



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ANA CAROLINE MAIA OLIVEIRA RAMOS

**POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DA APITOXINA ULTRAPURIFICADA DE
Apis mellifera CONTRA MENINGIOMA HUMANO: ESTUDO *IN VITRO***

MOSSORÓ-RN

2026

ANA CAROLINE MAIA OLIVEIRA RAMOS

**POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DA APITOXINA ULTRAPURIFICADA DE
Apis mellifera CONTRA MENINGIOMA HUMANO: ESTUDO *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semiárido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal
Orientador: Prof. Dr. Jael Soares Batista

MOSSORÓ-RN

2026

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

R175p RAMOS, ANA CAROLINE MAIA OLIVEIRA.
POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DA APITOXINA
ULTRAPURIFICADA DE Apis mellifera CONTRA
MENINGIOMA HUMANO: ESTUDO IN VITRO / ANA
CAROLINE MAIA OLIVEIRA RAMOS. – 2026.
56 f. : il.

Orientador: JAEL SOARES BATISTA.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2026.

1. Apitoxina. 2. Apis mellifera. 3.
meningioma. 4. citotoxicidade. 5. LDH. I.
BATISTA, JAEL SOARES , orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ANA CAROLINE MAIA OLIVEIRA RAMOS

**POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DA APITOXINA ULTRAPURIFICADA DE
Apis mellifera CONTRA MENINGIOMA HUMANO: ESTUDO *IN VITRO***

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semiárido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. Jael Soares Batista

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **JAEI SOARES BATISTA**
Data: 26/02/2026 11:45:13-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Jael Soares Batista – UFERSA
(Orientador e Presidente)

Documento assinado digitalmente
 **FAUSTO PIERDONA GUZEN**
Data: 25/02/2026 09:29:19-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Fausto Pierdoná Guzen – UERN
(Segundo membro)

Documento assinado digitalmente
 **MOACIR FRANCO DE OLIVEIRA**
Data: 26/02/2026 11:17:54-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira – UFERSA
(Terceiro membro)

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ANA CAROLINE MAIA OLIVEIRA RAMOS nasceu no dia 7 de setembro de 1993 em Apodi-RN. Coursou o ensino médio no Colégio Nossa Senhora da Conceição (Apodi/RN) como bolsista, concluindo em 2009. Iniciou o ensino superior em agosto de 2010, quando ingressou na graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), onde foi bolsista de iniciação científica pelo CNPq nas áreas de Patologia Animal e Imunologia dos Animais Silvestres, além de ter sido monitora voluntária de Anatomia dos Animais Domésticos. Concluiu a graduação em 2016, quando ingressou na Pós-Graduação em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, pela Equalis, concluindo em 2018. Ingressou em 2020 na Pós-Graduação em Oncologia Veterinária pelo Instituto Qualitas, concluindo em 2023. Em 2024 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFERSA, a nível de mestrado. Foi bolsista CAPES, realizou seu estágio docência na disciplina de Terapêutica Veterinária para turma de graduação em Medicina Veterinária.

À minha voinha Socorro Maia, por ter me criado para ser uma mulher forte e independente e por ter me ensinado a vencer por meio da educação. Também ao meu voinho Negão, que infelizmente não pôde presenciar essa realização (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por ter me apoiado em tantos momentos e de tantas formas. Em especial a minha avó Socorro Maia, meu avô Negão, minha mãe Michelle, meu pai Gildásio, minhas tias Katherine, Patrícia, Elis e Graça Maia. Vocês foram base da minha formação pessoal e acadêmica e minha gratidão é imensurável.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Jael Soares, por quem sempre nutri admiração desde a graduação e me sinto honrada de tê-lo ao meu lado no decorrer da minha vida acadêmica. Obrigada pelos ensinamentos e apoio, continuo aprendendo muito com você.

Agradeço ao Prof. Fausto Guzen, que se tornou meu segundo orientador durante o desenvolvimento desta pesquisa. Obrigada por me acolher e fazer com que eu me sentisse parte do laboratório. A execução desta pesquisa não teria sido possível sem o seu apoio.

Aos meus colegas de laboratório Luciana Veras de Paula, Natanael Silva Félix, Salvador Viana, Gustavo Coringa e Roque Ribeiro Júnior, que se tornaram amigos e suporte uns dos outros durante o período de Pós-Graduação.

Agradeço aos meus melhores amigos de vida Naftáli Silva Fernandes, João Eugênio Sena, Jade Azevedo e Jéssica Azevedo. Cada um chegou na minha vida em um momento diferente e permanecem aqui até hoje, mesmo à distância. Vocês não imaginam a importância que vocês têm na minha vida, sempre se fazendo presentes, me colocando pra cima e me mostrando que eu sou capaz de muito além do que eu mesma consigo enxergar.

Agradeço à paciente anônima e ao neurocirurgião Starlynn Freitas, por ter possibilitado a obtenção do material a ser pesquisado. Suas contribuições foram indispensáveis.

Agradeço à banca examinadora por ter aceitado o convite e pela contribuição com sua vasta experiência e conhecimento para esta pesquisa.

Agradeço à CAPES pelo apoio financeiro que possibilitou a execução desta pesquisa e a todos que contribuíram de forma indireta ou indireta.

RESUMO

A apitoxina, secreção produzida pelas glândulas de veneno da *Apis mellifera*, tem sido amplamente investigada devido às suas propriedades biológicas, incluindo potencial atividade antineoplásica. O presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito citotóxico e antineoplásico da apitoxina ultrapurificada em cultivo primário de células de meningioma humano *in vitro*. Fragmentos tumorais obtidos durante procedimento cirúrgico foram utilizados para o estabelecimento do cultivo celular primário, posteriormente tratado por 24 horas com diferentes concentrações de apitoxina ultrapurificada (1, 5, 10, 25 e 50 µg), além de grupo controle apenas com o meio de cultura. A citotoxicidade foi avaliada por meio da dosagem de lactato desidrogenase (LDH), enquanto alterações morfológicas e morfométricas (área e perímetro celular) foram analisadas a partir de fotomicrografias obtidas em microscopia óptica e quantificadas com auxílio do software ImageJ. Os dados foram submetidos à análise estatística por ANOVA, seguida do teste de Bonferroni ($p < 0,05$). Observou-se aumento progressivo e dose-dependente da liberação de LDH, com elevação superior a 200% nas concentrações mais elevadas. Paralelamente, verificou-se redução significativa dos parâmetros morfométricos, com colapso estrutural e ausência de células aderidas nas concentrações de 25 e 50 µg. Os resultados demonstram que a apitoxina ultrapurificada exerce efeito citotóxico intenso e dependente da dose sobre células de meningioma *in vitro*, evidenciado por alterações bioquímicas, morfológicas e morfométricas convergentes.

Palavras-chave: Apitoxina; *Apis mellifera*; meningioma; citotoxicidade; LDH; morfometria celular.

ABSTRACT

Apitoxin, a secretion produced by the venom glands of *Apis mellifera*, has been extensively investigated due to its biological properties, including potential antineoplastic activity. This study aimed to evaluate the cytotoxic and antineoplastic effects of ultrapure apitoxin in a primary culture of human meningioma cells *in vitro*. Tumor fragments obtained during a surgical procedure were used to establish the primary cell culture, which was subsequently treated for 24h with different concentrations of ultrapure apitoxin (1, 5, 10, 25, and 50 µg), in addition to a control group containing culture medium only. Cytotoxicity was assessed by lactate dehydrogenase (LDH) quantification, whereas morphological and morphometric changes (cell area and perimeter) were analyzed using photomicrographs obtained by light microscopy and quantified with ImageJ software. Data were subjected to ANOVA followed by the Bonferroni test ($p < 0.05$). A progressive, dose-dependent increase in LDH release was observed, exceeding 200% at the highest concentrations. In parallel, a significant reduction in morphometric parameters was verified, with structural collapse and absence of adherent cells at 25 and 50 µg. These findings demonstrate that ultrapure apitoxin exerts an intense, dose-dependent cytotoxic effect on meningioma cells *in vitro*, as evidenced by convergent biochemical, morphological, and morphometric alterations.

Key-words: Bee venom; *Apis mellifera*; meningioma; cytotoxicity; LDH; cell morphometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aparelho de ferrão da <i>Apis mellifera</i> 20
Figura 2	Mecanismos antineoplásicos da Melitina 23
Figura 3	Anatomia das meninges 25
Figura 4	Investigação diagnóstica por imagística do meningioma 27
Figura 5	Arquitetura histológica de meningioma meningoepitelial 28
Figura 6	Transoperatório de ressecção de tumor com suspeita de meningioma 33
Figura 7	Diagrama esquemático deste estudo 37
Figura 8	Citotoxicidade da apitoxina ultrapurificada (<i>Apis mellifera</i>) em células de meningioma <i>in vitro</i> após 24 horas 38
Figura 9	Alterações morfológicas e citotóxicas causadas pela apitoxina ultrapurificada (<i>Apis mellifera</i>) em células de meningioma <i>in vitro</i> após 24 horas 39
Figura 10	Variáveis morfométricas como parâmetro de citotoxicidade da apitoxina ultrapurificada (<i>Apis mellifera</i>) em células de meningioma <i>in vitro</i> 40
Figura 11	Relação entre a área celular (μm^2) e a liberação de LDH após 24 horas de tratamento com apitoxina ultrapurificada (<i>Apis mellifera</i>) em células de meningioma <i>in vitro</i> 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Componentes da apitoxina	21
Tabela 2	Perfil imuno-histoquímico compatível com meningioma meningotelial, grau I (OMS)	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma por mililitro
µm ²	Micrômetros quadrados
Abs	Absorbância
AGS	Célula gástrica humana AGS
ANOVA	Análise de Variância
BMP/Smad	Via de sinalização proteína morfogenética óssea/Smad
CEP	Código de Endereço Postal
CNPG3	substrato cromogênico específico para ensaios de enzimas
CT	Tomografia computadorizada
DL50	Dose letal mediana
DMEM	Meio Eagle modificado por Dulbecco
DPP	Diferença de potencial pulsante
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
EMT	transição epitélio-mesenquimal
GFAP	Proteína glial fibrilar ácida
HACAT	Linhagem celular de queratinócitos humanos
HEPG2	Linhagem celular de carcinoma hepatocelular
HPC/TFS	Hemangiopericitoma/tumor fibroso solitário
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HT-29	Linhagem celular de adenocarcinoma colorretal
Hz	Hertz
IC50	Concentração inibitória máxima de 50%
IFN-alfa	Interferon alfa
IgE	Imunoglobulina E
IGF	Fator de crescimento semelhante à insulina
IMC	Índice de massa corporal
Ki-67	Índice de proliferação celular
L929	Linhagem celular de fibroblastos de camundongo
LabMol	Laboratório de Biologia Molecular – UERN
LBIOTEC	Legitimidade em Biotecnologia do Brasil

LCR	Líquido cefalorraquidiano
LDH	Lactato desidrogenase
M	Molar
MAD-MB435	Linhagem celular de melanoma
MCD	Peptídeo degranulador de mastócitos
MCF	Microscopia de luz invertida com contraste de fases
MEC	Célula meningoepitelial
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
mM	Milimolar
mm	Milímetro
MRI	Ressonância Magnética
MTT	(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio)
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleotídeo
NIH/3T3	Linhagem celular de fibroblastos de camundongo
nm	Nanômetro
NR	Vermelho neutro
OMS	Organização Mundial da Saúde
p	Valor de probabilidade
PBS	Solução salina tamponada
PC3	Linhagem celular de adenocarcinoma de próstata
PET	Tomografia por emissão de pósitrons
pH	Potencial hidrogeniônico
PLA2	Fosfolipase A2
RCE	Radiocirurgia estereotáxica
RN	Rio Grande do Norte
rpm	Rotações por minuto
RTF	Radioterapia fracionada
SNB19	Linhagem celular de glioblastoma
SNC	Sistema nervoso central
SSTR	Receptor de somatostatina
SSTR2	Receptor de somatostatina tipo 2

T98G	Linhagem celular de glioblastoma
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TIFF	Tagged Image File Format
TME	Microambiente tumoral
U/L	Unidade por litro
UERN	Universidade Estadual do Rio Grande do Norte
UP	Ultrapurificada
Wnt/ β -catenina	Via de sinalização Wnt mediada pela β -catenina
x	Vezes

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	APITOXINA	20
3.1.1	Composição química	20
3.1.2	Efeito antineoplásico	22
3.1.3	Limitações e perspectivas futuras	23
3.2	MENINGIOMA	24
3.2.1	Epidemiologia e etiologia	24
3.2.2	Características clínicas e diagnóstico	26
3.2.3	Tratamento e prognóstico	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	DECLARAÇÕES ÉTICAS E TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE	32
4.2	OBTENÇÃO DA APITOXINA	32
4.3	COLETA DA AMOSTRA DE MENINGIOMA EXAME MACROSCÓPICO ..	32
4.4	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO E IMUNO-HISTOQUÍMICO	33
4.5	CULTIVO CELULAR	34
4.6.1	DOSAGEM DE LACTATO DESIDROGENASE (LDH)	35
4.7	COLORAÇÃO DE ZIEHL-NEELSEN	35
4.8	MORFOMETRIA NEURONAL	36

4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA	36
5	RESULTADOS	38
5.1	DOSAGEM DE LACTATO DESIDROGENASE (LDH)	38
5.2	MORFOMETRIA NEURONAL	38
6	DISCUSSÃO	42
7	CONCLUSÃO	46
8	REFERÊNCIAS	47

1. INTRODUÇÃO

Na apiterapia, são utilizados produtos das abelhas, incluindo mel, cera de abelha, geleia real, própolis e veneno, como tratamento de diversas doenças e alterações na saúde humana (Basa *et al.*, 2016; Azam *et al.*, 2018; Šuran *et al.*, 2021). Esta prática é adotada em vários países, tendo destaque no Brasil por possuir ampla variedade de produtos apícolas e por liderar as pesquisas na área (Senel e Demir, 2018).

O veneno de abelha, frequentemente também chamado de apitoxina, é uma substância complexa secretada pelas glândulas de veneno localizadas na cavidade abdominal das abelhas e injetada nas vítimas usando um ferrão. Os principais componentes da apitoxina são peptídeos policatiônicos anfipáticos, como aminas e melitinas, enzimas (fosfolipase A₂) e substâncias de baixo peso molecular, como aminas ativas (Varol *et al.*, 2022; Erkoç *et al.*, 2022; Wehbe *et al.*, 2019;). A apitoxina é um agente apiterapêutico usado em doenças degenerativas, como doenças autoimunes e osteoartrites, algumas doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson, e doenças da pele. Como tem um efeito antinociceptivo, é tradicionalmente usada para reduzir a dor e tratar a dor crônica (Wehbe *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2011). Foram encontrados efeitos positivos no sistema nervoso devido às aminas biologicamente ativas (como a apamina), e também se reconhece uma característica radioprotetora (Viana *et al.*, 2021; Oršolić *et al.*, 2007). Além disso, os componentes do veneno de abelha, como a fosfolipase A₂ e a melitina, podem ser utilizados contra vários tipos de células cancerígenas devido à sua capacidade de induzir apoptose e inibir a proliferação celular, à exemplo dos cânceres pulmonar, mamário, gástrico, colorretal e cervical (Chen *et al.*, 2019; Chang *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2023; Kim *et al.*, 2020).

Os meningiomas configuram-se como neoplasias primárias mais comuns do sistema nervoso central (SNC), originadas das células aracnoides das meninges e representando uma proporção significativa das neoplasias intracranianas e intrarraquidianas (Ostrom *et al.*, 2021). Nos casos sintomáticos, a ressecção cirúrgica constitui a modalidade terapêutica de primeira escolha, apresentando elevada taxa de eficácia na maioria dos pacientes. Entretanto, essa abordagem pode estar associada a limitações técnicas e riscos consideráveis, especialmente em tumores localizados em regiões de difícil acesso, como aqueles situados na base do crânio, que envolvem estruturas vasculares e nervosas críticas. Alternativas terapêuticas incluem a observação clínica através de

acompanhamento por exames de imagem, além da radiocirurgia estereotáxica em casos de tumores menores ou pacientes de alto risco cirúrgico. O emprego da radioterapia permanece controverso nos meningiomas atípicos (grau II), sendo, contudo, indicado nos meningiomas anaplásicos (grau III) (Maggio *et al.*, 2021; Preusser *et al.*, 2018; Apra *et al.*, 2018).

Diante do reconhecido potencial terapêutico da apitoxina e da ausência de estudos que investiguem sua aplicação nesse tipo tumoral, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antineoplásica da apitoxina ultrapurificada de *Apis mellifera* em cultivo primário de células de meningioma humano. A pesquisa está alinhada aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) estabelecidos pela Organização das Nações Unidas no âmbito da Agenda 2030, especialmente ao ODS 3 (Saúde e Bem-Estar) e ao ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Ao investigar o potencial terapêutico da apitoxina como estratégia antitumoral, este estudo contribui para o avanço de alternativas inovadoras e potencialmente menos agressivas no tratamento oncológico, promovendo a pesquisa científica voltada à melhoria da saúde e da qualidade de vida. Adicionalmente, ao valorizar um composto bioativo de origem natural, a pesquisa incentiva o uso sustentável de recursos biológicos, estimulando a reflexão sobre práticas responsáveis de obtenção, manejo e aplicação de insumos naturais, em consonância com a promoção de padrões mais sustentáveis de produção e utilização de recursos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

- Avaliar o potencial antineoplásico da apitoxina ultrapurificada de *Apis mellifera* em células de meningioma *in vitro*.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a citotoxicidade da apitoxina em células de meningioma *in vitro*, utilizando o ensaio de liberação da lactato desidrogenase (LDH).
- Analisar as alterações morfométricas das células de meningioma após o tratamento com apitoxina, por meio da mensuração da área e do perímetro celular.
- Correlacionar os dados bioquímicos de citotoxicidade (LDH) com as alterações morfométricas celulares, buscando evidenciar a associação entre dano de membrana e modificações estruturais.
- Determinar a relação dose-dependente da apitoxina sobre a viabilidade celular das células de meningioma.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Apitoxina

3.1.1. Composição química

O veneno de abelha, frequentemente chamado de apitoxina, é produzido na glândula de veneno localizada na cavidade abdominal das abelhas. O reservatório de veneno pode armazenar até 300 µg de veneno, que é injetado na vítima através de um ferrão, conforme ilustrado na Figura 1 (Komi *et al.*, 2018; Aufschnaiter *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2020, Nainu *et al.*, 2021). Abelhas adultas utilizam-no para defesa da colmeia, injetando uma média de 50–140 µg de veneno durante uma única picada (Frangieh *et al.*, 2019). O efeito das picadas de abelhas no corpo do hospedeiro pode ser local ou sistêmico. A reação local à picada de todos os insetos da ordem Hymenoptera é semelhante, devido à presença de componentes tóxicos similares, porém as reações sistêmicas dependem dos alérgenos presentes no veneno das abelhas (Fitzgerald e Flood 2006; Komi *et al.*, 2018).

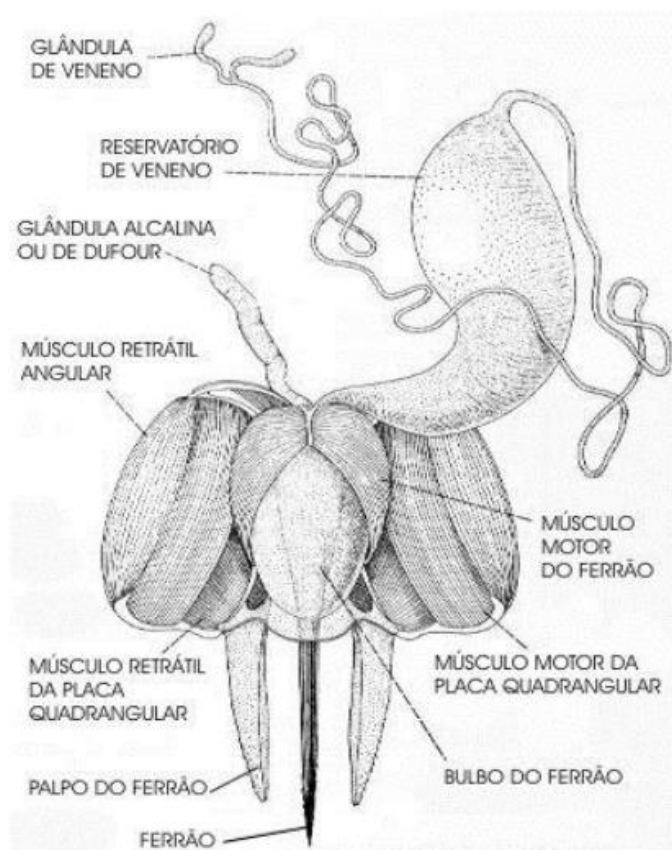


Figura 1. Aparelho de ferrão da *Apis mellifera* (Nocelli, 2002)

A apitoxina é composta por vários bioativos, incluindo peptídeos, aminos, enzimas, aminoácidos, lipídios e outras substâncias solúveis em água (Tabela 1). Estas substâncias conferem ao veneno de abelha atividades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, anticancerígenas, antimutagênicas, anti-nociceptivas e radioprotetoras (Garaj-Vrhovac e Gajski, 2011; Samanci e Kekeçog̃lu, 2019; Kim *et al.*, 2020). Dentre os principais componentes, se destacam peptídeos como melitina, apamina, peptídeo desgranulador de mastócitos (MCD); enzimas como hialuronidase e fosfolipase A2, e aminos biologicamente ativas como histamina e dopamina (Hider, 1988; Rady *et al.*, 2017). A melitina representa cerca de 50% do peso seco total do venendo da abelha e é predominantemente composta por 26 aminoácidos (El-Seedi *et al.*, 2020; Badawi, 2021). Outro componente importante do veneno de abelha é o peptídeo degranulante de mastócitos (peptídeo MCD) ou peptídeo 401. Este peptídeo contém 22 aminoácidos e representa de 2 a 3% do peso seco do veneno de abelha (Baracchi *et al.*; 2011, Wehbe *et al.*, 2019).

Tabela 1. Componentes da apitoxina. Adaptado de Pandey *et al.* (2023).

Componentes da apitoxina			
Melitina	Frutose	2-nonanol	Tertiapina
Apamina	Glicose	n-decil acetato	Melitina F
Peptídeo MCD	Isopentanol	Fósforo	Fosfatase ácida
Secarpina	Benzil acetato	Cálcio	Fosfolipase A2
Minimine	Isopentil acetato	Magnésio	a-Glucosidase
Procamina A, B	n-butil acetato	Noradrenalina	Fosfolipase
Inibidor de protease	n-octil acetato	Histamina	Hialuronidase
Cardiopep	Benzil álcool	Dopamina	Fosfolipase B

As enzimas no veneno de abelha incluem hialuronidase e fosfolipase, as quais são responsáveis por ativar a imunidade e induzir reações de IgE em pessoas sensíveis (Moreno e Giralt, 2015; Abdela e Jilo, 2016). Além disso, a fosfolipase A2 (PLA2) é o principal agente alergênico do veneno de abelha e representa cerca de 10 a 12% do peso total do veneno (Hossen *et al.*, 2017; Wehbe *et al.*, 2019; Baek *et al.*, 2020). A hialuronidase, também chamada de "fator de dispersão", é o segundo alérgeno mais importante do veneno de abelha, rompendo a membrana celular ao hidrolisar o ácido

hialurônico polimérico pegajoso em partes não pegajosas (Moreno e Giralt, 2015; Abdela e Jilo, 2016).

3.1.2. Efeito antineoplásico

A apitoxina é um agente apiterapêutico usado em doenças degenerativas como doenças autoimunes e osteoartrites, algumas doenças neurodegenerativas como Alzheimer e Parkinson, e doenças da pele. Como tem um efeito antinociceptivo, tem uso tradicional para reduzir a dor e tratar a dor crônica. Foram encontrados efeitos positivos no sistema nervoso devido às aminas biologicamente ativas (apamina, entre outras) e também possui uma característica radioprotetora (Abdela e Jilo, 2016; Uddin *et al.*, 2016; Aliyazicioglu, 2019; Kim *et al.*, 2020). Além disso, os componentes do veneno de abelha, como fosfolipase A2 e melitina, podem ser utilizados contra vários tipos de células cancerígenas, como as de próstata, fígado, renal, cervical e mamária (Abdela e Jilo, 2016).

Em um estudo realizado por Lee *et al.* (2015), o veneno da abelha foi testado em carcinoma cervical *in vitro* e *in vivo* em camundongos xenotransplantados com células primárias de câncer cervical. Na concentração de 5 µg/mL e dose de 1mg/kg, o veneno se mostrou eficaz na inibição do crescimento do tumor xenotransplantado, reduziu o crescimento das células em cultivo e induziu apoptose por meio da influência na expressão das proteínas reguladoras de apoptose, por exemplo.

Viana *et al.* (2019) constatou o potencial antineoplásico da apitoxina produzida pela *Apis mellifera* do semiárido potiguar *in vitro* frente a linhagens de células tumorais. As linhagens PC3, HEPGE2, MAD-MB435 e SNB19 foram submetidas a concentrações de apitoxina, a qual apresentou atividade antineoplásica, não sendo observada citotoxicidade em células normais (L929 e HACAT), o que sugeriu uma ação seletiva contra as células neoplásicas. Além disso, também foi constatada alta capacidade antioxidante, sem exercer efeito genotóxico (apenas na concentração de 50µg/mL), e também efeito fotoprotetor *in vivo* na pele de ratos Wistar.

Outro estudo realizado por Huang *et al.* (2021), demonstrou evidências de que a melitina induziu a migração e invasão de células AGS (câncer gástrico humano) *in vitro*. Além disso, o ensaio de Western blot confirmou que a melitina inibiu a migração e invasão das células AGS por meio da inibição da expressão de proteínas associadas à metástase. No geral, os possíveis mecanismos moleculares de inibição da metástase de células AGS pela melitina seriam através das vias de sinalização Wnt/β-catenina,

BMP/Smad e EMT. Pandey *et al.* (2023) descreveram as principais possíveis vias de ação antineoplásica da melitina em diferentes tipos de carcinoma, que inclui apoptose, interrupção do ciclo celular, regulação da cascata de sinalização celular, efeitos antimetastáticos e sensibilização à quimioterapia e radioterapia (Figura 2).

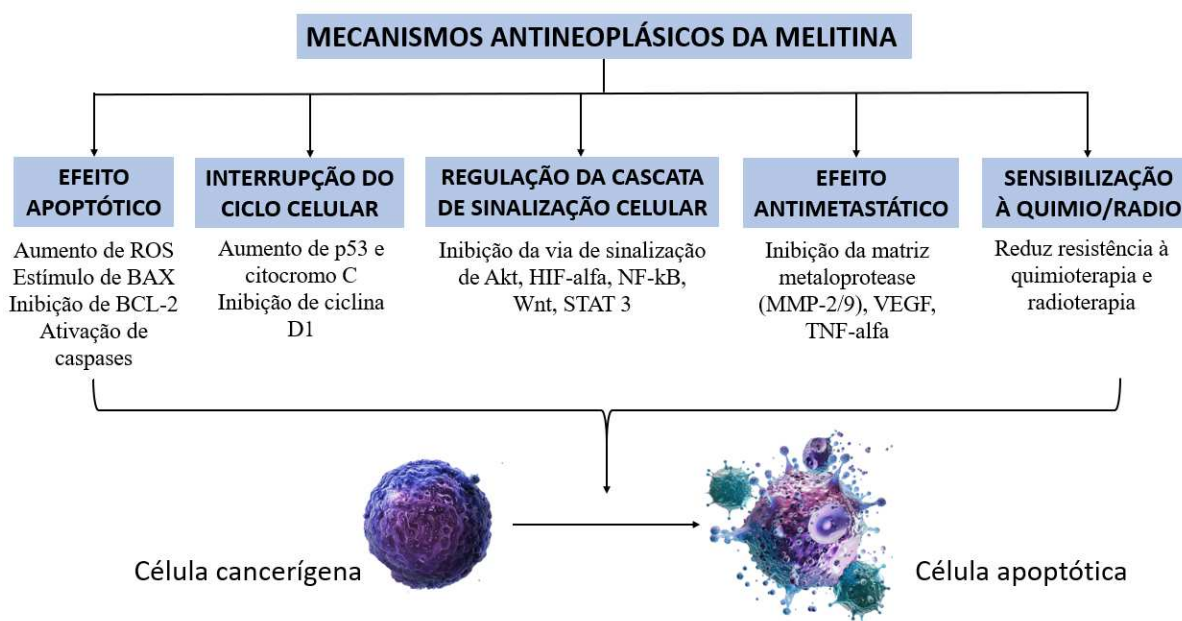


Figura 2. Mecanismos antineoplásicos da Melitina em diferentes tipos de carcinoma. A melitina exerce seu efeito antineoplásico através da indução à apoptose, interrupção do ciclo celular, regulação da cascata de sinalização celular oncogênica, inibição da metástase e redução da resistência quimioterápica e radioterápica (adaptado de Pandey *et al.*, 2023).

3.1.3. Limitações e perspectivas futuras

No mercado, o veneno de abelha está disponível em muitas formas, como injeções, pomadas, cremes, picadas naturais de abelhas, comprimidos, bálsamos, kits de emergência para picadas de abelhas, bem como veneno líquido puro. Além disso, alguns laboratórios específicos podem fornecer os componentes isolados do veneno de abelha, como a melitina, fosfolipase A2 ou outros componentes, para fins medicinais e científicos (Ali, 2012).

Por outro lado, o tratamento com apitoxina frequentemente pode causar efeitos adversos em decorrência da liberação da IgE (Karimzadeh *et al.*, 2013). Os componentes do veneno de abelha, como a fosfolipase A2, a melitina e a hialuronidase, são os principais alérgenos. Em pessoas sensíveis, a administração de 100 µg/mL de veneno de abelha pode causar complicações graves, como paralisia dos membros, dor, dispneia, náusea,

inconsciência e instabilidade dos linfócitos, etc. Além disso, doses de 2,8 mg a 3,5 mg de veneno de abelha/kg de peso corporal podem ser letais (DL50) para um indivíduo alérgico. A gravidade da aplicação do veneno de abelha depende principalmente do peso corporal, idade, número de picadas, imunidade e sensibilidade prévia do indivíduo (Pucca *et al.*, 2019).

Em levantamento realizado por Yoo e Lee (2023), foram avaliados 105 relatos na literatura referentes a efeitos adversos após tratamento com apitoxina através de injeções do extrato, imunoterapia com apitoxina, picadas de abelhas vivas ou preparações de uso externo. Os tratamentos visavam amenizar sintomas relacionados doenças como artrite reumatoide, espondilite anquilosante, osteoartrite e hérnia de disco lombar. Dentre os efeitos adversos relatados, se destacam alterações dermatológicas, como atrofia, prurido, irritação, vesículas, inchaço e eritema; alterações gastrointestinais como dispepsia, náusea, vômitos, dor de estômago e constipação; sintomas moderados, como dor de cabeça, tontura e dormência; até sintomas mais severos, como bradicardia, dificuldade respiratória, hemorragia e choque anafilático.

O conhecimento das reações alérgicas e dos efeitos colaterais associados ao veneno da abelha tem sido o foco de pesquisas presentes. A exemplo de alternativas para superar essas limitações, sistemas de administração baseados em nanotecnologia têm sido investigados para aumentar o potencial terapêutico da melitina (Gajski *et al.*, 2013; Rady *et al.*, 2017). Uma variedade de nanocarreadores, incluindo lipossomas, nanopartículas poliméricas, micelas e nanopartículas à base de metal, são projetados para melhorar a especificidade tumoral, reduzir a toxicidade sistêmica e proteger a melitina da degradação. Além disso, plataformas responsivas a estímulos oferecem liberação controlada dentro do microambiente tumoral (TME) (Wang *et al.*, 2022). Novos conhecimentos sobre a segurança da apitoxina são de grande importância para os profissionais clínicos evitarem os aspectos negativos e as consequências perigosas deste produto fundamental das abelhas (Ullah *et al.*, 2023).

3.2. Meningioma

3.2.1. Epidemiologia e etiologia

O meningioma corresponde ao tumor primário mais comum do sistema nervoso central (SNC), que se originam das células meningoepiteliais (MECs) (Ostrom *et al.*, 2019; Huntoon *et al.*, 2020). As MECs estão presentes na pia-máter, na aracnoide e nas

trabéculas e septos do espaço subaracnóideo, promovendo uma interface entre o tecido neuronal e o líquido cefalorraquidiano (LCR) (Weller, 1978), conforme ilustrado na Figura 3. Dentre as principais funções das MECs, estão a proteção contra danos mecânicos e manutenção da homeostase do LCR, além de desempenhar papel imunológico através da liberação de quimiocinas e citocinas pró e anti-inflamatórias e fagocitose de microorganismos e corpos apoptóticos (Kalamarides *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2014; Hemion *et al.*, 2020).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o meningioma é classificado em grau I, II ou III com base em critérios histológicos de 15 subtipos. Esta graduação está diretamente relacionada ao risco de recidiva e tempo de sobrevida, sendo o grau I correspondente a cerca de 80,5% dos casos, com comportamento benigno e indolente (Louis *et al.*, 2016; Ostrom *et al.*, 2019).

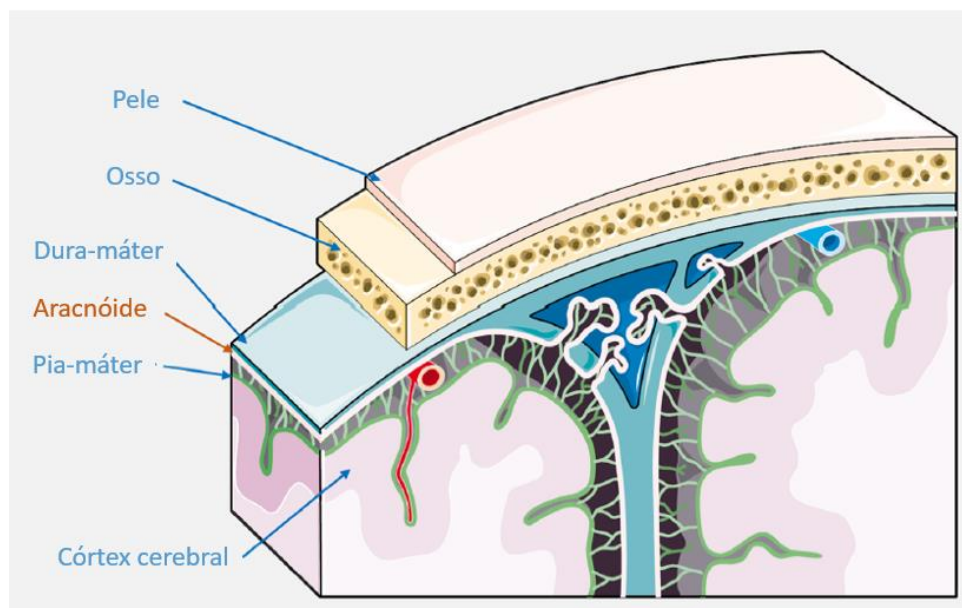


Figura 3. Anatomia das meninges. (Hanna Jr *et al.*, 2023)

A incidência do meningioma aumenta no decorrer da idade, com idade média de diagnóstico em 66 anos. Tanto os meningiomas malignos quanto os benignos, são mais comuns em mulheres, com taxas de incidência relativas de 1,12 e 2,33, respectivamente. Ambos também são mais comuns em pessoas pretas quando comparadas a pessoas brancas, com taxas de incidência relativas de 1,18 para benignos e 1,52 para malignos

(Ostrom *et al.*, 2019). Em torno de 2 a 3% dos pacientes correspondem a diagnósticos acidentais em autópsias (Nakasu *et al.*, 1987; Johnson *et al.*, 2019).

Dentre os fatores de risco, se destacam a radiação ionizante, obesidade, influências hormonais e doenças ocupacionais. A exposição à radiação ionizante é o único fator de risco identificado e relatado amplamente, com aumento de 6 a 10 vezes do risco de desenvolvimento do meningioma, independente da dose (Umansky *et al.*, 2008; Wiemels *et al.*, 2010). No que diz respeito à obesidade, correlações positivas foram encontradas com o índice de massa corporal (IMC) e o percentual de gordura (Takahashi *et al.*, 2019). Os riscos relativos de aparecimento de meningioma em pessoas com obesidade e sobrepeso foram de 1,48 e 1,18, respectivamente, considerando o IMC (Zhang *et al.*, 2016). Os principais mecanismos que podem justificar a correlação entre a obesidade e o meningioma, incluem inflamação crônica e aumento da sinalização mediada por adipocinas, além da sinalização da insulina e do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF). (Takahashi *et al.*, 2019) A correlação do meningioma com hormônios é inconclusiva, porém 100% dos meningiomas possuem receptores de somatostatina 2 (SSTR2), além de receptores de progesterona (80%), estrógeno (40%) e andrógenos (40%) (Korhonen *et al.*, 2006; Baldi *et al.*, 2018; Wu *et al.*, 2020; Delgado-López *et al.*, 2020).

3.2.2. Características clínicas e diagnóstico

As localizações mais comuns do meningioma são nas regiões de convexidade (hemisfério lateral) (20–37%), parasagital (área medial dos hemisférios) (13–22%), espinhal (7–12%), base do crânio (43–51%), frontobasal (10–20%), esfenoidal e fossa craniana média (9–36%), fossa posterior (6–15%), tentório do cerebelo (2–4%), convexidade cerebelar (5%), ângulo cerebelopontino (2–11%), forame magno (3%), petroclival (<1–9%), intraventricular (1–5%), orbital (<1–2%) e localizações ectópicas (<1%) (Voß *et al.*, 2017; Magill *et al.*, 2018; Huntoon *et al.*, 2020).

Os sintomas são inespecíficos, mas ocorrem em decorrência de compressão de estruturas cerebrais e vasculares adjacentes, caracterizados por déficits neurológicos focais (Wang *et al.*, 2018). Os pacientes apresentam de forma mais comum cefaleia, déficit focal de nervo craniano, convulsão, alteração cognitiva, fraqueza, vertigem, ataxia, dor, alteração sensorial, proptose e síncope, ou podem ainda ser assintomáticos (Magill *et al.*, 2018; Zouaoui *et al.*, 2018).

O diagnóstico inicial acontece através de ressonância magnética (MRI) ou tomografia computadorizada com contraste aprimorado (CT), em pacientes com contraindicação de MRI. Outra alternativa é a tomografia por emissão de pósitrons (PET) usando ligantes de SSTR, em decorrência da grande quantidade de receptores de SSTR2 presentes nos meningiomas (Goldbrunner *et al.*, 2016; Nowosielski *et al.*, 2017). Na MRI, os meningiomas na ressonância magnética são hipo a isointensos em relação ao córtex cerebral em sequências ponderadas em T1 e iso a hiperintensos em sequências ponderadas em T2, exibindo forte realce homogêneo após a administração de contraste de gadolínio (Figura 4). Uma cauda dural pode ser vista em 72% dos meningiomas em imagens pós-contraste e pode ajudar a diferenciar meningiomas de outros tumores extra-axiais como schwannomas e adenomas hipofisários, embora não seja específico. Em tumores com comportamentos mais agressivos, a imagem pode assumir aparência heterogênea que pode ser causada pela presença de cistos intratumorais, hemorragia ou necrose (Huang *et al.*, 2019). Já na CT, os meningiomas geralmente aparecem isodensos em relação ao córtex cerebral, mas ocasionalmente podem ser hiperdensos ou ligeiramente hipodensos (Nowosielski *et al.*, 2017), apresentando-se como uma massa lobular bem delimitada com ampla fixação dural e demonstram realce homogêneo após a administração de contraste iodado (Huang *et al.*, 2019).

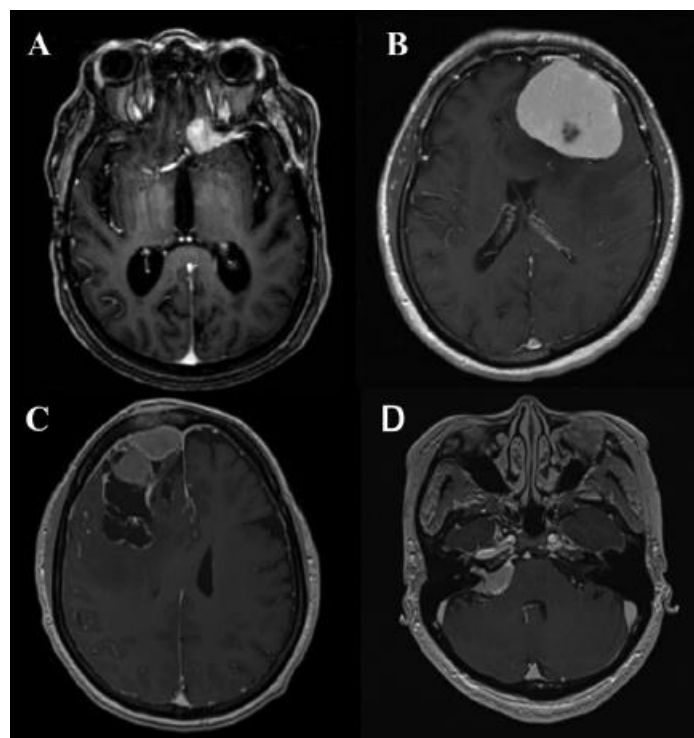


Figura 4. Investigação diagnóstica por imagística do meningioma. (A) Ressonância magnética axial ponderada em T1 pós-contraste demonstrando um meningioma da clinóide anterior com

uma cauda dural característica. (B) Ressonância magnética axial ponderada em T1 pós-contraste demonstrando um meningioma da convexidade com caudas durais. (C) Ressonância magnética axial ponderada em T1 pós-contraste demonstrando um meningioma com bordas irregulares adjacente ao seio sagital superior. (D) Ressonância magnética axial ponderada em T1 pós-contraste demonstrando meningioma do ângulo cerebelopontino (Huntoon *et al.*, 2020).

O diagnóstico histopatológico ajuda a descartar outros diagnósticos, como metástases (Goldbrunner *et al.*, 2016). Frequentemente os meningiomas podem apresentar características histológicas com redemoinhos patognomônicos, pseudoinclusões citoplasmáticas intranucleares e corpos de psamom (Buerki *et al.*, 2018). Outras massas durais, incluindo processos neoplásicos primários, metástases doenças granulomatosas e infecções, podem mimetizar meningiomas (Lyndon *et al.*, 2019). Os mais comuns são hemangiopericitoma/tumor fibroso solitário (HPC/TFS), seguidos por lesões metastáticas e schwannomas e aparecem principalmente na convexidade (40%), parafalcina (24%) e base do crânio (24%) (Nagai Yamaki *et al.*, 2021). A característica histológica patognomônica do meningioma é o arranjo em forma de "espirais" formadas pelas células meningoteliais (Figura 5), que podem mineralizar e abrigar "corpos de psamoma" (calcificações distróficas concêntricas). Além disso, pseudoinclusões citoplasmáticas intranucleares, clareamento nuclear e sulcos nucleares são frequentemente observados (Menke *et al.*, 2015).

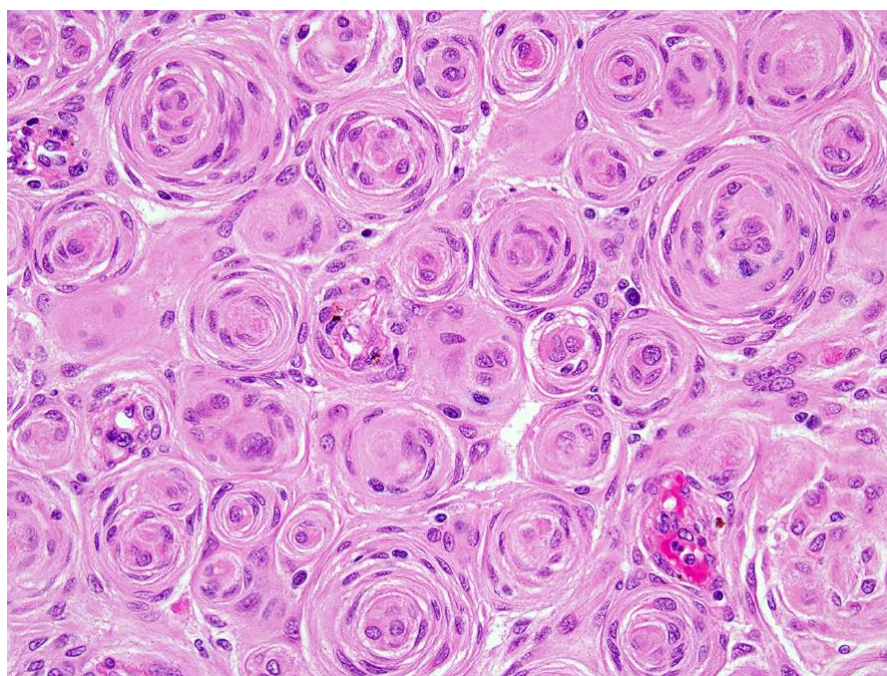


Figura 5. Arquitetura histológica de meningioma meningoteliais. Presença de proeminentes redemoinhos patognomônicos. 400x; H&E. (Huntoon *et al.*, 2020)

O meningioma apresenta características histopatológicas heterogêneas, sendo subclassificados em 15 variações que são incluídas na graduação da OMS (Huntoon *et al.*, 2020). Os tumores que compreendem o grau I são benignos e incluem 9 subtipos histológicos, sendo os mais comuns o meningotelial, o fibroso e o transicional. Os meningiomas atípico, coróide e de células claras estão incluídos no grau II, caracterizados por possuírem 4 ou mais figuras de mitose consecutivas por campo por 10 campos de alta resolução (objetiva de 40x) ou invasão cerebral. Além disso, há a presença de 3 dos 5 critérios a seguir: necrose intratumoral espontânea, perda de padrão de arquitetura ou arquitetura em folhas, nucléolos proeminentes, alta celularidade e baixa relação núcleo/citoplasma (Louis *et al.*, 2016). O grau III compreende os meningiomas anaplásicos, rabdóides e papilares, que possuem todos os critérios anteriormente descritos para o grau II, com exceção das figuras de mitose que ultrapassam 20 por 10 campos de alta resolução (objetiva de 40x). Alguns podem apresentar semelhanças histológicas com sarcomas, carcinomas e melanomas de alto grau (Zwerdling & Dothage, 2002).

No entanto, essas características histológicas clássicas podem estar ausentes ou muitas vezes discretas em alguns casos de meningioma e a imuno-histoquímica pode ser utilizada para confirmação nesses exemplos. Dentre os marcadores tumorais mais utilizados em meningiomas, incluem-se a vimentina, o antígeno da membrana epitelial (EMA), proteína S-100, antígeno carcinoembrionário (CEA), AE1/AE3, proteína ácida fibrilar glial (GFAP), o receptor de progesterona (RP) e Ki-67 (Babu *et al.*, 2011; Louis *et al.*, 2016). Em uma meta-análise de Liu *et al.* (2020), 43 estudos mostraram que uma maior expressão de Ki-67 está associada a uma pior sobrevida global em pacientes com meningiomas. Menger *et al.* (2017) avaliaram o índice de marcação Ki-67 quanto ao seu potencial para prever o risco de recorrência. Eles concluíram que o risco de recorrência após a ressecção de meningiomas pode estar associado ao grau de positividade do Ki-67, com algumas evidências de que valores específicos do índice de marcação Ki-67 podem ajudar a prever a recorrência do meningioma. A especificidade do RP é reduzida em meningiomas de alto grau e sua ausência sugere comportamento tumoral mais agressivo (Babu *et al.*, 2011; Louis *et al.*, 2016). Estudos mais recentes demonstraram que o receptor de somatostatina 2A (SST2A) é uma boa alternativa de marcador imuno-histoquímico devido à sua maior sensibilidade quando comparado a marcadores de membrana celular (Menke *et al.*, 2015).

A OMS incluiu fatores moleculares na graduação mais recente (2021). Como exemplo, a influência das mutações do promotor da TERT (transcriptase reversa da telomerase) foi observada em análises retrospectivas. Sahm *et al.* (2015) encontraram uma taxa de mutação do promotor TERT de 6,4% entre 252 pacientes, com aumento de 5,7% e 20% nos graus 2 e 3, respectivamente, quando comparados ao grau 1 (1,7%). Notavelmente, o tempo livre de doença foi alterado pela presença desta mutação, reduzindo de 179 meses para 10,1 meses em tumores agressivos e com mutação no TERT (Spiegel-Kreinecker *et al.*, 2018).

3.2.3. Tratamento e prognóstico

O tratamento do meningioma é altamente individualizado, mas pode incluir observação, ressecção cirúrgica, radioterapia e, raramente, quimioterapia, com respostas amplamente variáveis aos diferentes tipos de tratamento (Goldbrunner *et al.*, 2016). A observação é mais comum para pacientes com diagnósticos acidentais, assintomáticos e com diâmetro tumoral ≤ 3 cm e é feita através de MRIs até que se tornem sintomáticos ou que o tumor cresça o suficiente pra ser submetido a outros tratamentos e prevenir o aparecimento de sintomas. Após o diagnóstico inicial, recomenda-se repetir a MRI após 6 meses e, caso não haja evolução, seguir com acompanhamento anual por 5 anos e a cada 2 anos posteriormente (Goldbrunner *et al.*, 2016).

Em casos de pacientes sintomáticos, tumores maiores assintomáticos ou quando a observação demonstra risco, a ressecção cirúrgica é a primeira opção, podendo curar de 70 a 80% dos pacientes (Marosi *et al.*, 2008; Preusser *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2020). Apesar do objetivo da cirurgia ser a ressecção total do tumor, ela pode ser limitada por fatores como a localização da lesão, envolvimento dos seios venosos e tecido neurovascular e outros fatores relativos ao paciente que possam interferir na segurança do procedimento (Buerki *et al.*, 2018).

A extensão da ressecção é definida através da graduação de Simpson, feita pelo neurocirurgião em conjunto com as imagens diagnósticas. Em procedimentos grau 1, há a ressecção total do tumor, anexos durais e osso envolvido. No grau 2 há a ressecção total do tumor e vascularização dos anexos durais e no grau 3 há apenas a ressecção do tumor, sem ressecar a vascularização dos componentes durais ou extradurais. Já no grau 4 há a remoção parcial do tumor enquanto que no grau 5 somente a biópsia é realizada. (Goldbrunner *et al.*, 2016; Buerki *et al.*, 2018)

A radioterapia é o tratamento de escolha em tumores inoperáveis, como em meningiomas que envolvem a base do crânio e estruturas neurovasculares (Zhao *et al.*, 2020). Em casos de ressecção parcial ou recidiva local, a radiocirurgia estereotáxica (RCE) e a radioterapia fracionada (RTF) podem ser utilizadas (Goldbrunner *et al.*, 2016). A radioterapia adjuvante é indicada para tipos histológicos graus II e III, mesmo após ressecção cirúrgica, por apresentarem alto risco de recidiva (30 a 40 e 50 a 80% após 5 anos, respectivamente) (Zhao *et al.*, 2020).

Em casos de pacientes com meningiomas recidivantes ou progressivos que não respondem mais à cirurgia ou radioterapia, o tratamento sistêmico de resgate é indicado, porém com poucas alternativas e resultados limitados, à exemplo do IFN-alfa, agonistas de receptores de somatostatina e inibidores do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Zhao *et al.*, 2020, Karsy *et al.*, 2016).

4. Material e Métodos

4.1. Declarações éticas e termo de consentimento livre

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (CEP – UERN), sob parecer nº 6959206 e o paciente portador do meningioma assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O paciente já seria submetido ao procedimento cirúrgico e, ao assinar o termo, consentiu com o envio de pequeno fragmento de tecido tumoral, de forma que não interferisse no diagnóstico histopatológico do nódulo removido. O termo esclarecia, ainda, que os riscos ao paciente seriam os mesmos inerentes ao procedimento cirúrgico já programado, os quais dependem da área encefálica acometida, das estruturas vasculares e nervosas adjacentes, hemorragias e infecções, além de riscos mínimos de vazamento de dados, que seriam minimizados mediante garantia de anonimato e sigilo do paciente. O termo ressalta o benefício da pesquisa para a sociedade, diante da possibilidade de desenvolvimento de tratamentos para o meningioma.

4.2. Obtenção da apitoxina

As amostras de apitoxina ultrapurificada (UP) foram obtidas na Legitimidade em Biotecnologia do Brasil (LBIOTEC®, Parnaíba/PI, Brasil). O produto foi coletado por estimulação elétrica através de placas coletoras colocadas na entrada das colmeias e conectadas a um dispositivo que promove impulsos elétricos. Foi aplicada diferença de potencial (ddp) de 64V com frequência de pulsos de 37Hz e correntes 2A, causando estímulo elétrico que ocasionou a ferroadada e, conseqüentemente, a liberação do veneno pelas glândulas de veneno das abelhas. O veneno liberado na forma líquida ficou depositado entre o vidro da placa e o material protetor do equipamento e foi submetido a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 40°C, durante 48 horas. Em seguida, o veneno foi raspado do vidro, liofilizado e encaminhado para o laboratório da LBIOTEC® para posterior caracterização por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), apresentando resultados compatíveis com padrão de apitoxina fornecido pela Citeq Biologics®.

4.3. Coleta da amostra de meningioma e exame macroscópico

Para incluir o paciente no estudo, foram utilizados os seguintes critérios: idade entre 18 e 70 anos, lesão com diagnóstico fortemente presuntivo para meningioma em

tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética, indicação de ressecção cirúrgica e condições clínicas favoráveis à cirurgia.

O paciente portador do meningioma foi uma mulher de 38 anos que apresentava imagens de ressonância magnética compatíveis com meningioma, caracterizadas por lesão expansiva extra-axial na alta convexidade esquerda, medindo cerca de 3,0 x 2,5 x 2,1 cm, com hiperostose do osso parietal e impressão sobre a transição frontoparietal esquerda, sem impregnações anômalas do contraste paramagnético no encéfalo. A neurocirurgia foi realizada no Hospital Wilson Rosado (Mossoró-RN) por equipe médica qualificada, utilizando protocolos anestésicos e técnicas cirúrgicas clássicas e convencionais, sem qualquer alteração nos protocolos pré-definidos. A amostra foi coletada no transoperatório, imediatamente acondicionada em meio de cultura DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) e transportada rapidamente ao Laboratório de Biologia Molecular (LabMol – UERN) em temperatura ambiente.

Na macroscopia, a amostra apresentou-se como uma massa ovóide (3,5x3,3x2,9cm), homogênea, com consistência elástico-firme, coloração parda-acastanhada e superfície de corte brancacenta com áreas calcificadas (Figura 6).

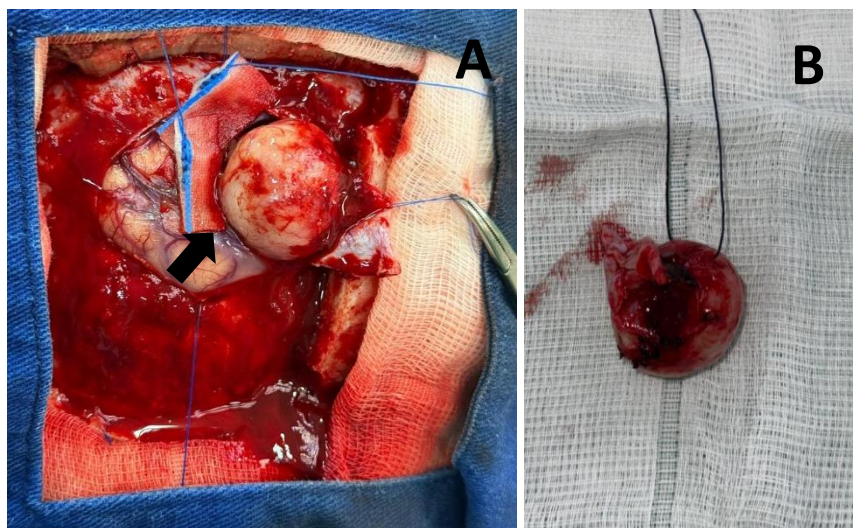


Figura 6. Transoperatório de ressecção de tumor com suspeita de meningioma. (A) Massa tumoral extra-axial expansiva (seta) exposta após craniotomia e abertura da dura-máter. (B) Massa tumoral ressecada, com macroscopia ovóide, consistência elástico-firme e coloração parda-acastanhada.

4.4. Diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico

Para a avaliação histopatológica, fragmentos da lesão tumoral foram colhidos, fixados em formalina tamponada a 10%, emblocados em parafina, cortados em

micrótomo a 5µm de espessura e corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina. Na análise microscópica, foram visualizadas células fusiformes em meio a matriz colagenosa com focos de calcificação, sugestivo de meningioma.

A amostra foi enviada para análise imuno-histoquímica para confirmação diagnóstica, com resultados expressos na Tabela 2. A marcação foi considerada positiva para o anticorpo testado quando as células apresentaram coloração marrom. Os marcadores utilizados foram nucleares e, através da microscopia, foram observadas as regiões de intensa coloração acastanhada. O índice proliferativo (Ki-67) foi calculado através da média entre os valores da contagem de células coradas e do total de células. Os achados morfológicos aliados ao perfil imuno-histoquímico foram compatíveis com meningioma meningotelial, grau I (Organização Mundial da Saúde – OMS).

Tabela 2. Perfil imuno-histoquímico compatível com meningioma meningotelial, grau I (OMS).

Anticorpo	Clone	Interpretação
Receptor de progesterona	SP42	Positivo
Receptor de somatostatina 2	umb1	Positivo
GFAP	EP67ZY	Negativo
Proteína S100	4c4.9	Positivo
Ki-67	SP6	Positivo, 8%

4.5. Cultivo celular

Para desenvolvimento do cultivo primário de meningioma, a amostra acondicionada em meio DMEM foi cuidadosamente fragmentada com o auxílio de tesouras e pinças estéreis, sob fluxo laminar. Os fragmentos de em média 2mm, foram dispostos em placa de 6 poços contendo meio D-10 (meio DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino e 100ul de ceftriaxona) e encubados em estufa úmida a 37°C e 5% de CO₂. O meio de cultura foi trocado diariamente e as células monitoradas através de microscópio de luz invertida com contraste de fases (MCF). Após migração celular satisfatória com 70 a 90% de confluência, foi removido o meio D-10 e adicionado 2mL de tripsina/EDTA (0,25% de tripsina contendo 1 mM de EDTA-Vitrocell Embriolife-Brasil®) nos poços, para ressuspensão das células.

A mistura foi colocada em tubos cônicos do tipo Falcon, com o mesmo volume de meio D-10 por 10 minutos. Em seguida, o material foi submetido a três ciclos de centrifugação a 1500 rpm durante 5 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante foi desprezado e as células foram ressuspensas em 1mL de meio D-10. Na sequência, foram depositadas em placa de 24 poços, contendo lâmina circular de 13mm. As amostras foram divididas em grupos com concentrações de 1µg, 5µg, 10µg, 25µg e 50µg de apitoxina ultrapurificada, além do grupo controle que só possuía o meio de cultura. A placa foi encubada em estufa por 24 horas.

4.6. Dosagem de Lactato desidrogenase (LDH)

Após 24 horas de incubação do material, os meios de cultura de cada grupo foram coletados sob fluxo laminar com o auxílio de micropipeta manual, armazenados em tubos de 2mL do tipo eppendorf e centrifugados. A atividade da lactato desidrogenase (LDH) foi determinada por método colorimétrico automatizado, utilizando kit comercial LDH Liquiform®, cujo princípio baseia-se em reação enzimática acoplada com o substrato cromogênico 2-cloro-4-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (CNPG3). O ensaio foi realizado de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram adicionadas ao reagente de trabalho contendo tampão específico, substrato CNPG3, cofator NAD⁺ e enzimas auxiliares. A reação ocorreu sob temperatura controlada de 37°C, e a variação da absorbância foi monitorada continuamente.

A leitura espectrofotométrica foi realizada em espectrofotômetro Mindray BS-200®, ajustado para comprimento de onda de 505 nm. A absorbância foi registrada em intervalos regulares, permitindo a determinação da variação por minuto conforme equação:

$$\text{LDH (U/L)} = \Delta\text{Abs}/\text{min}$$

onde $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ corresponde à variação da absorbância por minuto.

4.7. Coloração de Ziehl-Neelsen

Para fixação das células, após remoção e armazenamento do meio de cultura, foi adicionado 1mL de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio (PBS) 0,1M e pH 7,4 em cada poço durante 72 horas. Em seguida, o fixador foi removido e as células passaram por três ciclos de lavagem com 1mL de PBS durante 2 minutos. Na sequência, foi feita a desidratação em séries de etanol em concentrações crescentes (15, 25, 30, 50,

70, 90 e 100%), com intervalo de 5 minutos entre cada uma. Após fixação, foi realizada a coloração do material com 1mL de azul de toluidina 1% por 2 minutos, seguida de 5 lavagens com água destilada por 3 minutos. As lamínulas foram sutilmente removidas do fundo da placa com o auxílio de pinça e coladas em lâmina de microscopia com uma gota de Entellan™.

4.8. Morfometria celular

Para análise morfométrica das células, de fotomicrografias digitais foram obtidas em microscópio óptico Leica DM6 equipado com câmera digital DFC7000 T acoplada. As imagens foram capturadas sob aumento padronizado de 20x, mantendo-se constantes as condições de iluminação, foco e resolução, e foram armazenadas em formato TIFF, sem compressão, para evitar perda de qualidade da imagem.

As análises morfométricas foram avaliadas utilizando o software ImageJ, que foi calibrado para o aumento de 20x. Para a mensuração da área e do perímetro do corpo celular, as células foram individualmente selecionadas e seus contornos delimitados manualmente por meio da ferramenta Freehand Selection. Após a delimitação do corpo celular, os parâmetros morfométricos foram obtidos automaticamente pelo comando Measure, sendo os valores de área (μm^2) e perímetro (μm) registrados para cada célula analisada.

Foram analisados apenas células com morfologia preservada e corpo celular completamente visível. As mensurações foram realizadas de forma cega em relação aos grupos experimentais, e os dados obtidos foram exportados em planilhas para posterior análise estatística.

4.9. Análise estatística

Os dados obtidos foram inicialmente organizados em planilhas eletrônicas e, posteriormente, submetidos à análise estatística inferencial. Para a avaliação dos efeitos das diferentes concentrações de apitoxina, foi utilizada a análise de variância (ANOVA), aplicando-se o teste F, com nível de significância estabelecido em 5% ($p < 0,05$). Esse procedimento permitiu verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre as médias dos grupos experimentais.

Quando identificada significância estatística na ANOVA, procedeu-se à comparação múltipla das médias, empregando-se o teste t de Bonferroni, também ao nível de 5% de

probabilidade, a fim de identificar especificamente quais tratamentos diferiram entre si. O método de Bonferroni foi escolhido por seu caráter conservador, reduzindo a probabilidade de erros do tipo I em comparações múltiplas.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SISVAR®, amplamente empregado em análises experimentais, o qual possibilitou a obtenção dos valores de F, níveis de significância, médias dos tratamentos e agrupamentos estatísticos. Os resultados foram expressos na forma de médias, acompanhadas das respectivas comparações estatísticas.

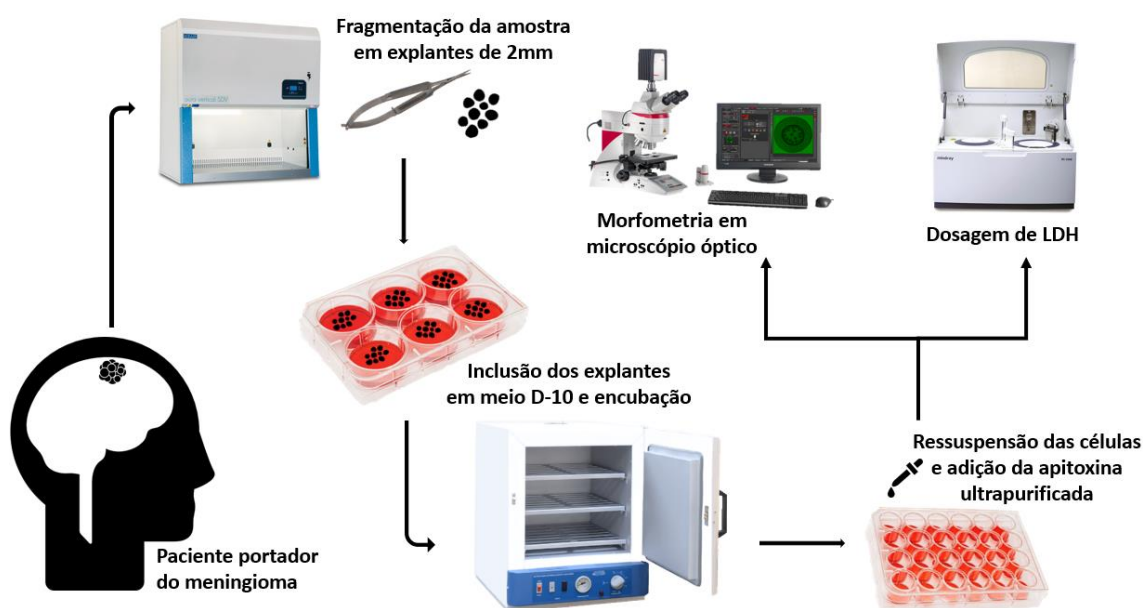


Figura 7. Diagrama esquemático deste estudo. No transoperatório de ressecção cirúrgica de massa suspeita de meningioma, uma pequena amostra foi removida para dar origem ao cultivo primário. A amostra foi fragmentada em explantes de 2mm e posteriormente transferida para placas de 6 poços contendo meio D-10. Após incubação em estufa e adequada confluência celular, as células foram ressuspensas e transferidas para placas de 24 poços com diferentes concentrações de apitoxina ultrapurificada. Para avaliar o potencial neoplásico, foram realizadas análises morfométricas e bioquímicas, através da mensuração de área e perímetro celular e dosagem de LDH, respectivamente.

5. Resultados

5.1. Dosagem de Lactato desidrogenase (LDH)

A avaliação da liberação de lactato desidrogenase (LDH) demonstrou aumento progressivo dos valores médios em função da concentração de apitoxina. O grupo controle apresentou valor médio de LDH de 60,07 U/L, enquanto as concentrações de 1 μ g (64,17 U/L) e 5 μ g (76,64 U/L) exibiram elevação discreta em relação ao controle.

Nas concentrações intermediárias e elevadas, observou-se aumento mais acentuado da liberação de LDH, com valores médios de 109,06 U/L para 10 μ g, 170,34 U/L para 25 μ g e 184,73 U/L para 50 μ g, evidenciando um efeito dependente da dose. As maiores concentrações testadas apresentaram os níveis mais elevados de LDH.

De forma geral, os resultados indicam que a apitoxina promove citotoxicidade progressiva em células de meningioma, refletida pelo aumento de até 183,57% e 207,52% da liberação de LDH nas concentrações de 25 μ g e 50 μ g, respectivamente (Figura 8).

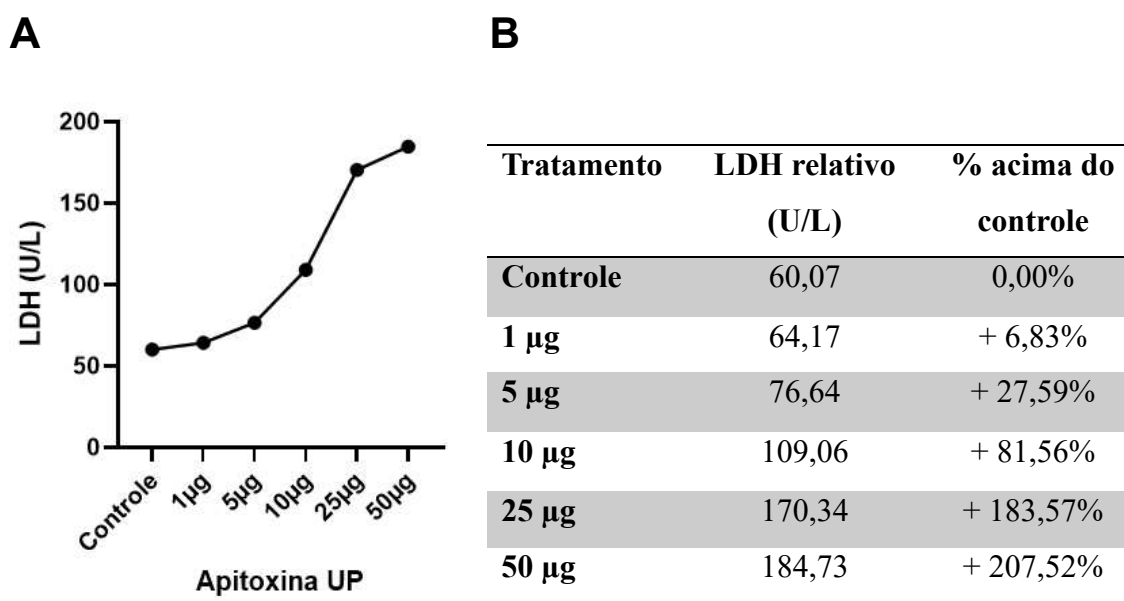


Figura 8. Citotoxicidade da apitoxina ultrapurificada (*Apis mellifera*) em células de meningioma *in vitro* após 24 horas. Aumento exponencial da dosagem de LDH nos tratamentos, com efeito dose dependente (A), sustentada pelo aumento de até 207,52% da dosagem de LDH na concentração de 50 μ g, quando comparada ao grupo controle (B).

5.2. Morfometria celular

A análise de variância (ANOVA) evidenciou efeito altamente significativo dos tratamentos para a variável área celular ($F = 153,037$; $p < 0,0001$) e para a variável perímetro celular ($F = 479,454$; $p < 0,0001$), indicando que as diferentes concentrações de apitoxina influenciaram significativamente (Figura 9). O fator repetição não apresentou efeito estatisticamente significativo ($p = 0,2428$ para área e $p = 0,5592$ para perímetro), indicando homogeneidade entre as repetições experimentais. O coeficiente de variação foi de 26,54% na variável área e 14,25% na variável perímetro.

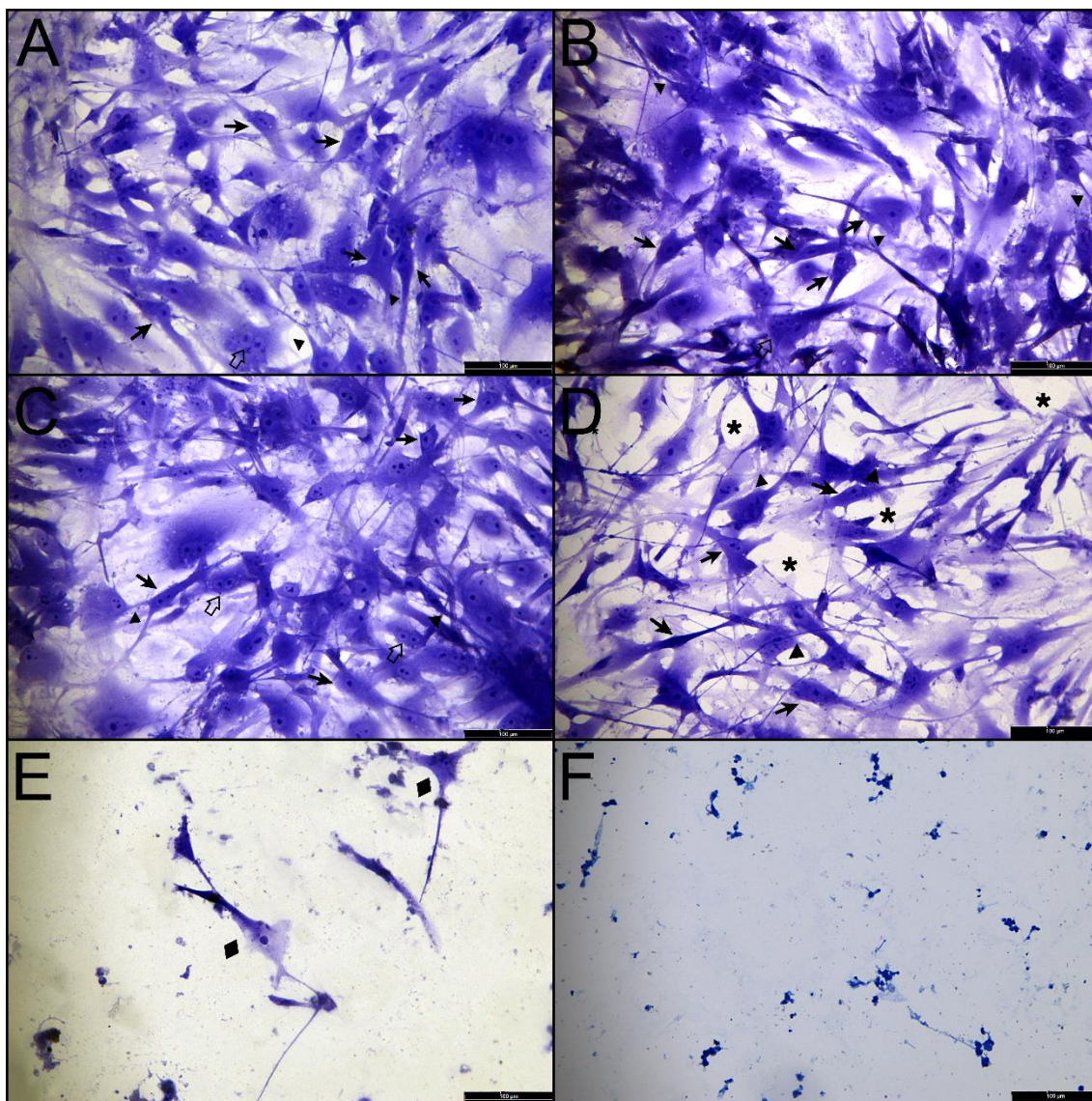


Figura 9. Alterações morfológicas e citotóxicas causadas pela apitoxina ultrapurificada (*Apis mellifera*) em células de meningioma *in vitro* após 24 horas. Observa-se marcada morte das células neoplásicas e redução da densidade celular nas concentrações de 25µg (E) e 50µg (F), quando comparadas ao grupo controle (A) e concentrações de 1µg (B), 5µg (C) e 10µg (D). Setas sólidas indicam células fusiformes compatíveis com células meningoteliais neoplásicas. Setas vazadas indicam células binucleadas, um dos critérios de malignidade. Cabeças de seta indicam prolongamentos celulares. Losangos indicam materiais celulares residuais. Asteriscos indicam

aumento do espaço entre as células, em decorrência da morte celular e consequente redução da densidade celular. Coloração de Ziehl-Neelsen (azul de toluidina). Aumento de 20x com escala de 100µm.

A média geral da área celular foi de 534,431µm², considerando 96 observações. O teste de comparações múltiplas de Bonferroni demonstrou redução significativa da área celular nas concentrações intermediárias de apitoxina (1, 5 e 10 µg) em comparação ao grupo controle. O grupo controle apresentou a maior área média celular (1022,431µm²), seguido pela concentração de 1 µg (891,935 µm²), ambos estatisticamente superiores às concentrações de 5 e 10 µg.

A média geral do perímetro celular foi de 92,597µm, com 96 observações analisadas. O teste de Bonferroni evidenciou uma redução progressiva do perímetro celular com o aumento da concentração de apitoxina. O grupo controle apresentou o maior valor médio de perímetro (150,963µm), diferindo significativamente das concentrações de 1, 5 e 10 µg.

As concentrações de 25 e 50µg apresentaram valores praticamente nulos de área e perímetro celular, diferindo significativamente de todos os demais grupos e indicando severa alteração morfológica celular (Figura 10).

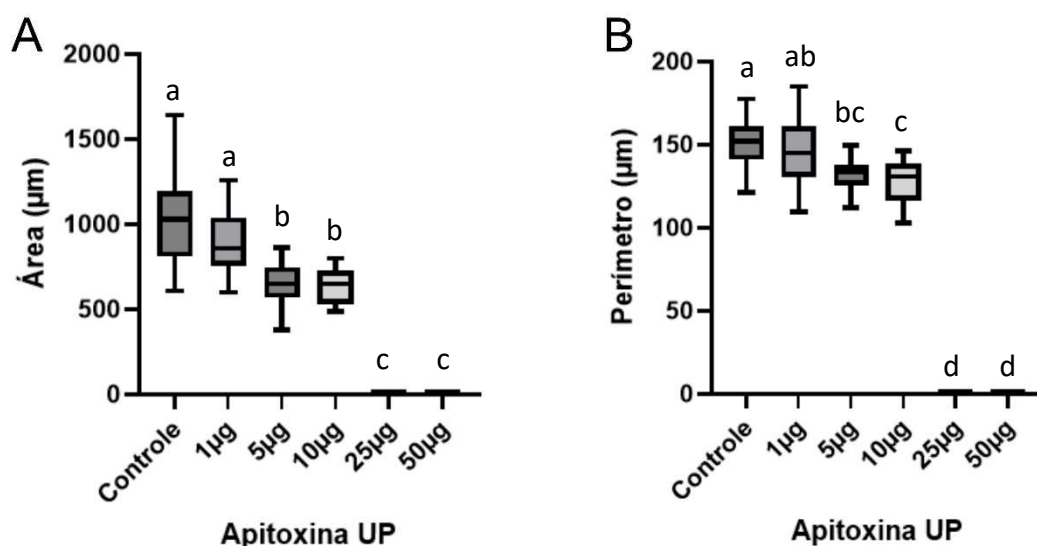


Figura 10. Variáveis morfométricas como parâmetro de citotoxicidade da apitoxina ultrapurificada (*Apis mellifera*) em células de meningioma *in vitro*. (A) Área celular e (B) perímetro celular. Observa-se redução progressiva da área e do perímetro celular com o aumento da concentração de apitoxina, com valores drasticamente reduzidos nas maiores concentrações. As diferenças entre os grupos foram avaliadas por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Bonferroni ($p < 0,05$). Letras distintas (a, b, c, d) indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos.

A análise integrada dos parâmetros morfométricos e da liberação de LDH evidenciou uma relação inversamente proporcional entre a integridade estrutural celular e a citotoxicidade induzida pela apitoxina. Conforme ilustrado na Figura 11, observou-se que a redução progressiva da área celular foi acompanhada por aumento proporcional da liberação de LDH no meio extracelular, indicando comprometimento de membrana e morte celular. Essa convergência de achados reforça que as alterações morfológicas observadas não representam apenas retração celular isolada, mas refletem efetivo dano citotóxico de maneira dose-dependente.

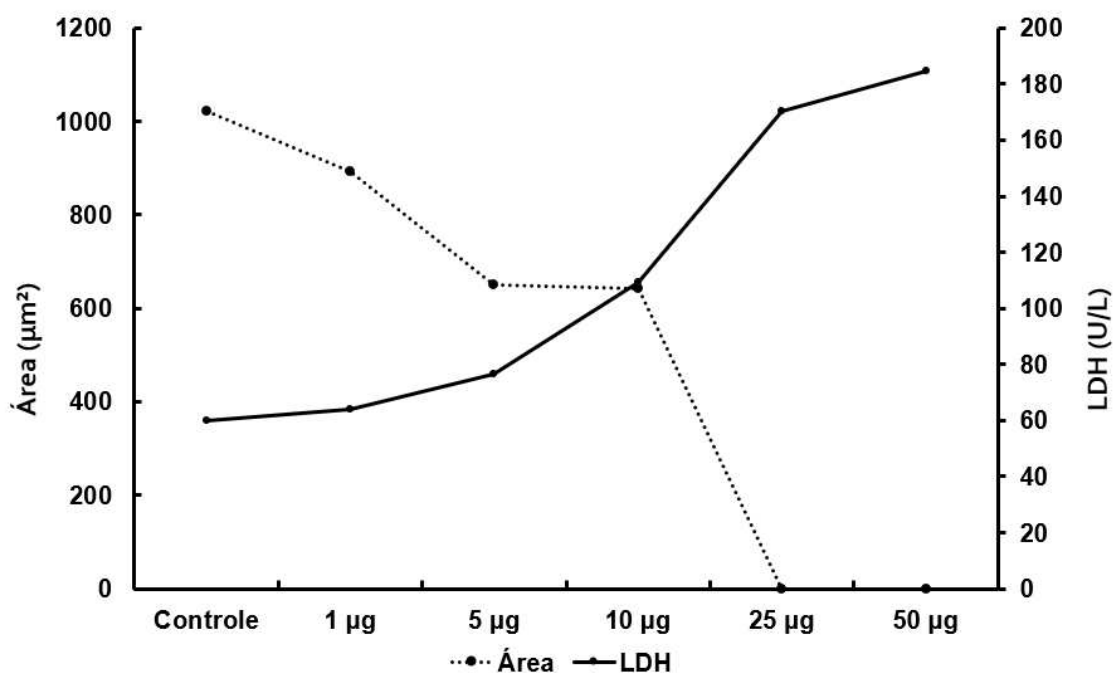


Figura 6. Relação entre a área celular (μm^2) e a liberação de LDH após 24 horas de tratamento com apitoxina ultrapurificada (*Apis mellifera*) em células de meningioma *in vitro*. Observa-se redução progressiva da área celular (μm^2) concomitante ao aumento da liberação de lactato desidrogenase (LDH), indicando efeito citotóxico dose-dependente. A diminuição da área celular reflete alterações morfológicas associadas à perda de viabilidade, enquanto o incremento nos níveis de LDH confirma o comprometimento de membrana celular.

6. Discussão

Os resultados do presente estudo demonstram que a apitoxina ultrapurificada (*Apis mellifera*) exerce efeito citotóxico evidente e dependente da concentração sobre células de meningioma *in vitro*, sustentado de forma convergente por dados bioquímicos (liberação de LDH), morfométricos (área e perímetro celular) e morfológicos, por meio das fotomicrografias obtidas em microscopia óptica após 24 horas de tratamento. A integração desses parâmetros fortalece a interpretação dos achados e confirma a consistência do efeito antineoplásico observado.

A liberação de LDH aumentou progressivamente conforme o aumento da concentração de apitoxina, atingindo valores máximos nos grupos tratados com 25µg e 50µg. Esse padrão é característico de perda de integridade da membrana plasmática, sendo amplamente utilizado como marcador de citotoxicidade celular, especialmente em processos necróticos ou em estágios tardios de apoptose (Korzeniewski & Callewaert, 1983). A elevação acentuada do LDH após 24 horas sugere que o dano celular induzido pela apitoxina é rápido e intenso, culminando em ruptura de membrana e extravasamento enzimático.

Chahla *et al.* (2024) avaliaram o efeito citotóxico da apitoxina (*Apis mellifera syriaca*) em células de glioblastoma humano (U87) após 24 horas de tratamentos com concentrações distintas. Através do ensaio de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), os autores comprovaram quase 95% de mortalidade das células tratadas com valores maiores ou iguais a 25µg/mL de apitoxina, quando comparadas ao controle. Somando a este resultado, a dosagem de LDH realizada também indicou efeito citotóxico significativo a partir de 12,5µg/mL de apitoxina. Os resultados obtidos pelos dois testes revelaram o potente efeito citotóxico da apitoxina, corroborando com os encontrados no presente estudo, inclusive no que diz respeito às concentrações citotóxicas.

Dados similares foram encontrados em outro estudo que avaliou o efeito antitumoral da apitoxina em células cancerígenas de colo retal HT-29 (Sagui *et al.*, 2022). Ensaios de MTT e análises por citometria de fluxo foram realizados para avaliar, respectivamente, o efeito do veneno sobre a viabilidade celular e a indução de apoptose. O valor de IC₅₀ da apitoxina para as células HT-29 após 24 h foi de 80 µg/mL, sem

apresentar efeito tóxico sobre fibroblastos normais NIH/3T3. Além disso, também induziu o acúmulo de células na fase Sub-G1 do ciclo celular e promoveu apoptose e necrose nas células HT-29. Apesar do efeito citotóxico também encontrado, o valor de IC50 mais de 3 vezes acima do encontrado no presente estudo, sugere diferenças na composição do produto utilizado. O processamento de ultra purificação da apitoxina aqui utilizada, pode ter como consequência produtos mais concentrados que requeiram doses menores para obtenção dos mesmos resultados.

Adicionalmente, autores avaliaram os efeitos citotóxicos da apitoxina proveniente de abelhas *Apis mellifera* oriundas de diferentes províncias da Turquia, em células de adenocarcinoma colorretal Caco-2 e glioblastoma multiforme T98G (Pehlivan e Yarsan, 2025). Através de ensaios de HPLC, MTT, vermelho neutro (NR) e LDH, os autores encontraram composições químicas e efeitos citotóxicos distintos entre as amostras de diferentes regiões. As amostras que obtiveram maiores concentrações de melitina e fosfolipase A2, demonstraram IC50 menores (12,42 e 8,19µg/mL para Caco-2 e 5,85 e 5,04µg/mL para T98G). Estes resultados sugerem que melitina e fosfolipase A2 podem ser os principais ativos com potencial antineoplásico presentes na apitoxina, além de demonstrar que diferentes tipos celulares apresentam respostas distintas ao mesmo tratamento.

A melitina, principal componente da apitoxina, é um peptídeo anfipático altamente citotóxico, capaz de se inserir na bicamada lipídica das membranas celulares, formando poros transmembranares e promovendo aumento abrupto da permeabilidade celular (Raghuraman & Chattopadhyay, 2007; Ulmschneider & Ulmschneider, 2024). Além disso, a presença de fosfolipase A₂ no veneno de abelha contribui para a degradação de fosfolipídios de membrana, potencializando a lise celular (Oršolić *et al.*, 2007; Wehbe *et al.*, 2019).

Estudos demonstram que a citotoxicidade induzida pela apitoxina pode envolver múltiplas vias de morte celular, incluindo apoptose, necrose e necroptose, dependendo da concentração, do tempo de exposição e do tipo celular (Putz *et al.*, 2006; Zarrinnahad *et al.*, 2018). Em concentrações mais baixas, a melitina tem sido associada à ativação de vias apoptóticas mediadas por disfunção mitocondrial e ativação de caspases, enquanto concentrações elevadas tendem a induzir dano direto à membrana, culminando em necrose celular rápida, o que está de acordo com os elevados níveis de LDH observados no presente estudo.

Esses achados bioquímicos são coerentes com os dados morfométricos obtidos. A redução significativa da área e do perímetro celular, especialmente nas concentrações intermediárias e elevadas, indica desorganização estrutural progressiva, com colapso da morfologia celular. Alterações desse tipo são frequentemente descritas em estudos de citotoxicidade induzida por peptídeos anfipáticos, como a melitina (Raghuraman & Chattopadhyay, 2007; Duffy *et al.*, 2020).

A análise das fotomicrografias reforça de forma visual e inequívoca esses achados. Nas concentrações mais elevadas (25 e 50 μg), observou-se redução drástica da densidade celular, com ausência completa de células aderidas após 24 horas de tratamento. Esse fenômeno sugere não apenas alterações morfológicas, mas morte celular extensa, possivelmente acompanhada de perda de adesão ao substrato e lise celular. Em estudos *in vitro*, a diminuição abrupta da densidade celular associada à ausência de células viáveis é considerada indicativa de citotoxicidade severa (Boumazza-Bourioune *et al.*, 2024, Figueirôa *et al.*, 2025).

Embora a maioria dos estudos disponíveis tenha sido conduzida em linhagens de glioblastoma, melanoma, câncer de mama e pulmão, resultados semelhantes têm sido descritos quanto ao padrão dose-dependente de citotoxicidade (Liu *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2019; Chang *et al.*, 2022; Chahla *et al.*, 2024). Considerando que os meningiomas são tumores derivados das meninges e apresentam comportamento biológico distinto, os dados aqui apresentados ampliam o conhecimento sobre a ação da apitoxina em tumores do sistema nervoso central menos explorados na literatura.

A associação entre aumento de LDH, colapso morfométrico e desaparecimento da densidade celular observada nas fotomicrografias reforça a robustez dos resultados e sugere que a apitoxina apresenta potencial antineoplásico significativo contra células de meningioma *in vitro*. No entanto, é importante destacar que a elevada citotoxicidade observada em concentrações mais altas também levanta preocupações quanto à seletividade e segurança do uso terapêutico, aspectos amplamente discutidos na literatura recente (Yoo & Lee, 2022).

Dessa forma, embora os achados reforcem o potencial da apitoxina como fonte de compostos bioativos com atividade antitumoral, estudos adicionais são necessários para elucidar com maior precisão os mecanismos moleculares envolvidos, bem como para avaliar estratégias que permitam aumentar a seletividade tumoral e reduzir efeitos

citotóxicos sistêmicos, como sistemas de liberação controlada ou conjugação a vetores específicos.

7. Conclusão

Os resultados do presente estudo demonstram que a apitoxina ultrapurificada de *Apis mellifera* apresenta efeito citotóxico significativo e dependente da concentração sobre células de meningioma humano *in vitro* após 24 horas de exposição. A elevação progressiva da liberação de LDH, associada à redução acentuada da área e do perímetro celular, bem como à drástica diminuição da densidade celular nas maiores concentrações, evidencia perda de integridade da membrana plasmática e colapso estrutural celular. A convergência entre os achados bioquímicos, morfométricos e morfológicos reforça a robustez dos dados e indica que a apitoxina exerce ação antineoplásica intensa nesse modelo experimental.

Esses achados não apenas ampliam o conhecimento acerca dos mecanismos biológicos desse composto natural, como também apontam para sua possível aplicação futura como alternativa ou terapia adjuvante na oncologia. Nesse contexto, a pesquisa consolida sua contribuição para o ODS 3 (Saúde e Bem-Estar), ao fomentar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas baseadas em evidências científicas, e para o ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ao valorizar o uso racional e sustentável de um produto natural com potencial biomédico. Assim, o estudo fortalece a interface entre inovação científica, responsabilidade ambiental e promoção da saúde, destacando a relevância de investigações que integrem eficácia terapêutica e sustentabilidade.

8. Referências

- ABDELA, N.; JILO, K. Bee venom and its therapeutic values: a review. **Advances in Life Science and Technology**, v. 44, p. 18–22, 2016.
- ALI, M. Studies on bee venom and its medical uses. **International Journal of Advanced Research in Technology**, v. 1, p. 69–83, 2012.
- ALIYAZICIOGLU, R. Therapeutic effects of bee venom. **Chemical Science International Journal**, p. 1–5, 2019.
- APRA, C.; PEYRE, M.; KALAMARIDES, M. Current treatment options for meningioma. **Expert Review of Neurotherapeutics**, v. 18, n. 3, p. 241–249, 2018.
- AUFSCHNAITER, A.; KOHLER, V.; KHALIFA, S.; *et al.* Apitoxin and its components against cancer, neurodegeneration and rheumatoid arthritis: limitations and possibilities. **Toxins**, v. 12, art. 66, 2020.
- AZAM, M. N. K.; AHMED, M. N.; BISWAS, S.; *et al.* A review on bioactivities of honey bee venom. **Annual Research & Review in Biology**, p. 1–13, 2018.
- BABU, S.; UPPIN, S. G.; UPPIN, M. S.; *et al.* Meningiomas: correlation of Ki67 with histological grade. **Neurology India**, v. 59, n. 2, p. 204–207, 2011.
- BADAWI, J. K. Bee venom components as therapeutic tools against prostate cancer. **Toxins**, v. 13, art. 337, 2021.
- BAEK, H.; PARK, S.-Y.; KU, S. J.; *et al.* Bee venom phospholipase A2 induces regulatory T cell populations by suppressing apoptotic signaling pathway. **Toxins**, v. 12, art. 198, 2020.
- BALDI, I.; ENGELHARDT, J.; BONNET, C.; BAUCHET, L.; BERTEAUD, E.; GRÜBER, A.; LOISEAU, H. Epidemiology of meningiomas. **Neurochirurgie**, v. 64, p. 5–14, 2018.
- BARACCHI, D.; FRANCESE, S.; TURILLAZZI, S. Beyond the antipredatory defence: honey bee venom function as a component of social immunity. **Toxicon**, v. 58, p. 550–557, 2011.

BASA, B.; BELAY, W.; TILAHUN, A.; *et al.* Review on medicinal value of honeybee products: apitherapy. **Advances in Biological Research**, v. 10, p. 236–247, 2016.

BOUMAZA-BOURIOUNE, S.; BELKEBIR, A.; NEGGAZI, S.; *et al.* Morphological and morphometric analysis, apoptosis and oxidative stress study in Hep-2 cells treated by resveratrol or quercetine. **International Journal of Morphology**, v. 42, n. 4, p. 1039–1048, 2024.

BUERKI, R. A.; HORBINSKI, C. M.; KRUSER, T.; HOROWITZ, P. M.; JAMES, C. D.; LUKAS, R. V. An overview of meningiomas. **Future Oncology**, v. 14, p. 2161–2177, 2018.

CHAHLA, C.; RIMA, M.; MOUAWAD, C.; ROUFAYEL, R.; KOVACIC, H.; EL OBEID, D.; SABATIER, J.-M.; LUIS, J.; FAJLOUN, Z.; EL-WALY, B. Effect of *Apis mellifera syriaca* bee venom on glioblastoma cancer: *in vitro* and *in vivo* studies. **Molecules**, v. 29, art. 3950, 2024.

CHANG, S.-N.; KIM, S.-H.; KIM, H. J.; JEONG, Y. J.; LEE, K. C. *In vitro* and *in vivo* investigation of the radiation-sensitizing effects of melittin in breast cancer cells. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 28, art. 8, 2022.

CHEN, Q.; LIN, W.; YIN, Z.; ZOU, Y.; LIANG, S.; RUAN, S.; CHEN, P.; LI, S.; SHU, Q.; LING, C.; *et al.* Melittin inhibits hypoxia-induced vasculogenic mimicry formation and epithelial-mesenchymal transition through suppression of HIF-1/Akt pathway in liver cancer. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2019, art. 9602935, 2019.

DELGADO-LÓPEZ, P. D.; CUBO-DELGADO, E.; GONZÁLEZ-BERNAL, J. J.; MARTÍN-ALONSO, J. A practical overview on the molecular biology of meningioma. **Current Neurology and Neuroscience Reports**, v. 20, art. 62, 2020.

DUFFY, C.; SOROLLA, A.; WANG, E.; GOLDEN, E.; WOODWARD, E.; DAVERN, K.; HO, D.; JOHNSTONE, E.; PFLEGER, K.; REDFERN, A.; IYER, K. S.; BAER, B.; BLANCAFORT, P. Honeybee venom and melittin suppress growth factor receptor activation in HER2-enriched and triple-negative breast cancer. **NPJ Precision Oncology**, v. 4, art. 24, 2020.

EL-SEEDI, H.; EL-WAHED, A.; YOSRI, N.; *et al.* Antimicrobial properties of *Apis mellifera*'s bee venom. **Toxins**, v. 12, art. 451, 2020.

ERKOC, P.; VON REUMONT, B. M.; LÜDDECKE, T.; HENKE, M.; ULSHÖFER, T.; VILCINSKAS, A.; FÜRST, R.; SCHIFFMANN, S. The pharmacological potential of novel melittin variants from the honeybee and solitary bees against inflammation and cancer. **Toxins**, v. 14, art. 818, 2022.

FIGUEIRÔA, L. V. A.; TEÓFILO, T. S.; BATISTA, J. S.; RAMOS, A. C. M. O.; LEMOS, G. C.; GOMES JUNIOR, S. V.; LIMA, G. B. S.; FEITOSA, J. L.; SILVA, A. B.; SOUZA, L. N.; *et al.* Neurotoxic effects of bisphenol (BPA): mini-reviews. **Toxics**, v. 13, art. 888, 2025.

FITZGERALD, K. T.; FLOOD, A. A. Hymenoptera stings. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 21, p. 194–204, 2006.

FRANGIEH, J.; SALMA, Y.; HADDAD, K.; *et al.* First characterization of the venom from *Apis mellifera syriaca*, a honey bee from the Middle East region. **Toxins**, v. 11, 2019.

GAJSKI, G.; DOMIJAN, A. M.; ŽEGURA, B.; ŠTERN, A.; GERIĆ, M.; NOVAK JOVANOVIĆ, I.; VRHOVAC, I.; MADUNIĆ, J.; BRELJAK, D.; FILIPIČ, M.; *et al.* Melittin-induced cytogenetic damage, oxidative stress and changes in gene expression in human peripheral blood lymphocytes. **Toxicon**, v. 110, p. 56–67, 2016.

GARAJ-VRHOVAC, V.; GAJSKI, G. Radioprotection of Wistar rat lymphocytes against microwave radiation mediated by bee venom. **Zagreb: Institute for Medical Research and Occupational Health**, 2011.

GOLDBRUNNER, R.; MINNITI, G.; PREUSSER, M.; JENKINSON, M. D.; SALLABANDA, K.; HOUDART, E.; VON DEIMLING, A.; STAVRINOU, P.; LEFRANC, F.; LUND-JOHANSEN, M.; *et al.* EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. **The Lancet Oncology**, v. 17, p. e383–e391, 2016.

HAN, S. M.; *et al.* Antinociceptive effects of bee venom acupuncture in animal pain models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, n. 2, p. 319–326, 2011.

HANNA JR., C.; WILLMAN, M.; COLE, D.; MEHKRI, Y.; LIU, S.; WILLMAN, J.; LUCKE-WOLD, B. Review of meningioma diagnosis and management. **Egyptian Journal of Neurosurgery**, v. 38, art. 16, 2023.

HEMION, C.; LI, J.; KOHLER, C.; SCHOLL, H. P. N.; MEYER, P.; KILLER, H. E.; NEUTZNER, A. Clearance of neurotoxic peptides and proteins by meningotheelial cells. **Experimental Cell Research**, v. 396, art. 112322, 2020.

HIDER, R. C. Honeybee venom: a rich source of pharmacologically active peptides. **Endeavour**, v. 12, p. 60–65, 1988.

HOSSEN, M.; GAN, S. H.; KHALIL, M. Melittin, a potential natural toxin of crude bee venom: probable future arsenal in the treatment of diabetes mellitus. **Journal of Chemistry**, 2017.

HUANG, J. Y.; PENG, S. F.; CHUEH, F. S.; CHEN, P. Y.; HUANG, Y. P.; HUANG, W. W.; CHUNG, J. G. Melittin suppresses epithelial–mesenchymal transition and metastasis in human gastric cancer AGS cells via regulating Wnt/BMP-associated pathways. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 85, p. 2250–2262, 2021.

HUANG, R. Y.; BI, W. L.; GRIFFITH, B.; KAUFMANN, T. J.; LA FOUGÈRE, C.; SCHMIDT, N. O.; TONN, J. C.; VOGELBAUM, M. A.; WEN, P. Y.; ALDAPE, K.; *et al.* Imaging and diagnostic advances for intracranial meningiomas. **Neuro-Oncology**, v. 21, p. i44–i61, 2019.

HUNTOON, K.; TOLAND, A. M. S.; DAHIYA, S. Meningioma: a review of clinicopathological and molecular aspects. **Frontiers in Oncology**, v. 10, art. 579599, 2020.

JOHNSON, M. D.; ABU-FARSAKH, S. Clinicopathologic features of incidental meningiomas: a review of the literature and the University of Rochester autopsy experience. **Clinical Neuropathology**, v. 38, p. 118–121, 2019.

KARIMZADEH, L.; NABIUNI, M.; KOUCHESFEHANI, H. M.; ADHAM, H.; BAGHERI, A.; SHEIKHOLESAMI, A. Effect of bee venom on IL-6, COX-2 and VEGF levels in polycystic ovarian syndrome induced in Wistar rats by estradiol valerate. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 19, art. 32, 2013.

KARSY, M.; GUAN, J.; COHEN, A.; COLMAN, H.; JENSEN, R. L. Medical management of meningiomas: current status, failed treatments, and promising horizons. **Neurosurgery Clinics of North America**, v. 27, p. 249–260, 2016.

- KIM, A.; LEE, S. Y.; KIM, B. Y.; *et al.* Elimination of teratogenic human induced pluripotent stem cells by bee venom via calcium-calpain pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, 2020.
- KIM, D. H.; LEE, H. W.; PARK, H. W.; LEE, H. W.; CHUN, K. H. Bee venom inhibits the proliferation and migration of cervical cancer cells in an HPV E6/E7-dependent manner. **BMB Reports**, v. 53, p. 419, 2020.
- KOMI, D. E. A.; SHAFAGHAT, F.; ZWIENER, R. D. Immunology of bee venom. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 54, p. 386–396, 2018.
- KORHONEN, K.; SALMINEN, T.; RAITANEN, J.; AUVINEN, A.; ISOLA, J.; HAAPASALO, H. Female predominance in meningiomas cannot be explained by differences in progesterone, estrogen, or androgen receptor expression. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 80, p. 1–7, 2006.
- KORZENIEWSKI, C.; CALLEWAERT, D. M. An enzyme-release assay for natural cytotoxicity. **Journal of Immunological Methods**, v. 64, n. 3, p. 313–320, 1983.
- LEE, E. J.; PARK, J. H.; PARK, E. S.; KIM, J. H. “Wait-and-see” strategies for newly diagnosed intracranial meningiomas based on the risk of future observation failure. **World Neurosurgery**, v. 107, p. 604–611, 2017.
- LEE, H. L.; PARK, S. H.; KIM, T. M.; JUNG, Y. Y.; PARK, M. H.; OH, S. H.; YUN, H. S.; JUN, H. O.; YOO, H. S.; HAN, S. B.; LEE, U. S.; YOON, J. H.; SONG, M. J.; HONG, J. T. Bee venom inhibits growth of human cervical tumors in mice. **Oncotarget**, v. 6, n. 9, 2014.
- LI, J.; FANG, L.; KILLER, H. E.; FLAMMER, J.; MEYER, P.; NEUTZNER, A. Meningothelial cells as part of the central nervous system host defence. **Biology of the Cell**, v. 105, p. 304–315, 2013.
- LI, J.; FANG, L.; MEYER, P.; KILLER, H. E.; FLAMMER, J.; NEUTZNER, A. Anti-inflammatory response following uptake of apoptotic bodies by meningothelial cells. **Journal of Neuroinflammation**, v. 11, art. 35, 2014.
- LIU, N.; SONG, S. Y.; JIANG, J. B.; WANG, T. J.; YAN, C. X. The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in meningioma: a systematic review with meta-analysis. **Medicine**, v. 99, art. e18644, 2020.

- LIU, X.; CHEN, D.; XIE, L.; ZHANG, R. Effect of honey bee venom on proliferation of K1735M2 mouse melanoma cells *in vitro* and growth of murine B16 melanomas *in vivo*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 54, p. 1083–1089, 2002.
- LOUIS, D. N.; OHGAKI, H.; WIESTLER, O. D.; CAVENEE, W. K. WHO classification of tumours of the central nervous system. 4. ed. Lyon: **International Agency for Research on Cancer**, 2016. ISBN 978-92-832-4492-9.
- LUO, Y.; XU, C.-M.; LUO, B.; LIANG, G.; ZHANG, Q. Melittin treatment prevents colorectal cancer from progressing in mice through ER stress-mediated apoptosis. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 75, p. 645–654, 2023.
- LYNDON, D.; LANSLEY, J. A.; EVANSON, J.; KRISHNAN, A. S. Dural masses: meningiomas and their mimics. **Insights into Imaging**, v. 10, art. 11, 2019.
- MAGGIO, I.; FRANCESCHI, E.; TOSONI, A.; NUNNO, V. D.; GATTO, L.; LODI, R.; BRANDES, A. A. Meningioma: not always a benign tumor. A review of advances in the treatment of meningiomas. **CNS Oncology**, v. 10, n. 2, art. CNS72, 2021.
- MAGILL, S. T.; YOUNG, J. S.; CHAE, R.; AGHI, M. K.; THEODOSOPOULOS, P. V.; MCDERMOTT, M. W. Relationship between tumor location, size, and WHO grade in meningioma. **Neurosurgical Focus**, v. 44, art. E4, 2018.
- MENGER, R.; CONNOR, D. E. Jr.; CHAN, A. Y.; JAIN, G.; NANDA, A. Degree of resection and Ki-67 labeling index for recurring meningiomas. **Cureus**, v. 9, art. e1820, 2017.
- MENKE, J. R.; RALEIGH, D. R.; GOWN, A. M.; THOMAS, S.; PERRY, A.; TIHAN, T. Somatostatin receptor 2a is a more sensitive diagnostic marker of meningioma than epithelial membrane antigen. **Acta Neuropathologica**, v. 130, n. 3, p. 441–443, 2015.
- MORENO, M.; GIRALT, E. Three valuable peptides from bee and wasp venoms for therapeutic and biotechnological use: melittin, apamin and mastoparan. **Toxins**, v. 7, p. 1126–1150, 2015.
- NAGAI YAMAKI, V.; SOUZA GODOY, L. F.; ALENCAR BANDEIRA, G.; TAVARES LUCATO, L.; CORREA LORDELO, G.; FONTOURA SOLLA, D. J.; SANTANA NEVILLE, I.; JACOBSEN TEIXEIRA, M.; SILVA PAIVA, W. Dural-based lesions: is it a meningioma? **Neuroradiology**, 2021.

- NAINU, F.; MASYITA, A.; BAHAR, M. A.; *et al.* Pharmaceutical prospects of bee products: special focus on anticancer, antibacterial, antiviral, and antiparasitic properties. **Antibiotics**, v. 10, art. 822, 2021.
- NAKASU, S.; HIRANO, A.; SHIMURA, T.; LLENA, J. F. Incidental meningiomas in autopsy study. **Surgical Neurology**, v. 27, p. 319–322, 1987.
- NOCELLI, R. C. F. Glândula de veneno. In: CRUZ-LANDIM, C.; ABDALLA, F. C. (org.). Glândulas exócrinas das abelhas. Ribeirão Preto: **FUNPEC-RP**, 2002. p. 151–163.
- NOWOSIELSKI, M.; GALLDIKS, N.; IGLSEDER, S.; KICKINGEREDER, P.; VON DEIMLING, A.; BENDSZUS, M.; WICK, W.; SAHM, F. Diagnostic challenges in meningioma. **Neuro-Oncology**, v. 19, p. 1588–1598, 2017.
- ORŠOLIĆ, N.; *et al.* Bee venom protects mice against radiation-induced damage. **Journal of Radiation Research**, v. 48, n. 3, p. 245–252, 2007.
- OSTROM, Q. T.; CIOFFI, G.; GITTLEMAN, H.; PATIL, N.; WAITE, K.; KRUCHKO, C.; BARNHOLTZ-SLOAN, J. S. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2012–2016. **Neuro-Oncology**, v. 21, p. v1–v100, 2019.
- OSTROM, Q. T.; CIOFFI, G.; WAITE, K.; KRUCHKO, C.; BARNHOLTZ-SLOAN, J. S. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2014–2018. **Neuro-Oncology**, v. 23, n. 12 (supl. 2), p. iii1–iii105, 2021.
- PANDEY, P.; KHAN, F.; KHAN, M. A.; KUMAR, R.; UPADHYAY, T. K. An updated review summarizing the anticancer efficacy of melittin from bee venom in several models of human cancers. **Nutrients**, v. 15, art. 3111, 2023.
- PEHLIVAN, S.; YARSAN, E. *In vitro* investigation of the cytotoxic effects of various honeybee venoms on Caco-2 and T98G cells. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 26, n. 2, ser. 91, p. 137–144, 2025.
- PREUSSER, M.; BRASTIANOS, P. K.; MAWRIN, C. Advances in meningioma genetics: novel therapeutic opportunities. **Nature Reviews Neurology**, v. 14, n. 2, p. 106–115, 2018.

PUCCA, M. B.; CERNI, F. A.; OLIVEIRA, I. S.; *et al.* Bee updated: current knowledge on bee venom and bee envenoming therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 10, art. 2090, 2019.

PUTZ, T.; RAMONER, R.; GANDER, H.; RAHM, A.; BARTSCH, G.; THURNHER, M. Antitumor action and immune activation through cooperation of bee venom secretory phospholipase A2 and phosphatidylinositol-(3,4)-bisphosphate. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 55, p. 1374–1383, 2006.

RADY, I.; SIDDIQUI, I. A.; RADY, M.; *et al.* Melittin, a major peptide component of bee venom, and its conjugates in cancer therapy. **Cancer Letters**, v. 402, p. 16–31, 2017.

RAGHURAMAN, H.; CHATTOPADHYAY, A. Melittin: a membrane-active peptide with diverse functions. **Bioscience Reports**, v. 27, n. 4–5, p. 189–223, 2007.

SAGHI, H.; MIRZAVI, F.; AFSHARI, A. R.; *et al.* Bee venom induces anti-tumor effects in HT-29 colon cancer cells through regulation of cell proliferation and apoptosis. **Biologia**, v. 77, p. 3595–3602, 2022.

SAHM, F.; SCHRIMPF, D.; OLAR, A.; *et al.* TERT promoter mutations and risk of recurrence in meningioma. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 108, art. djv377, 2015.

SAMANCI, T.; KEKEÇOĞLU, M. Comparison of commercial and Anatolian bee venom in terms of chemical composition. **U Bee Journal**, v. 19, 2019.

SENEL, E.; DEMIR, E. Bibliometric analysis of apitherapy in complementary medicine literature between 1980 and 2016. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, n. 31, p. 47–52, 2018.

SPIEGL-KREINECKER, S.; LÖTSCH, D.; NEUMAYER, K.; *et al.* TERT promoter mutations are associated with poor prognosis and cell immortalization in meningioma. **Neuro-Oncology**, v. 20, p. 1584–1593, 2018.

ŠURAN, J.; CEPANEC, I.; MAŠEK, T.; *et al.* Nonaqueous polyethylene glycol as a safer alternative to ethanolic propolis extracts with comparable antioxidant and antimicrobial activity. **Antioxidants**, v. 10, art. 978, 2021.

- UDDIN, M. B.; LEE, B. H.; NIKAPITIYA, C.; *et al.* Inhibitory effects of bee venom and its components against viruses *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Microbiology**, v. 54, p. 853–866, 2016.
- ULLAH, A.; ALDAKHEEL, F. M.; ANJUM, S. I.; RAZA, G.; KHAN, S. A.; GAJGER, I. T. Pharmacological properties and therapeutic potential of honey bee venom. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 31, p. 96–109, 2023.
- ULMSCHNEIDER, J. P.; ULMSCHNEIDER, M. B. Melittin can permeabilize membranes via large transient pores. **Nature Communications**, v. 15, art. 7281, 2024.
- UMANSKY, F.; SHOSHAN, Y.; ROSENTHAL, G.; FRAIFELD, S.; SPEKTOR, S. Radiation-induced meningioma. **Neurosurgical Focus**, v. 24, art. E7, 2008.
- VAROL, A.; SEZEN, S.; EVCIMEN, D.; *et al.* Cellular targets and molecular activity mechanisms of bee venom in cancer: recent trends and developments. **Toxin Reviews**, v. 41, p. 1382–1395, 2022.
- VIANA, G. A.; FREITAS, C. I. A.; ALMEIDA, J. G. L.; *et al.* Antioxidant, genotoxic, antigenotoxic, and antineoplastic activities of apitoxin produced by *Apis mellifera* in Northeast Brazil. **Ciência Rural**, v. 51, n. 4, e20200545, 2021.
- VOß, K. M.; SPILLE, D. C.; SAUERLAND, C.; *et al.* The Simpson grading in meningioma surgery: does the tumor location influence the prognostic value? **Journal of Neuro-Oncology**, v. 133, p. 641–651, 2017.
- WANG, N.; OSSWALD, M. Meningiomas: overview and new directions in therapy. **Seminars in Neurology**, v. 38, p. 112–120, 2018.
- WEHBE, R.; *et al.* Bee venom: overview of main compounds and bioactivities. **Toxins**, v. 11, n. 12, p. 1–26, 2019.
- WELLER, R. O. Microscopic morphology and histology of the human meninges. **Morphologie**, v. 89, p. 22–34, 2005.
- WIEMELS, J.; WRENSCH, M.; CLAUS, E. B. Epidemiology and etiology of meningioma. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 99, p. 307–314, 2010.
- WU, W.; ZHOU, Y.; WANG, Y.; *et al.* Clinical significance of somatostatin receptor (SSTR) 2 in meningioma. **Frontiers in Oncology**, v. 10, art. 1633, 2020.

YOO, J.; LEE, G. Adverse events associated with the clinical use of bee venom: a review. **Toxins**, v. 14, art. 562, 2022.

YOO, J.; LEE, G. Adverse events associated with the clinical use of bee venom: a review. **Toxins**, v. 14, art. 562, 2022.

ZARRINNAHAD, H.; MAHMOODZADEH, A.; HAMIDI, M. P.; MAHDAVI, M.; MORADI, A.; POOSHANG BAGHERI, K.; SHAHBAZZADEH, D. Apoptotic effect of melittin purified from Iranian honey bee venom on human cervical cancer HeLa cell line. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 24, p. 563–570, 2018.

ZHAO, L.; ZHAO, W.; HOU, Y.; *et al.* An overview of managements in meningiomas. **Frontiers in Oncology**, v. 10, art. 1523, 2020.

ZOUAOU, S.; DARLIX, A.; RIGAU, V.; *et al.* Descriptive epidemiology of 13,038 newly diagnosed and histologically confirmed meningiomas in France: 2006–2010. **Neurochirurgie**, v. 64, p. 15–21, 2018.

ZWERDLING, T.; DOTHAGE, J. Meningiomas in children and adolescents. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 24, n. 3, p. 199–204, 2002.