el veneno de *Apis mellífera* se evidencian bajos niveles de fosfolipasa A₂, en el momento de la eclosión de la abeja, la actividad se incrementa equilibradamente 10 días después. Los máximos niveles de fosfolipasa A₂ (40 µg/saco de veneno) son mantenidos en el resto de la vida de la abeja trabajadora ú obrera (Owen et al., 1990). En cuanto a componentes glucídicos, existe una ausencia de carbohidratos (manosa, fucosa, n-acetilglucosamina). Solo la galactosa y la n-acetilgalactosamina, unidas glicosidicamente están presentes en las glicoproteínas del veneno de abeja (Marz et al., 1983).

La fosfolipasa A₂ hidroliza los puentes de la fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidil serina, así como sus correspondientes plasminógenos. Se han podido establecer varios mecanismos de acción:

a) La enzima ataca la estructura lipídica uniéndose de forma no electrostática a las membranas. Los fosfolípidos simples son parte integral de la membrana biológica de mitocondrias y otros constituyentes celulares, lo cual al alterarse produce disrupción de sus funciones (Haberman, 1972; Bollinger et al., 2004).

b) Esta comprende la producción de liso-fosfolípidos, lo cual altera la estructura normal del surfactante intercelular con la dificultad consiguiente para producir micelas, así como solubilizar colesterol, lecitina y fracciones tisulares particulares. (Haberman, 1972).

c) Interviene en la producción de radicales libres producto de la lipólisis.

d) Actúa sobre la membrana de la célula cebada, probablemente desintegrando dicha estructura, provocando liberación de la histamina.

e) Esta enzima cataliza la formación de isolecitas, estas destruyen las membranas celulares causando hemólisis y lesión tisular.

f) La fosfolipasa A presenta una actividad sinérgica con la melitina para inducir un fuerte y más rápido efecto tóxico.(Ricardo et al., 2002).

g) No afecta los factores de la coagulación y carece de efectos sobre la piel.

Se ha reportado que la Melitina y la fosfolipasa A2 son independientemente miotóxicas en las células musculares esqueléticas del ratón in vivo e inducen el mismo tipo de mionecrosis la cual se caracteriza por ser rápida (dentro de 15-30 min.), lisis de la membrana plasmática de la célula muscular esquelética, hipercontracción y ruptura de las miofibrillas, subsecuentemente (en horas) disrupción y disolución de las miofibrillas y eventualmente (24 horas) infiltración de las células fagocíticas y aclaración del resto celular dentro del tubo de la lámina basal. Este tipo de mionecrosis es similar al causado por las miotoxinas del veneno de serpientes como la miotoxina fosfolipasa A2 neurotóxica, crotoxina y miotoxinas fosfolipasa A2 no neurotóxicas. Se ha encontrado que la melitina y la fosfolipasa A2 pueden actuar sinérgicamente en la inducción de mionecrosis en las células del músculo esquelético, y en otras membranas biológicas al igual que en vesículas sintéticas fosfolipídicas (Ownby, 1996).

La Hialuronidasa, otro componente del veneno de abeja, cataliza la despolimerización del ácido hialurónico. Actúa como un factor de difusión, es decir a través de un mecanismo que permite el esparcimiento del veneno a través de los tejidos por degradación de los polímeros del ácido-araquidónico del cemento intercelular. Esta enzima exhibe una actividad óptima a un pH de 4-5. (O' Connor y Peck, 1978; Habermann, 1972).

La Melitina es un péptido citolítico de 26 aminoácidos que se distingue por la existencia de un tetrámero alfa helical, y un monómero alfa helical que dan vuelta en espiral al azar, dependen de las condiciones del solvente (Owen, 1995). La concentración de melitina depende de la edad de la abeja, una concentración de aproximadamente 500 µg. Está presente 4 semanas después de la eclosión. A las 5 a 6 semanas los niveles de melitina decrecen a niveles de 250 µg (Owen et al., 1990). La concentración de melitina varía con la época del año y tiene una relativa alta concentración en el veneno de abeja Europea comparado con la baja concentración en el veneno de abeja Africanizada. (Schumacher, 1992). Puede adherirse a la pepsina, tripsina y quimotripsina, es extremadamente básica, el punto isoeléctrico es a un pH de 10. Esta basicidad ha permitido también explicar su actividad hemolítica directa. (Maschwitz, 1971; Kloft, 1971). Por ello, la melitina es una de las fracciones más tóxicas del veneno de las abejas, tiene una importante función como surfactante disminuyendo la tensión superficial en la interfase aire y soluciones salinas, lo cual hace creer que incrementa la permeabilidad no solo de los eritrocitos sino de otras células que intervienen en el mantenimiento de la tensión superficial celular. (Haberman, 1972).

Su mecanismo se explica debido a que las plaquetas liberan serotonina, el músculo estriado libera potasio y fosfatos orgánicos e inorgánicos, dependiendo de la dosis; dilata o contrae el músculo liso, esto despolariza y acorta el músculo esquelético y cardíaco, además produce dolor, incrementa la permeabilidad vascular en el área aplicada y enlentece la contracción del músculo liso (Haberman, 1972). La dosis letal 50 es 3.5 mg/kg endovenosa en ratones. Otro de sus efectos fisiológicos incluye el ataque a la mitocondria, interfiere además en el SNC, ocasionando trastornos de conducta y respuesta emocional. Entre otras acciones se tiene: es un inhibidor competitivo de la acetilcolinesterasa (Nabil et al., 1998) y eleva los niveles del cortisol plasmático. La actividad hemolítica en realidad no es importante, como para ser letal. Los mastocitos, los cuales contienen histamina y serotonina son dañados, al igual que los eritrocitos (Maschwitz, 1971).

La apamina es un péptido que actúa como neurotoxina, está compuesto por 18 aminoácidos, con peso molecular de 2.038 daltons, se encuentra en baja concentración en el veneno de abeja, aproximadamente el 2%, pero tiene un efecto profundo ó intenso sobre la función de la médula espinal, causando hiperactividad y espasmo muscular, aumentando los reflejos polisinápticos y esto causa excitación de las vías polisinápticas (O' Connor y Peck, 1978). Su actividad farmacológica es más notable en el SNC, no influye sobre la presión sanguínea. La dosis sub-letal produce hipermotilidad que puede durar por varios días, La dosis letal 50 es 4 mg/kg endovenoso en ratones (Maschwitz y Kloft, 1971). Actúa sinérgicamente con la fosfolipasa y aumenta los niveles de cortisol plasmático (Vick y Shipman, 1972). Además, actúa como inhibidor específico de los canales de calcio, dependientes de la conductancia de potasio (Romey et al., 1984).

El Péptido Degranulador de Mastocito presenta una concentración muy baja en el veneno de abeja, para explicar los efectos fisiológicos del veneno intacto. La melitina y fosfolipasa A son capaces de disparar, histamina por destrucción de los mastocitos, pero el péptido degranulador del mastocito es mucho más potente. La dosis letal 50 es 40 mg/kg endovenoso en ratones (Maschwitz y Kloft, 1971). Se la ha asociado también una propiedad antiinflamatoria, por producir una liberación endógena de heparina, que pudiese proteger contra los efectos del veneno de abejas. La heparina disminuye la

toxicidad sistémica y la potencialidad hemolítica del veneno de las abejas (O' Connor y Peck, 1978; Haberman, 1972).

Las Kininas o Quininas son sustancias que influyen en la presión sanguínea, principalmente como hipotensoras, actúan en el músculo liso, provocando lesión rápidamente. Elevan la permeabilidad vascular. Por cromatografía se pueden separar la plasmaquinina, la bradiquinina y la Kallidina (Takeuchi et al., 2004).

En el veneno de abejas, las Aminas no alergénicas incluyen acetilcolina, histamina, serotonina, y catecolaminas. Estos componentes tienen propiedades inflamatorias y propiedades vasoactivas que contribuyen a la reacción local de la inoculación de veneno y acelera ó precipita la absorción de alérgenos del veneno (Golden, 1987). La concentración de la histamina y la serotonina están entre el 1 y 3% del peso seco, acetilcolina cerca del 5% (Maschwitz y Kloft, 1971).

La toxicidad del veneno de abeja, sobre los humanos, no se conoce con exactitud, la dosis letal 50 en ratones, del veneno liofilizado y purificado es de 2.5 a 2.8 mg/kg por vía endovenosa y la dosis letal es de 6 mg/kg por vía endovenosa. Cuando una abeja pica, inyecta de 50 a 100 µg de veneno (Schmidt, 1990; Schumacher et al., 1992). Los efectos tóxicos de la picadura son provocados inmediatamente, el inicio de la anafilaxis es típico y rápido, desencadenado minutos después de la picadura. La enfermedad del suero puede ocurrir 10 a 14 días después del accidente.

El rango de toxicidad en una reacción no inmunológica depende de la dosis del veneno y extensión desde una reacción insignificante, hasta la muerte. De este modo 100 picaduras pueden ser necesarias para matar a un humano, aunque hay otros casos donde una picadura puede provocar la muerte y otras que las han picado 400 ó más y han sobrevivido, el caso de fallecimiento no puede ser atribuido solo al veneno, sino también a otros factores como es la susceptibilidad del individuo (alérgico), o pacientes con otra patología asociada (Maschwitz y Kloft, 1971).

Referencias

1. Golden DB, Langois J, Valentine MD, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Treatment failures with whole-body extract therapy of insect sting allergy. JAMA. 1981; Nov. 27; 246(21):2460-3.
2. Valentine, M. 1984, Insect venom allergy, diagnosis and treatment. The journal of allergy and clinical immunology. 73 (3): 229:234.
3. Schmidt, 1992, The Hive and the Honey Bee. Hamilton IL. Dadant and Sons. Pp21 – 36; 66- 124.
4. Schmidt, Y; Blum, M; Overal W. Comparative enzymology of venoms from stinging hymenoptera. Toxicon. Vol. 24. Nº. 9. pp. 907 – 921. 1986.
5. Schumacher, MJ; Schmidt, JO; Egen NB; Dillon, KA. Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honey bees (Apis mellifera). Journal Allergy clin. Immunology. Vol. 90 Nº 1. pp: 59 – 65. 1992.
6. Wilson, Jean D. et al.,. Harrison, principios de medicina interna. Picaduras de himenópteros. Interamericana Mc Graw – Hill. pp. 1545 – 1546. 1991.
7. Haberman, E . Bee and Wasp Venoms. Science. Volumen 177. pp314 – 322. 1972
8. King TP, Valentine MD. Allergens of hymenopteran venoms. Clin Rev Allergy. 1987 5(2):137-48.
9. Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Dillon KA. Biochemical variability of venoms from individual European and Africanized honeybees (Apis mellifera). J Allergy Clin Immunol. 1992 90(1):59-65.
10. Romey G, Hugues M, Schmid-Antomarchi H, Lazdunski M. Apamin: a specific toxin to study a class of Ca²⁺-dependent K⁺ channels. J Physiol (Paris). 1984; 79(4)
11. O' Connor R; Peck M. L. In arthropod venoms. Ed. S. Bettini. pp. 628 – 635 Springer, Berlin Heidelberg. 1978).

- 12.** Ownby, Ch, Powel J, Jiang M, Fletcher J. Melittin and Phospholipase A2 from bee (*Apis Mellifera*) Venom cause Necrosis of Murine Skeletal Muscle in vivo. *Toxicon* Volumen 35. Nº 1. pp 67 – 79. 1996.
- 13.** Owen MD, Pfaff LA. Melittin synthesis in the venom system of the honey bee (*Apis mellifera*). *Toxicon*. 1995.Sep;33(9):1181-8.
- 14.** Owen, MD; Plaff, LA ; Reisman, RE ; Wypych, Y. Phospholipase A2 in venoms extract from honey bees (*Apis Malifera* L.) of different ages . *Toxicon*. Vol. 28. Nº 7. pp : 813 – 820. 1990.
- 15.** Marz L, Kuhne C, Michl H. The glycoprotein nature of phospholipase A2, hyaluronidase and acid phosphatase from honey-bee. venom. *Toxicon*. 1983;21(6):893-6.
- 16.** Maschwitz, UW; Kloft, W. In venomous animals and their venoms. Vol, III, chapter 44. (W Bucherl and EE. Buckley, Eds) New York: pp. 74 – 81. Academic Press. 1971.
- 17.** (Nabil. Z.I.; Hussein AA ; Zalat, S.M. and Rakha MKH. Mechanism of action of honey bee (*Apis Mellifera*) venoms of different types of muscles. *Human Experimental Toxicology*. Volumen 17 Nº 3. p.p. 185 - 190. 1998.
- 18.** Hoffman DR, Golden DB. Standardized extracts. Stinging and biting insects. *Clin. Rev. Allergy*. 1987Feb;5(1):75-88.
- 19.** Machado-Allison, A y Rodriguez-Acosta, A. *Animales Venenosos y Ponzñosos de Venezuela*. 2º Edición revisada, Ediciones del CDCH de la UCV. (2005).
- 20.** Rojas, G., Finol, HJ & Rodríguez-Acosta, A. Como manejar el apismo en Venezuela. *Bol. Soc Ven. Microbiol*. 20: 141-143. (2000).
- 21.** Rojas, G., Finol, H.J and Rodriguez-Acosta, A. Kidney, muscle and vascular ultrastructural pathology by toxic aggression of *Apis mellifera* venom. *Rev. Cient. FCV/LUZ*. 12 (1): 46-52 (2002).
- 22.** Rodriguez-Acosta, A., Vega, J., Finol, H.J., Pulido-Mendez, M. Ultrastructural alterations in cortex of adrenal gland caused by the toxic effect of bee (*Apis mellifera*) venom. *J.Sub.Cytol.Pathol*. 35(3): 309-314 (2003).
- 23.** Rodriguez-Acosta, A., Peña, L., Pulido-Mendez, M and Finol, H.J. Cellular and subcellular changes in muscle, neuromuscular junctions and nerves caused by bee (*Apis mellifera*) venom. *J.Sub.Cytol.Pathol*. 36(1):91-96 (2004).
- 24.** Rodriguez-Acosta, A & Reyes-Lugo, M. Severe human urticaria produced by the ant (*Odontomachus bauri*, Emery 1892) (Hymenoptera: Formicidae) venom. *Int J Dermatol* 41(11):801-3. (2002).
- 25.** Schumacher MJ, Schmidt JO, Egen NB, Lowry JE. Quantity, analysis, and lethality of European and Africanized honey bee venoms. *Am J Trop Med Hyg*. 1990 Jul;43(1):79-86.
- 26.** Vetter, RS; Visscher, Camazine, S. Mass envenonation by honey bees and wasp. *West . J. Med.*, 170: 123 – 127, 1999.
- 27.** Guimaraes J.; Costa R; Machado B and Reis M. Cardiovascular profile alter intravenous injection of africanizad bee venom in awake rats. *Rev. Inst.Med. Trop. S. Paulo*. 46 (1): 55 – 58, January – February. 2004.
- 28.** Breed MD, Guzman-Novoa E, Hunt GJ. Defensive behavior of honey bees: organization, genetics, and comparisons with other bees. *Annu Rev Entomol*. 2004 ;49:271-98.
- 29.** Vick JA, Shipman WH. Effects of whole bee venom and its fractions (apamin and melittin) on plasma cortisol levels in the dog. *Toxicon*. 1972 Jun;10(4):377-80.

- 30.** Bollinger JG, Diraviyam K, Ghomashchi F, Murray D, Gelb MH. Interfacial binding of bee venom secreted phospholipase A2 to membranes occurs predominantly by a nonelectrostatic mechanism. *Biochemistry*. 2004 Oct 26; 43(42):13293-304.
- 31.** Takeuchi H, Yasuda A, Yasuda-Kamatani Y, Sawata M, Matsuo Y, Kato A, Tsujimoto A, Nakajima T, Kubo T. Prepro-tachykinin gene expression in the brain of the honeybee *Apis mellifera*. *Cell Tissue Res*. 2004 May;316(2):281-93.