



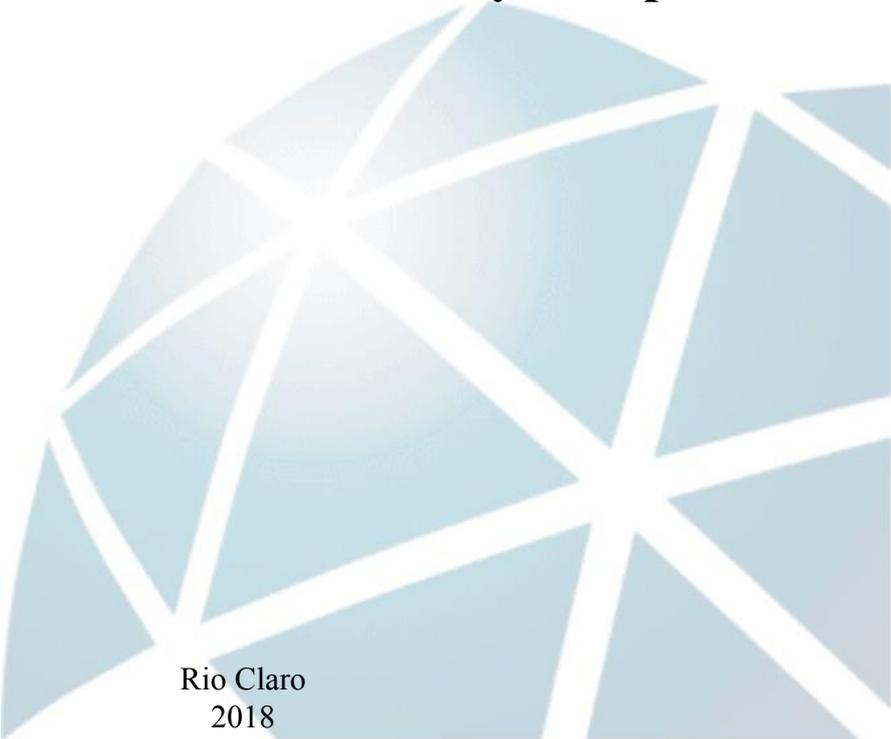
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - RIO CLARO



CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Geovana Corrêa Viana Roberto

Reatividade Cruzada: Alérgenos do veneno de *P. paulista* e de outros insetos Hymenoptera



Rio Claro
2018

GEOVANA CORREA VIANA ROBERTO

REATIVIDADE CRUZADA: ALÉRGENOS DO VENENO DE *P.*
PAULISTA E DE OUTROS INSETOS HYMENOPTERA

Orientador: Prof^a Dr^a Marcia Regina Brochetto-Braga

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharela e Licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro

2018

R642r

Roberto, Geovana Correa Viana

Reatividade Cruzada: Alérgenos do veneno de *P. paulista* e de outros insetos Hymenoptera / Geovana Correa Viana Roberto. -- Rio Claro, 2018

42 p. : il., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado e licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro

Orientadora: Márcia Regina Brochetto-Braga

1. Alergia. 2. Insetos. 3. *Polybia paulista*. 4. Reatividade cruzada. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço à minha mãe, Josefina; minha melhor amiga de todas as horas, que me apoiou em todas as decisões que tomei até hoje e que, junto comigo, contou os minutos para que eu voltasse aos seus braços. E ao meu pai, João Paulo, que mesmo longe, nunca deixei de pensar um dia sequer.

Meu tio, Wilson, que sem sua alegria inabalável, apoios e conselhos, teria tornado a graduação mais pesada. Obrigada por ter me acompanhado, como um pai, até aqui – na matrícula, nas mudanças, e nas férias.

Ao restante de toda a minha família pelo suporte ao meu curso e profissão. Todos vocês são muito importantes para mim. Amo vocês.

Às minhas amigadas, de ambas as cidades: Cássia, Pablo, Mariana, Maria Luísa, Lara, Lígia, Letícia (Nein), Karina, Isabela, Camila, João Arthur, e muitos outros colegas que me tocaram de alguma maneira. Só tenho a agradecer por ter conhecido cada um de vocês, nesse mundo de tantas pessoas. Obrigada por cada momento juntos, sejam os bons ou os ruins. Meu coração os levará para sempre.

Ao Luiz Fernando, que me acompanhou neste último ano e em todo o processo de construção deste trabalho, sempre com muita paciência e carinho, mesmo nos dias tempestuosos.

À minha orientadora, Márcia, pela oportunidade e por todo o conhecimento e aprendizado que me propôs nestes 3 anos de estudo.

À minha avó, Iolanda.

*Tenho apenas duas mãos
e o sentimento do mundo,
mas estou cheio escravos,
minhas lembranças escorrem
e o corpo transige
na confluência do amor.*

*Quando me levantar, o céu
estará morto e saqueado,
eu mesmo estarei morto,
morto meu desejo, morto
o pântano sem acordes.*

*Os camaradas não disseram
que havia uma guerra
e era necessário
trazer fogo e alimento.
Sinto-me disperso,
anterior a fronteiras,
humildemente vos peço
que me perdoeis.*

*Quando os corpos passarem,
eu ficarei sozinho
desfiando a recordação
do sineiro, da viúva e do microcopista
que habitavam a barraca
e não foram encontrados
ao amanhecer*

*esse amanhecer
mais noite que a noite.*

Sentimento do Mundo – Carlos Drummond de Andrade

RESUMO

O grupo dos insetos (classe Insecta) é o táxon de invertebrados mais abundante no mundo. Entre as diversas ordens da classe, os animais inseridos dentro de Hymenoptera são os maiores responsáveis por casos de acidentes com picadas e ferroadas – o que pode vir a causar reações alérgicas graves a indivíduos sensíveis. Tanto um diagnóstico mais preciso sobre o inseto causador da alergia quanto o processo imunoterápico precisam ser feitos com rigor, para atingir uma maior eficácia. Devido à falta de um conhecimento detalhado sobre tais processos, a imunoterapia para dessensibilizar o paciente não é tão efetiva. Os mesmos utilizam extratos de veneno bruto de espécies de insetos que podem – ou não – ser os responsáveis pelo processo alérgico inicial, e isso abre portas para uma nova reação sistêmica: a reatividade cruzada. Em suma, essa reação é a sensibilização a uma proteína para qual o organismo nunca havia entrado em contato. A vespa social *Polybia paulista*, presente em diversas regiões do Brasil e de caráter agressivo, é uma das maiores causadoras de reações alérgicas por ferroadas e os alérgenos de seu veneno têm sido caracterizados imunologicamente, em busca de melhor qualidade dos tratamentos de imunoterapia. Em adição, a reatividade cruzada também tem sido estudada com as proteínas de seu veneno – e entre os desafios estão a total compreensão de como e quando essas reações ocorrem, e o porquê do seu acontecimento. Para tanto, é importante conhecer as proteínas alergênicas presentes nestas reações com o veneno de *P. paulista*, além dos venenos de outros Hymenoptera taxonomicamente próximos, para elucidar quais caminhos seguir em busca dos próximos passos a serem dados em pesquisa sobre esse tipo de alergia. Esta presente análise permite concluir que a imunoterapia alérgeno-específica representa uma alternativa importante para o diagnóstico de alergia a venenos de vespas no Brasil, a começar pelo de *P. paulista*.

Palavras-chave: alergia, insetos, reatividade cruzada, *Polybia paulista*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Gráfico com número de acidentes com animais peçonhentos no Brasil de 2001 a 2017.....	11
FIGURA 2 – Algumas das principais espécies de Hymenoptera causadoras de ferroadas.....	12
FIGURA 3 – Vista dorsal de <i>Polybia paulista</i>	14
FIGURA 4 – Vista dorsal de <i>Polybia scutellaris</i>	16
FIGURA 5 – Vista dorsal de <i>Polistes lanio lanio</i>	17
FIGURA 6 – Vista dorsal de <i>Apoica pallens</i>	18
FIGURA 7 – Vista lateral de <i>Solenopsis invicta</i>	20
FIGURA 8 – Operária de <i>Apis mellifera</i>	21
FIGURA 9 – Estrutura em 3-D da Hialuronidase nativa de <i>P. paulista</i>	22
FIGURA 10 – Estrutura tridimensional do Antígeno 5 de <i>Polybia paulista</i>	23
FIGURA 11 – Estrutura tridimensional da Fosfolipase A1 nativa de <i>P. paulista</i>	24

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1. DADOS CLÍNICOS SOBRE ALERGIA À HYMENOPTERA	10
2. ABELHAS, VESPAS, FORMIGAS: OS PRINCIPAIS INSETOS	12
2.1 POLYBIA PAULISTA (H. VON IHERING, 1896) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)	14
2.2 POLYBIA SCUTELLARIS (WHITE, 1841) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)	16
2.3 POLISTES LANIO LANIO (FABRICIUS, 1775) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)	17
2.4 APOICA PALLENS (FABRICIUS, 1804) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)	18
2.5 SOLENOPSIS INVICTA (WESTWOOD, 1840) (HYMENOPTERA: FORMICIDAE: MYRMICINAE)	20
2.6 APIS MELLIFERA (LINNEAUS, 1758) (HYMENOPTERA: APIDAE)	21
3. ESTRUTURA MOLECULAR E BIOQUÍMICA DOS ALÉRGENOS	22
4. PROTEÍNAS ALERGÊNICAS	25
4.1 ESTRUTURA GERAL DA MOLÉCULA PROTEICA	25
4.2 AS PRINCIPAIS PROTEÍNAS ALERGÊNICAS PRESENTES EM HYMENOPTERA	26
4.2.1 Hialuronidases	26
4.2.2 Fosfolipases	27
4.2.3 Melitina	28
4.2.4 Fosfatase Ácida	29
4.2.5 Antígeno 5	29
5. A REAÇÃO ALÉRGICA COMUM	31
6. QUAL A RELAÇÃO ENTRE ALERGIA E REATIVIDADE CRUZADA?	32
6.1 O QUE É A REATIVIDADE CRUZADA E COMO ELA OCORRE	32
6.2 IMUNOTERAPIA	32
7. AS DIFICULDADES DE SE IDENTIFICAR UMA REAÇÃO CRUZADA	34
8. CONCLUSÃO	35
BIBLIOGRAFIA	36

INTRODUÇÃO

É de conhecimento antigo que toxinas naturalmente pertencentes a vertebrados e invertebrados, como cobras, aranhas e escorpiões, são causadoras de fatalidades entre humanos. Porém, mesmo com potencial de serem fatais, os venenos têm um grande valor terapêutico reconhecido desde tempos ancestrais. Na medicina ayurvedica – o sistema de saúde tradicional na Índia até o momento, utiliza-se veneno de serpentes desde o século VII no tratamento de artrite e doenças gastrointestinais. Além disso, na medicina tradicional Chinesa, os venenos também são utilizados desde o tratamento de vício em opioides até mesmo câncer e doenças cardiovasculares (DUTERTRE; UNDHEIM, 2015).

Diversos processos fisiológicos dos diferentes animais ‘venenosos’ são dependentes dessa mistura de moléculas bioativas que são os venenos – interagindo com enzimas vitais e receptores celulares, por exemplo (CALVETE et al., 2009). Também atuam na proteção do indivíduo e sua colônia – no caso de insetos. São armas naturais contra predadores e garantem a captura de presas (PEREZ-RIVEROL et al., 2017).

Entre as espécies de Hymenoptera clinicamente relevantes, mais de 20.000 são abelhas e formigas e mais de 15.000 são vespas, sendo que destas, 57% das espécies são descritas na América Latina, e 33% das descritas no mundo encontram-se no Brasil (ANTONICELLI; BILÒ; BONIFAZI, 2002; PEREZ-RIVEROL et al., 2017). Os insetos desta ordem são, geralmente, os maiores responsáveis por casos de alergia proveniente de ferroadas. Há dados de que, no mínimo, 56% da população mundial já foi ferroadada por esses invertebrados (PEREZ-RIVEROL et al., 2017). Segundo King et al., (2000), três famílias de insetos sociais dentro da ordem acabam ferroadando pessoas com mais frequência: Apidae, Vespidae e Formicidae (abelhas, vespas e formigas, respectivamente). É de conhecimento que a subfamília Polistinae (pertencente à família Vespidae) tem atraído o interesse de pesquisas, pois as espécies que a compõe são majoritariamente responsáveis pelos casos de alergia a vespas em algumas regiões. Tais casos de acidentes com ferroadas também podem estar ocorrendo devido ao fato de esses insetos estarem expandindo sua distribuição geográfica, para localidades de clima moderado, como o Centro-Oeste e Nordeste. Sabe-se também que, no Brasil, as espécies desta subfamília são as mais relacionadas a casos graves de anafilaxia (PEREIRA-BOMFIM, 2014; SOMAVILLA; DE OLIVEIRA; RAFAEL, 2017; PEREZ-RIVEROL et al., 2018).

É de prática comum na América Latina a realização do diagnóstico de alergia à esses insetos usando como base seus extratos brutos de veneno – o que causa, também, uma identificação errônea do inseto causador da ferroadada. Contudo, são escassas as informações sobre a composição do veneno dos insetos da ordem Hymenoptera e, mesmo que existentes, os

alérgenos recombinantes produzidos em laboratório ainda não estão disponíveis para uso em tratamentos de imunoterapia ou mesmo em diagnósticos de alergia (BAZON, 2017; PEREZ-RIVEROL et al., 2018). Portanto, é de grande relevância o levantamento de estudos realizados com as espécies da subfamília Polistinae – para que seja possível conhecer novas descobertas e direcionar futuros estudos sobre estes invertebrados.

A importância do estudo dos componentes presentes em venenos de insetos está nas possibilidades de descobertas científicas que estes podem apresentar. Têm a capacidade de elucidar problemas de ordem bioquímica e farmacológica, possibilitando a criação de biofármacos e da molécula na forma recombinante (JUSTO JACOMINI et al., 2013) a partir do estudo de suas estruturas e como atuam nos tecidos. A existente co-relação entre a atuação do veneno nas células e a liberação ou ativação de agentes a partir de danos teciduais também é uma importante questão a ser estudada, além da importância ecológica que esses e os demais insetos representam no ecossistema e nas relações humanas, com interações que remetem a tempos pré-históricos (HABERMANN, 1972).

1. DADOS CLÍNICOS SOBRE ALERGIA À HYMENOPTERA

Reações alérgicas graves costumam ocorrer mais frequentemente em indivíduos adultos do que em crianças, devido à quantidade de exposições – um adulto provavelmente entrou em contato com o alérgeno mais vezes do que a criança. Entretanto, não somente a idade torna-se um fator que altera a quantidade e a gravidade da reação. A localização geográfica e o perfil socioeconômico, aparentemente, também afetam os dados de ocorrência de anafilaxia (PEREZ-RIVEROL et al., 2015). Enquanto na Irlanda 37,5% das crianças já foi ferroadas pelo menos uma vez em suas vidas (JENNINGS et al., 2010), em Israel o número chega a 56,3% (GRAIF et al., 2006).

De acordo com Brehler et al. (2013), 1.943 pessoas nos Estados Unidos foram vítimas fatais de acidentes com animais, e 70,2% desse número se refere à incidentes com abelhas e vespas em geral. Já na Alemanha (BEYER et al., 2012), foi documentado por médicos emergenciais que, entre 2008 e 2010, 333 pessoas sofreram anafilaxia, e 295 delas em estado grave. Dentre esses casos, ferroadas de insetos foram a terceira maior causa, logo após anafilaxias causadas por alimentos e medicamentos. Ainda segundo o estudo de Beyer et. al (2012), 80,7% dos indivíduos dos casos de anafilaxia induzida por veneno reportaram a suspeita de terem sido atacados por vespas.

No que diz respeito ao Brasil, é o país que abriga mais da metade das espécies de vespas sociais já descritas na região da América Latina, e 33% do número total de espécies no mundo, que gira em torno de 320 (LOCHER et al., 2014).

O SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação) realizou um levantamento com informações sobre a relação de óbitos ano-a-ano, devido à acidentes com animais considerados “peçonhentos” pelo Ministério da Saúde/SVS brasileiro (Figura 1). Estes são: escorpiões, abelhas, aranhas, serpentes e lagartas. Também existe uma categoria generalista dentro dos animais peçonhentos – portanto, é provável que acidentes causados por outros tipos de vertebrados ou invertebrados (como por exemplo formigas e vespas) se encaixem neste grupo. E, segundo esses dados, do ano de 2001 a 2017, houveram 3.897 óbitos devido à esses animais; enquanto que, na categoria “outros”, os números de acidentes quase dobram no período de 2014 a 2016, sendo 7.247 acidentes notificados. Ainda segundo dados de óbitos do SINAN (2018), no ano de 2016 houveram 33 mortes devidas somente à acidentes com abelhas, um número maior do que fatalidades causadas unicamente por aranhas, porém ainda menor do que as causadas por serpentes e escorpiões.

Figura 1 - Gráfico com número de acidentes com animais peçonhentos no Brasil de 2001 a 2017, com o total de acidentes disposto na coluna em vermelho.

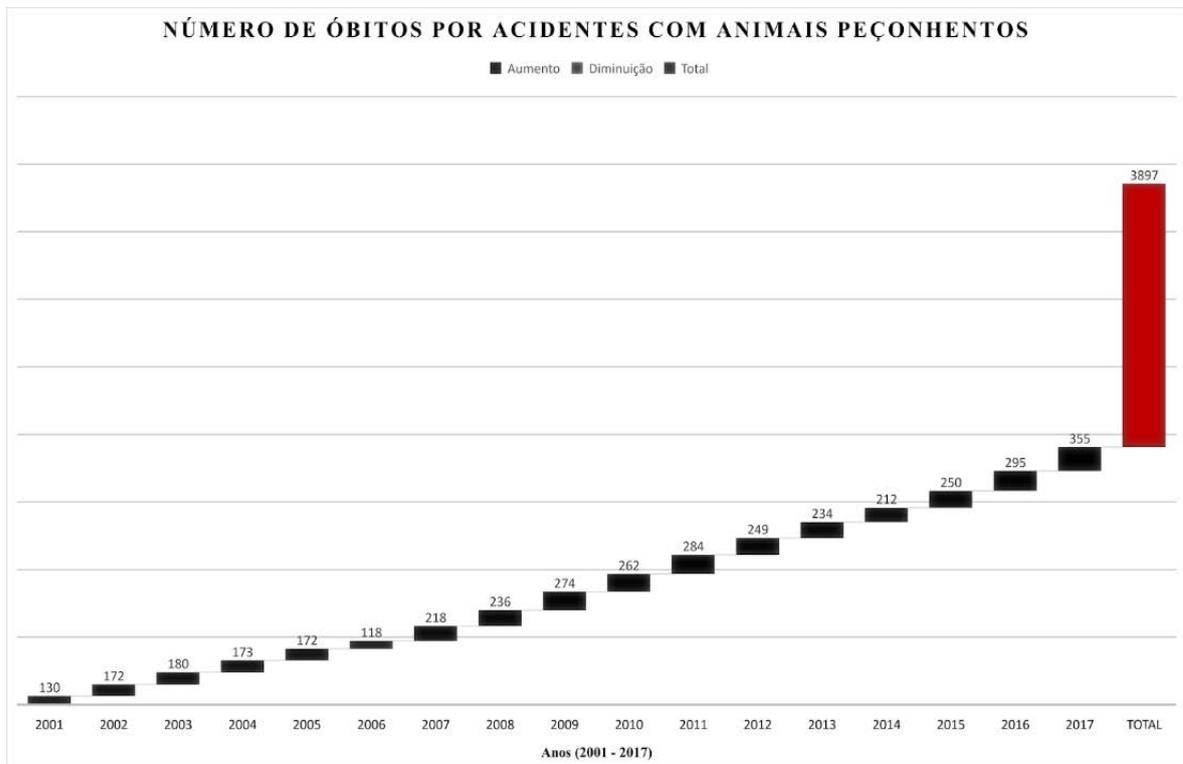
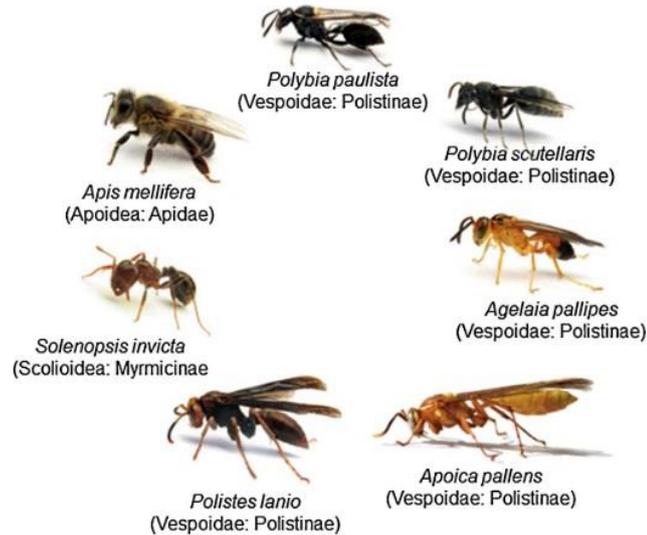


Gráfico elaborado pela autora. Dados de: SINAN - Sistema de Informação de Agravos de Notificação.

Embora existam esses levantamentos realizados por órgãos governamentais, bem como o ‘Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos’ (2001), os casos de alergia por himenópteros como *P. paulista* e outras vespas, abelhas e fomisgas continuam negligenciados. A falta de estudos relacionados à alergia e a ausência de um monitoramento e assistência à esses casos advém, também, da ausência de sistemas de diagnóstico para animais endêmicos, e subestimação de um problema de saúde pública, que são os acidentes com insetos (PEREZ-RIVEROL et al., 2017).

2. ABELHAS, VESPAS, FORMIGAS: OS PRINCIPAIS INSETOS

Figura 2 - Algumas das principais espécies de Hymenoptera causadoras de ferroadas.



Fonte: Perez-Riverol et al., 2018; M.S. Palma.

Muitas vezes, humanos encaram os himenópteros como uma ameaça muito maior do que eles atualmente representam. Ao contrário de escorpiões, aranhas e outros animais peçonhentos – de hábito solitário – os himenópteros vivem em colônias contendo muitos indivíduos, que são capazes de voar e ferroadar quem quer que esteja no mesmo ambiente. Esse fato faz com que o medo entre os seres humanos aumente (SCHMIDT, 2018).

O interesse nas espécies da subfamília Polistinae tornou-se maior devido ao seu papel relevante em causar reações alérgicas a vespas em determinadas regiões geográficas - e estão espalhando-se para regiões de clima moderado. Assim, estudos que visam caracterizar os alérgenos e reações cruzadas entre as proteínas são de suma importância para um diagnóstico mais específico (PEREZ-RIVEROL et al., 2018). Apesar de habitarem regiões geográficas distintas, a composição dos venenos de ‘vespídeos’ em geral é bem similar (MONSALVE et al., 2012). Nas regiões Norte e Central da Europa, a maioria dos casos de ferroadas ocorre devido à vespas do gênero *Vespa* e abelhas-europeias (*Apis mellifera*), enquanto no Sul da Europa e nas Américas, são relevantes os membros da sub-família Polistinae. Ademais, reações alérgicas sistêmicas podem ser causadas por formigas – onde em cada continente um gênero é mais relevante em acidentes, como é o caso de *Solenopsis* spp. na região das Américas (JAKOB et al., 2017).

Ainda segundo Perez-Riverol (2018), existem algumas espécies de Hymenoptera que são mais relevantes em casos de acidentes no Brasil e na América Latina (Figura 2), discorridos em tópicos a seguir.

2.1 *Polybia paulista* (H. von Ihering, 1896) (Hymenoptera: Vespidae)

Figura 2 – Vista dorsal de *Polybia paulista*.



Foto: Edson Roberto R. da Silva (<https://www.flickr.com/photos/biodiversidadepotim>)

A vespa social *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae), conhecida popularmente como “paulistinha”, é um inseto predominantemente presente na região Sudeste, principalmente no estado de São Paulo, mas também pode ser encontrado em estados da região, Sul (onde era considerada endêmica), Nordeste e Centro-Oeste do Brasil. Apresentam uma mancha amarela no dorso e o restante do corpo na cor preta, organizando-se em grandes enxames (figura 2). Podem ser facilmente encontradas em ambientes urbanos, pois constroem seus ninhos em locais altos, como telhados de casas (CASTRO; PALMA, 2009; SOMAVILLA; DE OLIVEIRA; RAFAEL, 2017).

São predadoras, podendo caçar formigas e cupins em suas formas aladas, bem como lagartas de lepidópteros, e também coletoras de néctar e pólen das flores. Ao predarem, estocam suas presas em nichos na periferia da colônia. A localização e estado das presas também é peculiar. Geralmente, não são encontradas presas no centro da colônia, e algumas destas parecem sofrer por um processo de ‘triagem’ pré-estocagem, no qual somente o tórax e abdômen permanecem armazenados (MICHELUTTI et al., 2017).

Devido ao seu temperamento agressivo, ela é responsável por muitos acidentes que podem levar a consequências alérgicas sérias, como choque anafilático (PALMA, 2006; JUSTO JACOMINI et al., 2013); sendo, portanto, de grande importância médica. Os sintomas induzidos pela alergia à vespa incluem coceira, urticária, angioedema, constrição dos brônquios e faringe, falta de ar, inconsciência, náusea, vômitos, calafrios e transpiração, que são sintomas

similares aos sintomas alérgicos induzidos por ferroadas de outros insetos da ordem Hymenoptera (AN et al., 2012).

2.2 *Polybia scutellaris* (White, 1841) (Hymenoptera: Vespidae)

Figura 3 – Vista dorsal de *Polybia scutellaris*.



Foto: Instituto Federal do Sul de Minas (<https://vespas.ifs.ifsuldeminas.edu.br/fotos/ver/44>)

Pertencente ao mesmo gênero de *P. paulista*, a *Polybia scutellaris* subespécie *rioplatensis* é uma espécie habitante da América do Sul, principalmente na região da Argentina (TELLERIA, 1996) e Uruguai. As vespas desse gênero constroem seus ninhos a partir de fibra vegetal e lama, organizando-os com favos hexagonais em camadas horizontais cobertos com uma protuberância cônica. Apesar de ser uma espécie comum no continente sul-americano e causar acidentes com frequência, ainda não há confirmação de reações de hipersensibilidade e anafilaxia – o que é, de fato, curioso (CASCONI et al., 1995).

Também é um inseto social de hábito diurno, sendo predador e oportunista em diversas ocasiões. O fato de poder caçar e adaptar-se em diferentes ambientes faz com que *P. scutellaris* (Figura 3) seja utilizada como um inseto controlador de pragas, principalmente lagartas de outros insetos (BRÜGGER et al., 2017; MICHELUTTI et al., 2017).

Vespas sociais são insetos altamente sensíveis ao ambiente onde vivem, o que faz com que alterem seu comportamento de acordo com as mudanças do próprio ambiente. As operárias de *P. scutellaris* são mais ativas durante o fim da manhã e o início da tarde – a intensidade destas atividades durante esse período pode ser uma resposta ao ambiente, que possui temperatura mais altas em comparação ao restante do dia (BRÜGGER et al., 2017).

2.3 *Polistes lanio lanio* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera: Vespidae)

Figura 4 - Vista dorsal de *Polistes lanio lanio*.



Foto: Instituto Federal do Sul de Minas (<https://vespas.ifs.ifsuldeminas.edu.br/fotos/ver/90>)

O gênero *Polistes* é, dentro do grupo de vespas sociais, um dos mais numerosos em termos de espécies – possui cerca de 200 já descritas – e muito bem distribuídos pelo mundo todo, habitando os seis continentes existentes (SANTOS et al., 2015). *Polistes lanio lanio* (nome popular “marimbondo comum”), é uma espécie comum no sudeste brasileiro. Vive em pequenas colônias com vários indivíduos, e pode ser um animal cosmopolita, pois vive próximo a prédios e construções humanas (YSHII et al., 2009).

É comum em Hymenoptera diferenças morfológicas dependentes do sexo e função social do indivíduo na colônia, como por exemplo, em formigas. Em indivíduos de *Polistes lanio lanio* (Figura 4), os machos diferenciam-se das fêmeas por possuírem um número a mais de segmentos nas antenas e gáster (GIANNOTTI, 2004). Giannotti (2004) também descreve que as diferenças existentes entre os sexos de *P. lanio lanio* vão além da morfologia – os machos apresentam comportamentos relacionados somente à própria sobrevivência; cuidados com a colônia e com as larvas não estão inclusos em suas atividades.

Apesar de ser uma espécie comum no Brasil, as informações sobre a atividade farmacológica e enzimática de seu veneno ainda não são amplamente estudadas (YSHII et al., 2009). Os estudos existentes envolvem avaliações sobre a reatividade cruzada de alérgenos recombinantes e naturais com o veneno bruto de *P. lanio lanio* (PEREZ-RIVEROL et al., 2018).

2.4 *Apoica pallens* (Fabricius, 1804) (Hymenoptera: Vespidae)

Figura 5 - Vista dorsal de *Apoica pallens*.



Foto: Instituto Federal do Sul de Minas (<https://vespas.ifs.ifsuldeminas.edu.br/fotos/ver/12>)

De hábitos noturnos, a vespa social *Apoica pallens* (Figura 5) é natural de regiões tropicais. Essa espécie possui ampla distribuição pelo Brasil, encontrada no estado de São Paulo, tanto no interior quanto no litoral (TOGNI et al., 2014), Minas Gerais (MOTA, 2016), Mato Grosso do Sul (PEREIRA-BOMFIM, 2014) e Amazonas (SOMAVILLA; OLIVEIRA; SILVEIRA, 2012). Devido ao seu habitat e modo de vida, possui diversas adaptações, principalmente nos olhos, para conseguir sobreviver. Seus ocelos são maiores e seus olhos possuem mais omatídeos do que vespas de hábitos diurnos, o que maximiza a sensibilidade à luz – características evolutivas que permitem o sucesso do grupo (GREINER, 2006). Além de seu hábito incomum, *A. pallens* torna-se notável pela capacidade de realizar migrações a longas distâncias, contendo a colônia toda em um único enxame.

Supõe-se que, os níveis de luz menores durante o anoitecer sejam um dos estímulos que faz com que as vespas saiam para forragear ou migrar durante a noite, pois durante o restante do dia, elas resguardam e resfriam a colônia utilizando um bater de asas específico. (GREINER, 2006) (HUNT; JEANNE; KEEPING, 1995).

Seu modo peculiar de migração diferencia-se dos outros tipos já observados em Hymenoptera. Espécies como *Polybia sericea* exploram possíveis locais para construção de um novo ninho antes de emigrarem. As operárias responsáveis por tal procura deixam um traço de feromônios sob o substrato por onde passam, para que os outros indivíduos da colônia possam segui-lo (HOWARD et al., 2002). Em *A. pallens*, isso não ocorre. Segundo Howard et. al

(2002), um feromônio é, aparentemente, emitido no ar durante o vôo de emigração e a colônia toda explora diversos locais, até que se estabeleçam onde considerem apropriado.

2.5 *Solenopsis invicta* (Westwood, 1840) (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae)

Figura 6 - Vista lateral de *Solenopsis invicta*.



Foto: Baccaro et al., 2015

Comumente conhecida como “lava-pés”, a *S. invicta* (Figura 6) distribuiu-se por todo o Brasil e América do Sul, sendo nativa da região. Porém, na América do Norte é considerada invasora – atraindo atenção internacional e estudos sobre sua importância. A distribuição de habitats das espécies do gênero é ampla, podendo nidificar tanto em florestas e savanas, quanto em meios de ação antrópica, como o ambiente urbano (BACCARO et al., 2015). Sua ferroadada é muito dolorosa, sendo uma única formiga capaz de ferroar entre 10 e 12 vezes, e seu veneno tem grande potencial alergênico, causando respostas de anticorpos IgE em até 25% das vítimas de acidentes – além de anafilaxia, necrose e infecções secundárias. (HOFFMAN, 1993; MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2001).

A classificação das formigas atualmente em consenso pelos mirmeccólogos é a inserção da família Formicidae dentro da super-família Vespoidea – a mesma super-família de Vespidae, fazendo com que estas duas famílias sejam extremamente próximas taxonomicamente – por compartilhamento de todas as características que definem os insetos *eusociais* (BACCARO et al., 2015). Porém, sua filogenia está sempre em constante mudança e atualização. Em alguns estudos, é dito que as formigas podem ser classificadas dentro da super-família Formicoidea (HOFFMAN, 1993). Apesar de Brothers (1999) ter colocado Formicidae e Vespidae (além de Scoliidae – um grupo de vespas) como táxons irmãos, todos dentro de Vespoidea. A classificação mudou novamente em 2013, sugerindo que formigas e a superfamília Apoidea (que inclui as abelhas e algumas vespas parasíticas) sejam grupos irmãos (JOHNSON et al., 2013).

2.6 *Apis mellifera* (Linneaus, 1758) (Hymenoptera: Apidae)

Figura 7 - Operária de *Apis mellifera*.



Foto: Alex Wild (www.alexanderwild.com).

A introdução da abelha melífera variedade Africana no Brasil ocorreu em outubro de 1957, quando 26 rainhas e seus enxames de operárias de *A. mellifera scutellata* escaparam de um apiário pertencente à uma instituição de pesquisa, na cidade de Rio Claro/SP. Estudava-se o benefício que essa variedade, considerada mais vigorosa do que a Europeia, poderia trazer à indústria apicultrora (SCHUMACHER; NED, 1995). A estabilização pelo continente americano inteiro ocorreu de forma rápida e efetiva, movendo-se entre 250 a 300 km por ano, sendo que seu comportamento agressivo e defensivo lhe proveu vantagens de sobrevivência (além das características de insetos eusociais já presentes, como a capacidade de inocular mais veneno que as aparentadas abelhas Europeias (*Apis mellifera adansonii*)). Deste modo, ocorreu a hibridização entre ambas as espécies, levando à conhecida atualmente como abelha melífera africanizada (Figura 7), causadora de diversos acidentes com humanos e animais domésticos (SCHUMACHER; NED, 1995; FERREIRA JUNIOR et al., 2010).

Até o momento, estão oficialmente reconhecidos 12 alérgenos presentes no veneno de *Apis mellifera* (<http://www.allergen.org/>). Essas proteínas alergênicas compõem aproximadamente 17% do peso do veneno – um valor menor do que o descrito em relação às vespas, cujo veneno possui cerca de 20% a 30% de proteínas alergênicas em sua composição (KING et al., 1978; VAN VAERENBERGH et al., 2015).

3. ESTRUTURA MOLECULAR E BIOQUÍMICA DOS ALÉRGENOS

A composição de um veneno inclui compostos de baixo peso molecular como terpenos, amins biogênicas, além de uma quantidade grande de peptídeos e proteínas alergênicas. No caso de *Polybia paulista*, fosfolipases A₁ e A₂, hialuronidases, e antígeno 5 como alérgenos maiores, e a fostafase ácida, como alérgeno menor (PEREZ-RIVEROL et al., 2017). A descrição da conformação molecular dos alérgenos maiores apresentam-se a seguir.

Figura 8 - Estrutura em 3-D da Hialuronidase nativa de *P. paulista*.

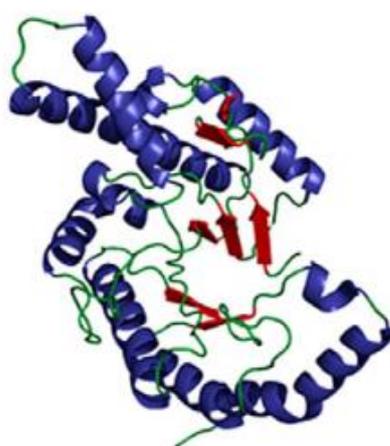


Foto: Perez-Riverol et. al, 2017.

A primeira hialuronidase de *Polybia paulista* foi descrita como uma proteína glicosilada contendo 288 resíduos de aminoácidos, e massa molecular de 44,34 kDa (PINTO et al., 2012). Porém, a descrição feita por Justo-Jacomini et al. (2013) contém algumas diferenças – o alérgeno descrito possui 10 resíduos de aminoácidos a mais e similaridade de quase 75% entre ambas hialuronidases. Tais diferenças justificam-se pelo fato da existência de isoformas dos alérgenos de *P. paulista*, em sua forma natural, já descritas anteriormente (DOS SANTOS et al., 2011). Sua estrutura (Figura 8) é provida de um barril α/β central contendo 7 α -hélices e 7 folhas- β , duas pontes dissulfeto entre dois resíduos de cisteína e sítios de glicosilações putativas entre três resíduos de asparagina (JUSTO JACOMINI et al., 2013).

O antígeno 5 nativo do veneno bruto de *P. paulista*, quando alinhada sua sequência em comparação ao mesmo alérgeno presente no veneno de outras vespas, possui similaridade que varia de 59% a 93%. Como a hialuronidase, também possui diversas isoformas – segundo Perez-Riverol et al. (2017), são 6 as diferentes estruturas do alérgeno. Porém, somente uma dessas formas representa a molécula inteira, completa, e não somente parte da estrutura – o que

poderia ser uma estratégia da vespa de possuir moléculas em seu veneno que escapariam do sistema imune da vítima, garantindo, então, o processo de intoxicação (PEREZ-RIVEROL et al., 2017).

A estrutura molecular do antígeno 5 (Figura 9) contém três α -hélices, uma hélice-310 e quatro folhas- β ; sendo uma proteína com diversos tipos de Modificações Pós-Traducionais (MPTs) (DOS SANTOS-PINTO et al., 2014). Essas modificações ocorrem após a síntese proteica – porém antes ou depois de a molécula adquirir sua conformação tridimensional – por meio da remoção de aminoácidos ou adição de grupos acetil, metil, carboxil, fosforil, oligossacarídeos ou grupos prostéticos, por exemplo. Após essas mudanças, a molécula estaria, enfim, biologicamente ativa (NELSON; COX, 2014, pg. 1115). No caso deste alérgeno, foram observadas MPTs como glicosilações, hidroxilações e fosforilações.

Figura 9 - Estrutura tridimensional do Antígeno 5 de *Polybia paulista*.

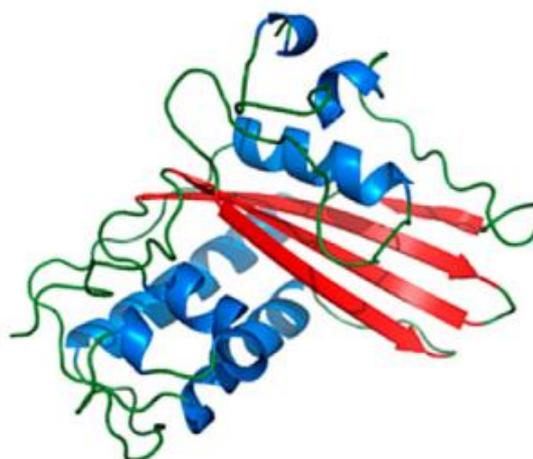
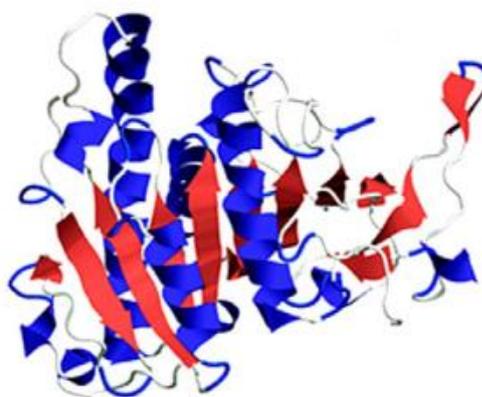


Foto: Perez-Riverol et. al, 2017.

A estrutura secundária da fosfolipase A₁ de *Polybia paulista* (Figura 10) é composta de α -hélices, folhas- β e outros enrolamentos (SANTOS et. al, 2007). Sua conformação é comum às outras lipases/esterases, e, como descrito por Hou et. al (2016), forma-se uma folha- β no centro da proteína. Porém, algumas divergências foram encontradas referentes às descrições. Santos (2007) descreve o centro da PLA₁ de *P. paulista* como constituído por 6 cordões- β paralelos e um cordão anti-paralelo, rodeado por 4 α -hélices. Entretanto, a descrição de Hou et. al (2016) relata o centro composto por 11 fitas- β paralelas e antiparalelas, sendo rodeadas, em seus dois lados, por 10 α -hélices.

Embora divergentes quanto à conformação geral, ambos os autores relatam a importância dos resíduos de cisteína da molécula. As fosfolipases contêm 13 desses aminoácidos, cujos 6 pares formam, dentro da molécula, pontes dissulfeto para manter os dobramentos da molécula estáveis. Todas as fosfolipases A_1 possuem características em comum, como a presença de três aminoácidos – Serina (Ser), Histidina (His) e Asparagina (Asp) – como tríade catalítica (SANTOS et al., 2007; HOU et al., 2016; ALOULOU et al., 2018).

Figura 10 - Estrutura tridimensional da Fosfolipase A_1 nativa de *P. paulista*.



Fonte: Perez-Riverol et. al, 2017.

4. PROTEÍNAS ALERGÊNICAS

4.1 Estrutura geral da molécula proteica

A estrutura de uma proteína pode ser dividida em quatro partes distintas – as estruturas primária, secundária, terciária e quaternária. A primária é composta pela sequência de aminoácidos que compõem a proteína; a secundária é o arranjo de aminoácidos adjacentes à cadeia polipeptídica; na terciária, sua definição é dada pelo arranjo tridimensional de todos os átomos que compõem a proteína; e a quaternária, por fim, é a interação de grandes estruturas proteicas com outras estruturas similares, ou seja, é a interação de subunidades da proteína com outras subunidades (NELSON; COX, 2014). As proteínas podem ser descritas contendo diferentes ‘níveis’, como a estrutura primária, o dobramento da proteína, a estrutura do domínio e a estrutura da superfície. A estrutura da superfície da proteína é a parte mais importante na ligação com o anticorpo pois é onde existem os epítomos – região que interage com o anticorpo em nível atômico (AALBERSE, 2000).

O termo “alérgeno” corresponde a duas propriedades moleculares: a capacidade de sensibilizar um indivíduo (ou seja, estimular a produção de anticorpos de alta afinidade) e a capacidade de desencadear sintomas alérgicos em indivíduos já sensibilizados (AALBERSE, 2000). Proteínas podem atuar como alérgenos e originarem-se de diversas fontes – como grãos de pólen, alimentos, venenos e fungos, por exemplo (KROUSE; DEREBERY; CHADWICK, 2008). São essas que atuam no corpo, induzindo a produção e interagindo com células do sistema imune como a imunoglobulina IgE, em ligações de alta afinidade e causando as reações alérgicas a indivíduos sensíveis (FERREIRA et al., 2004).

O tratamento existente para alergias até o momento é a imunoterapia, que utiliza extratos de veneno bruto do provável inseto causador da alergia. Porém, além do processo de extração ser caro e trabalhoso, há o risco que com a sua utilização na imunoterapia, sejam induzidos efeitos colaterais – locais e sistêmicos – nos pacientes devido à complexa composição do veneno bruto. Nele, estão presentes todos os alérgenos, maiores e menores, e nem todos os pacientes são alérgicos à gama total de proteínas, o que pode, portanto, desencadear novos processos imunológicos (LICHTENSTEIN; VALENTINE; SOBOTKA, 1979; VINZÓN et al., 2010).

Dentre os venenos de insetos já conhecidos, estão proteínas que variam entre 10 e 50 kDa de tamanho, e possuem entre 100 e 400 resíduos de aminoácidos (KING; SPANGFORT, 2000). Venenos de vespas contém uma série de proteínas que atuam como alérgenos, além de outros arranjos de peptídeos e amins vasoativos (LICHTENSTEIN; VALENTINE;

SOBOTKA, 1979). O veneno de *Polybia paulista*, além de possuir composição semelhante a venenos de outros Hymenoptera, possui também uma grande quantidade de proteínas de alta massa molecular, aminas biogênicas e peptídeos básicos (JUSTO JACOMINI et al., 2014). Os principais alérgenos presentes são três: a hialuronidase (Hyal, uma proteína com função enzimática), a fosfolipase A₁ (PLA₁) e o antígeno 5 (Ag 5). Desses, somente o antígeno 5 possui função ainda desconhecida (KING; SPANGFORT, 2000). Das três proteínas que compõem o veneno de *Polybia paulista*, já foram realizados estudos de reatividade cruzada com somente duas delas – a hialuronidase e a fosfolipase A₁ (JUSTO JACOMINI et al., 2013; PEREZ-RIVEROL et al., 2018).

Novos alérgenos são descobertos e categorizados com frequência desde que o estudo sobre venenos de Hymenoptera se tornou mais relevante e necessário. Os últimos alérgenos adicionados à lista oficial de alérgenos reconhecidos (<https://www.allergen.org>) são: a hialuronidase de *P. paulista* (Poly p 2), a dipeptilpeptidase IV de *Polistes dominula* (Pol d 3) – uma vespa nativa europeia, e o antígeno 5 de *Pachycondyla chinensis* (Pac c 3), a formiga-agulha asiática (JAKOB et al., 2017).

4.2 As principais proteínas alergênicas presentes em Hymenoptera

4.2.1 Hialuronidasas

A hialuronidase é uma enzima glicolítica, que catalisa o ácido hialurônico presente na matriz extracelular de alguns tipos de tecidos. É capaz também de degradar a condroitina, uma proteína presente em cartilagens e articulações (SCHUMACHER; NED, 1995; BORDON et al., 2015). Possui outras funções não-enzimáticas, como por exemplo a absorção de impactos e lubrificação das articulações, além da tarefa de manter a estrutura da matriz extracelular. Tais funções tornam-se possíveis devido à grande interação do ácido hialurônico com moléculas de água, garantindo uma maior viscoelasticidade (BORDON et al., 2015). Também é considerada um “fator de difusão”, pois teria como função ‘abrir caminho’ para que o veneno e suas outras moléculas alergênicas se espalhem pelos tecidos (HABERMANN, 1972). Identificada pela primeira vez em 1928 por Duran-Reynals, somente teve seu nome como se conhece atualmente em 1940 (DURAN-REYNALS, 1928; MEYER et al., 1940).

Sua distribuição entre os seres vivos é massiva, já tendo sido identificada em vespas (HENRIKSEN et al., 2001; JUSTO JACOMINI et al., 2013), abelhas (KEMENY et al., 1984; LU; KOCHOUMIAN; KING, 1995), serpentes, escorpiões,

peixes, aranhas, lagartos, bactérias, fungos, crustáceos, moluscos, sanguessugas, além de órgãos, fluidos humanos e tumores malignos (PODYMA et al., 1997; BORDON et al., 2015). A primeira hialuronidase isolada foi proveniente de testículo bovino, e teve sua venda legalizada nos EUA em 1948. Entretanto, em 1973, a enzima foi isolada pela primeira vez a partir de um veneno, pertencente à tarântula *Dugesiella hentzi* (SCHANBACHER et al, 1973).

Ainda no século XX, Meyer et al. (1940) realizou uma série de experimentos para compreender qual seria a relação entre a hialuronidase e um chamado “fator de espalhamento ou difusão”. Tal fator seria responsável por facilitar a dispersão de outras moléculas – incluindo as patogênicas – por entre os tecidos de um organismo (DURAN-REYNALS, 1933). Após observarem que todas as preparações contendo a hialuronidase possuíam propriedades similares às do “fator de espalhamento”, foi possível sustentar a hipótese de que as duas moléculas seriam, portanto, a mesma. Postulou-se também que, na superfície da pele, haveria a existência de ácido hialurônico ou outro substrato que a hialuronidase fosse capaz de interagir (MEYER et al., 1940).

Atualmente, o conhecimento sobre a enzima é muito mais amplo. Nos bancos de dados moleculares como o NCBI ou UniProt, já foram depositadas, respectivamente, 128 e 92 sequências de hialuronidases, pertencentes a 53 gêneros dentro das classes Arachnida, Chilopoda e Insecta, todas elas pertencentes ao filo Arthropoda (BORDON et al., 2015). As estruturas moleculares de diversas hialuronidases também já foram bem estudadas, podendo assim comparar as moléculas em seus estados naturais. A hialuronidase presente em *Vespula vulgaris* (Ves v 2), por exemplo, apresenta 51% de similaridade de sequência com o alérgeno nativo em *Apis mellifera* (Api m 2) (HENRIKSEN et al., 2001).

4.2.2 Fosfolipases

4.2.2.1 - Fosfolipase A₁

Presente nas vespas dos gêneros *Polybia*, *Polistes*, *Vespa*, *Dolichovespula* e *Vespula*, (HENRIKSEN et al., 2001; PEREZ-RIVEROL et al., 2016, 2018; SPILLNER 2017), a fosfolipase A₁ é considerada um dos alérgenos mais relevantes presentes em venenos de vespas neotropicais. Além das vespas, também já foi identificada compondo o veneno das formigas lava-pés (em inglês, fire-ants), *Solenopsis invicta*, sob a nomenclatura de ‘Sol i 1’ (HOFFMAN; SAKELL; SCHMIDT, 2005), possuindo tamanho extremamente similar ao alérgeno presente no veneno de *P. paulista*. Enquanto

a fosfolipase A₁ presente no veneno da vespa contém 34 kDa e não possui glicosilações, em *S. invicta* a enzima possui 34,1 kDa, 3 sítios com possibilidade de ocorrer N-glicosilações e 309 aminoácidos (HOFFMAN; SAKELL; SCHMIDT, 2005; PEREZ-RIVEROL et al., 2016).

Como *P. paulista* é uma das vespas sociais mais relevantes do Hemisfério Sul, o estudo de seu veneno bruto tem permitido conhecer a fundo cada alérgeno. No caso deste alérgeno em *P. paulista* (Poly p 1), sabe-se que compartilha de 51% a 83% de sua sequência com a fosfolipase A₁ de vespas do Hemisfério Norte, e que possui efeito hemolíticos similares à toxinas presentes no veneno da cobra-indiana (*Naja naja atra*) (PEREZ-RIVEROL et al., 2018).

4.2.2.2 - Fosfolipase A₂

A fosfolipase A₂ se mostra presente em venenos de Hymenoptera em espécies como *Agelaia pallipes pallipes* (COSTA; PALMA, 2000), *Apis mellifera* e em apídeos do gênero *Bombus* (JAKOB et al., 2017), por exemplo. Possui potencial hemolítico potente – entre todos os animais que a possuem – porém em *A. mellifera* é mais acentuado.

Além de atuar como uma lipase, sua ação libera ácido araquidônico (um tipo de ácido graxo poliinsaturado precursor de prostaglandina) dos lipídeos na membrana celular. Apresenta em sua estrutura glicosilações em quantidades variadas quando comparada aos outros alérgenos componentes de venenos. Em *P. paulista*, representa somente 1,1% do conteúdo do veneno bruto, enquanto que em *A. mellifera*, os valores estão entre 10 e 12%. Seu potencial alergênico também varia conforme a espécie, tornando-a altamente relevante em casos de alergia envolvendo abelhas melíferas (JAKOB et al., 2017).

4.2.3 Melitina

Principal componente do veneno de abelhas, a melitina é uma proteína de tamanho pequeno, contendo apenas 26 resíduos de aminoácidos (TREWILLIGER; EISENBERG, 1981; BILÓ et al., 2005). Além de possuir um baixo peso molecular – de somente 2,9 kDa (MÜLLER, 2002) – é altamente básica e capaz de atravessar a bicamada lipídica de células eucariotas. Acredita-se que, juntamente com a fosfolipase

A2, ela pode causar a lise celular em hemácias, leucócitos, plaquetas, além de dano ao endotélio vascular (SCHUMACHER; NED, 1995).

Diversos experimentos que procuram otimizar processos terapêuticos já foram realizados utilizando a melitina. O alérgeno trouxe novas perspectivas sobre o tratamento da dermatite atópica (AN et al., 2018), ações analgésicas, anti-artrite e anti-câncer (SON et al., 2007).

4.2.4 Fosfatase Ácida

A natureza glicoproteica da fosfatase ácida foi descrita pela primeira vez em 1983, retirada de veneno bruto de *A. mellifera* (MÄRZ; KÜHNE; MICHL, 1983), e possui tamanho de 49 kDa (BILÓ et al., 2005). Müller (2002) realizou a clonagem de 70% do gene da fosfatase ácida de *Apis mellifera* e sua expressão recombinante. Mais tarde, foi considerada um alérgeno marcador do veneno de abelhas, e identificada em venenos de vespas – levantando questões sobre a semelhança entre venenos de espécies diversas (JAKOB et al., 2017). Hoje, sabe-se que fosfatases são encontradas compondo grande parte do veneno de abelhas, e que são enzimas alergênicas importantes. No caso de *P. paulista*, está presente atuando em duas formas: ácida e alcalina (DE OLIVEIRA; PALMA, 1998)

4.2.5 Antígeno 5

O antígeno 5 é uma proteína com tamanho de aproximadamente 23 kDa, pertencente à superfamília CAP de proteínas – cujas membras são encontradas em uma vasta quantidade de organismos em todo o reino animal (VAN VAERENBERGH et al., 2013). Estas envolvem-se em diversos processos biológicos que vão desde a reprodução até o câncer, e atuam na defesa imune e reações alérgicas, porém sua função fisiológica exata no inseto e em humanos permanece desconhecida (DOS SANTOS-PINTO et al., 2015).

Compõe os venenos da grande maioria das vespas sociais dentro da família Vespidae, dos gêneros *Polybia*, *Polistes*, *Vespula*, *Dolichovespula* e *Vespa* (JEANNE, 1980). Apesar de não ter sido encontrada no veneno de abelhas, foi identificada uma molécula de 18 resíduos de aminoácidos, com estrutura altamente similar ao antígeno 5 em venenos de *Apis* spp, nomeada de ‘apideicina’. O gene responsável pela expressão

desta proteína similar está presente em grandes quantidades no cérebro de abelhas (VAN VAERENBERGH et al., 2013).

Presente também no veneno de *S. invicta* e identificado como ‘Sol i 3’, esse tipo de antígeno 5 apresenta uma reação cruzada limitada em soros de pacientes alérgicos à venenos de vespas (e não-expostos à venenos de fomigas lava-pés) (HOFFMAN, 1993).

5. A REAÇÃO ALÉRGICA COMUM

Em uma abordagem mais restrita, a palavra “alergia” caracterizava a área da medicina de diagnóstico e tratamento de algumas enfermidades como asma, eczema e urticária – sendo que, no mesmo período, ainda não era de conhecimento que tais doenças ocorriam após a exposição a certas substâncias. Já em um conceito mais geral, caracterizava-se como uma variedade de estados sensíveis surgidos durante infecções, ou como resultado da exposição à drogas, antibióticos, ou aos preparados de origem animal ou vegetal (LOWELL, 1948). No início do século XX, despertou-se o interesse científico acerca do assunto, e pesquisadores deram início à uma exploração das reações clínicas e mecanismos de ação – pois a exposição à diversas substâncias em um ambiente começou a produzir sintomas. Porém, apesar das pesquisas e novas descobertas, as causas da alergia não eram bem entendidas até a década de 1960 (KROUSE; DEREBERY; CHADWICK, 2008).

Segundo Krouse, Derebery e Chadwick (2008, p.2), a ocorrência de doenças alérgicas, respiratórias ou não, têm crescido no mundo todo. Estima-se ainda que entre 25% a 30% da população na região ocidental do planeta são afetadas anualmente por alergias.

A alergia, ao contrário de uma reação tóxica, é em geral causada por proteínas e compostos moleculares de alto peso (> 12 kDa). Essa reação pode causar uma inflamação local, resultando em dor, prurido, irritações, podendo chegar a arritmia e taquicardia/braquicardia no indivíduo afetado (ARCURI et al., 2016).

6. QUAL A RELAÇÃO ENTRE ALERGIA E REATIVIDADE CRUZADA?

6.1 O que é a reatividade cruzada e como ela ocorre

A reatividade cruzada é um fenômeno que ocorre quando as células do sistema imune reagem ou ligam-se com moléculas as quais os indivíduos não foram sensibilizados anteriormente (FERREIRA et al., 2004). Ou seja, elas reconhecem uma outra molécula potencialmente alergênica, similar àquela já conhecida anteriormente.

Diferente da reatividade cruzada, pode ocorrer também o resultado duplo-positivo, o qual pode ocorrer quando o indivíduo realmente recebeu uma dupla sensibilização à duas moléculas diferentes. A reatividade cruzada pode ser causada por (a) anticorpos IgE que reagem aos CCDs (Carboidratos Determinantes de Reação-cruzada; no inglês, *Cross-reactive Carbohydrate Determinant*), que são oligossacarídeos presentes nas cadeias laterais ligados à resíduos de asparagina de proteínas animais e vegetais (HEMMER et al., 2001) presentes na grande maioria dos venenos de Hymenoptera ou (b) em sequências homólogas de peptídeos presentes em ambas as moléculas (MERTENS et al., 2010). O fato de a reatividade cruzada poder ser causada por alérgenos homólogos presentes em espécies diferentes levou ao conhecimento que isso é devido à similaridade tanto das sequências de aminoácidos como da estrutura das moléculas alergênicas (HENRIKSEN et al., 2001), o que explica o aparecimento de reações cruzadas entre formigas e vespas, por exemplo. Mesmo que o foco seja a reatividade cruzada dentro da ordem Hymenoptera, é importante ressaltar que o fenômeno pode ocorrer com outros tipos de alérgenos, que estejam estes presentes em alimentos, cosméticos ou grãos de pólen, por exemplo (FERREIRA et al., 2004; KROUSE; DEREBERY; CHADWICK, 2008; BUBLIN; BREITENEDER, 2014; SHI et al., 2016).

6.2 Imunoterapia

O primeiro experimento usando a imunoterapia em pacientes alérgicos foi realizado há mais de 100 anos e, desde então, progressos significativos têm ocorrido, tanto para garantir a eficácia do tratamento quanto para ser um procedimento seguro aos pacientes (JUTEL et al., 2015).

A imunoterapia à abelhas ganhou destaque quando, ao invés de se utilizar extratos de corpo todo da abelha, passou-se a utilizar o veneno bruto do inseto – e à essa mudança foi atribuído o sucesso da técnica (THOMAS, 2017). Porém, a utilização de extratos de veneno bruto em processos de imunoterapia é responsável pelo aumento da ocorrência de reatividade cruzada, devido à presença dos carboidratos determinantes de reação-cruzada. O uso de

alérgenos recombinantes (expressos em bactéria) sem a sequência de CCDs diminui a incidência da reatividade cruzada – esses carboidratos são responsáveis por cerca de 70% a 80% dos erros em diagnósticos de alergia a himenópteros (PEREZ-RIVEROL et al., 2017). Perez-Riverol et. al (2018) destaca a importância da utilização de alérgenos recombinantes em tratamentos como esses. No caso, a fosfolipase A₁ de *P. paulista* pode atuar como um marcador de diferenciação entre a reatividade cruzada entre abelhas e a real sensibilização à vespas, tornando possível um tratamento mais específico e eficaz aos pacientes alérgicos.

Contudo, ainda existe uma certa relutância em se utilizar a imunoterapia como uma maneira de sanar os sintomas alérgicos e riscos de reações mais graves. Jutel et. al (2015) lista algumas razões para justificar a baixa utilização do tratamento, como a falta de documentos atestando a eficácia do processo e seu custo-benefício. O número de especialistas que compreendem o processo e cuidam de pacientes alérgicos é desproporcional ao redor do mundo. Além disso, há uma baixa variedade de produtos disponíveis no mercado para realizar a imunoterapia, como também a falta de conscientização tanto da população comum quanto da comunidade médica sobre imunoterapias.

7. AS DIFICULDADES DE SE IDENTIFICAR UMA REAÇÃO CRUZADA

Um dos desafios existentes acerca da reatividade cruzada é a identificação correta do inseto causador da picada/ferroada. Os venenos de insetos do grupo Hymenoptera são muito semelhantes entre si, o que dificulta a identificação correta do indutor da alergia (JUSTO JACOMINI et al., 2013). Além de possuírem alto grau de semelhança, os venenos de himenópteros são considerados de grande complexidade por conterem uma quantidade relevante de proteínas – mesmo que somente poucas dessas moléculas sejam importantes no diagnóstico de alergias (ANTOLÍN-AMÉRIGO et al., 2017). Outra questão chave a ser elucidada é como e por qual razão especificamente tal fenômeno ocorre. Sabe-se que reações cruzadas podem ocorrer pela semelhança entre os epítomos na superfície das proteínas alergênicas (como é o caso da Hialuronidase de *Apis melífera* e *Vespula vulgaris*), ou pela presença de CCDs ligando-se com os anticorpos IgE (BREHLER; GRUNDMANN; STÖCKER, 2013).

Sugere-se a alta taxa de similaridade entre o antígeno 5 de diversos outros Hymenoptera como justificativa para o grande número de ocorrências de reatividade cruzada durante o diagnóstico de alergia (PEREZ-RIVEROL et al., 2017). As vitelogeninas, peptilpeptidases e hialuronidases são alérgenos homólogos presentes em diversos insetos e possuem epítomos muito similares entre si. Além dessa semelhança, a presença dos CCDs pode levar à uma reatividade cruzada – dificultando o processo de identificação do inseto ferroador primário. Também são os causadores da reação entre os venenos das vespas pertencentes aos gêneros *Vespula* e *Polistes* (ANTOLÍN-AMÉRIGO et al., 2017). Diferenciar himenópteros presentes em mesmas famílias, como as dos gêneros citados, requer ainda mais conhecimento das características moleculares dos venenos, além de análises mais refinadas (PEREZ-RIVEROL et al., 2018).

8. CONCLUSÃO

Felizmente, avanços já foram realizados para que a segurança e eficácia de se realizar uma imunoterapia, tanto para alergias de pele e respiratórias quanto pelas causadas por venenos, seja comprovada (JUTEL et al., 2015). Perez-Riverol et. al (2018) demonstraram como a fosfolipase A₁ de *P. paulista* pode ser utilizada para solucionar casos onde há dúvidas no diagnóstico. Ela é capaz de diferenciar as reações alérgicas entre abelhas e vespas, e formigas e vespas. Porém, no campo da reatividade cruzada, a utilização deste alérgeno como solução para frear o fenômeno continua um desafio.

A produção de diversos alérgenos recombinantes (MÜLLER, 2002; VINZÓN et al., 2010; VALENTA et al., 2011; JUSTO JACOMINI et al., 2014; PEREZ-RIVEROL et al., 2015; BAZON, 2017) traz uma perspectiva otimista sob a questão do diagnóstico impreciso e imunoterapia correta.

O crescente interesse pelos insetos da ordem Hymenoptera também é de suma importância para compreender melhor quais são as características peculiares de suas proteínas, quais funções elas realizam, tanto no corpo dos animais, quanto nos corpos de quem entra em contato com essas moléculas. Conhecer seus hábitos de vida e suas distribuições pelo continente também são fundamentais para compreender os casos de alergia, o ‘como’ e o ‘por quê’ ocorrem, e quais fatores estariam, de fato, envolvidos em todo o processo. E, por fim, admirar e reconhecer a importância desses insetos, tão presentes no cotidiano de milhões de indivíduos, como essenciais componentes da biodiversidade do planeta.

BIBLIOGRAFIA

- AALBERSE, R. C. Structural biology of allergens. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 106, n. 2, p. 228–38, 1 ago. 2000.
- ALOULOU, A. et al. **Phospholipases: An Overview. In: Lipases and Phospholipases**. New York, NY: Humana Press, 2018. v. 1835
- AN, H.-J. et al. Therapeutic effects of bee venom and its major component, melittin, on atopic dermatitis in vivo and in vitro. **British Journal of Pharmacology**, 2018.
- AN, S. et al. Purification and Characterization of Two New Allergens from the Venom of *Vespa magnifica*. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. e31920, 27 fev. 2012.
- ANTOLÍN-AMÉRIGO, D. et al. Component-resolved diagnosis in hymenoptera allergy. **Allergologia et Immunopathologia**, 2017.
- ANTONICELLI, L.; BILÒ, M. B.; BONIFAZI, F. Epidemiology of hymenoptera allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 2, n. 4, p. 341–346, 2002.
- APARECIDO DOS SANTOS-PINTO, J. R. et al. B-cell linear epitopes mapping of antigen-5 allergen from *Polybia paulista* wasp venom. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 1, p. 264–267.e8, jan. 2015.
- ARCURI, H. A. et al. Paulistine—The functional duality of awasp venom peptide toxin. **Toxins**, v. 8, n. 3, 2016.
- BACCARO, F. B. et al. **Guia para os gêneros de formigas do Brasil**. Manaus: Editora Inpa, 2015.
- BAZON, M. L. **Expressão heteróloga, purificação e análise da imunoreatividade do alérgeno antígeno 5 do veneno de *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae)**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista (UNESP), 23 fev. 2017.
- BEYER, K. et al. Anaphylaxis in an emergency setting - Elicitors, therapy and incidence of severe allergic reactions. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 67, n. 11, p. 1451–1456, 2012.
- BILÓ, B. M. et al. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 60, n. 11, p. 1339–1349, 2005.

- BORDON, K. C. F. et al. Arthropod venom Hyaluronidases: Biochemical properties and potential applications in medicine and biotechnology. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 21, n. 1, p. 1–12, 2015.
- BREHLER, R.; GRUNDMANN, S.; STÖCKER, B. Cross-reacting carbohydrate determinants and hymenoptera venom allergy. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 13, n. 4, p. 360–4, 1 ago. 2013.
- BRÜGGER, B. P. et al. Feeding by the Social Wasp *Polybia scutellaris* (Hymenoptera: Vespidae) on *Syzygium jambos* (Myrtaceae) Fruits in Minas Gerais, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 100, n. 1, p. 172–173, 2017.
- BUBLIN, M.; BREITENEDER, H. Cross-reactivity of peanut allergens. **Current Allergy and Asthma Reports**, v. 14, n. 4, 2014.
- CALVETE, J. J. et al. Venoms, venomics, antivenomics. **FEBS Letters**, v. 583, n. 11, p. 1736–1743, 2009.
- COSTA, H.; PALMA, M. S. Agelotoxin: A phospholipase A2 from the venom of the neotropical social wasp cassununga (*Agelaia pallipes pallipes*) (Hymenoptera-Vespidae). **Toxicon**, v. 38, n. 10, p. 1367–1379, 2000.
- DE OLIVEIRA, M. R.; PALMA, M. S. Polybitoxins: A group of phospholipases A2 from the venom of the neotropical social wasp paulistinha (*Polybia paulista*). **Toxicon**, v. 36, n. 1, p. 189–199, 1998.
- DOS SANTOS-PINTO, J. R. A. et al. Using proteomic strategies for sequencing and post-translational modifications assignment of antigen-5, a major allergen from the venom of the social wasp polybia paulista. **Journal of Proteome Research**, v. 13, n. 2, p. 855–865, 2014.
- DOS SANTOS, L. D. et al. Proteomic characterization of the multiple forms of the PLAs from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. **Proteomics**, v. 11, n. 8, p. 1403–1412, 2011.
- DURAN-REYNALS, F. Studies On A Certain Spreading Factor Existing In Bacteria and its Significance For Bacterial Invasiveness. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 58, n. 2, p. 161–81, 31 jul. 1933.
- DUTERTRE, B.; UNDHEIM, E. A. B. Venoms-Based Drug Discovery : Proteomic and Transcriptomic Approaches. In: KING, G. F. (Ed.). . **Venoms to Drugs - Venom as a Source**

for the Development of Human Therapeutics. [s.l.] The Royal Society of Chemistry, 2015. p. 80–96.

FERREIRA, F. et al. Allergic cross-reactivity: from gene to the clinic. **Allergy**, v. 59, n. 3, p. 243–267, 1 mar. 2004.

FERREIRA JUNIOR, R. S. et al. Africanized honey bee (*Apis mellifera*) venom profiling: Seasonal variation of melittin and phospholipase A2 levels. **Toxicon**, v. 56, n. 3, p. 355–362, 2010.

GIANNOTTI, E. Male behavior in colonies of the social wasp *Polistes lanio* (Hymenoptera, Vespidae). **Sociobiology**, v. 43, n. 3, p. 551–555, 2004.

GRAIF, Y. et al. Allergic reactions to insect stings: Results from a national survey of 10,000 junior high school children in Israel. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 117, n. 6, p. 1435–1439, 2006.

GREINER, B. Visual adaptations in the night-active wasp *Apoica pallens*. **Journal of Comparative Neurology**, v. 495, n. 3, p. 255–262, 2006.

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

HEMMER, W. et al. Antibody binding to venom carbohydrates is a frequent cause for double positivity to honeybee and yellow jacket venom in patients with stinging-insect allergy. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 108, n. 6, p. 1045–52, 1 dez. 2001.

HENRIKSEN, A. et al. Major Venom Allergen of YellowJackets, Ves v 5: Structural Characterization of a Pathogenesis-Related Protein Superfamily. **Proteins: Structure, Function, and Genetics**, v. 45, n. June, p. 438–448, 2001.

HOFFMAN, D. R. Allergens in hymenoptera venom XXIV: The amino acid sequences of imported fire ant venom allergens II, III, and IV. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 91, n. 1, p. 71–78, 1993.

HOFFMAN, D. R.; SAKELL, R. H.; SCHMIDT, M. Sol i 1, the phospholipase allergen of imported fire ant venom. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 115, n. 3, p. 611–616, 2005.

HOU, M. H. et al. Crystal structure of vespoid phospholipase A1 reveals insights into the mechanism for cause of membrane dysfunction. **Insect Biochemistry and Molecular**

Biology, v. 68, p. 79–88, 2016.

HOWARD, K. J. et al. Novel method of swarm emigration by the epiponine wasp, *Apoica pallens* (Hymenoptera Vespidae). **Ethology Ecology and Evolution**, v. 14, n. 4, p. 365–371, 2002.

HUNT, J. H.; JEANNE, R. L.; KEEPING, M. G. Observations on *Apoica pallens*, a nocturnal Neotropical social wasp (Hymenoptera: Vespidae, Polistinae, Epiponini). **Insectes Sociaux**, v. 42, n. 3, p. 223–236, 1995.

JAKOB, T. et al. Component resolved diagnostics for hymenoptera venom allergy. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 17, n. 5, p. 363–372, 2017.

JEANNE, R. L. Evolution of Social Behavior in the Vespidae. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 25, p. 371–380, 1980.

JENNINGS, A. et al. Epidemiology of allergic reactions to hymenoptera stings in Irish school children. **Pediatric Allergy and Immunology**, v. 21, n. 8, p. 1166–1170, 2010.

JOHNSON, B. R. et al. Phylogenomics resolves evolutionary relationships among ants, bees, and wasps. **Current Biology**, v. 23, n. 20, p. 2058–2062, 2013.

JUSTO JACOMINI, D. L. et al. Hyaluronidase from the venom of the social wasp *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae): Cloning, structural modeling, purification, and immunological analysis. **Toxicon**, v. 64, p. 70–80, 2013.

JUSTO JACOMINI, D. L. et al. Reactivity of IgE to the allergen hyaluronidase from *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae) venom. **Toxicon**, v. 82, p. 104–111, 2014.

JUTEL, M. et al. International consensus on allergy immunotherapy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 136, n. 3, p. 556–568, 2015.

KEMENY, D. M. et al. The purification and characterisation of hyaluronidase from the venom of the honey bee, *Apis mellifera*. **European journal of biochemistry / FEBS**, v. 139, n. 2, p. 217–223, 1984.

KING, T. P. et al. Protein Allergens of White-Faced Hornet, Yellow Hornet, and Yellow Jacket Venoms. **Biochemistry**, v. 17, n. 24, p. 5165–5174, 1978.

KING, T. P.; SPANGFORT, M. D. Structure and Biology of Stinging Insect Venom Allergens. **International Archives of Allergy and Immunology**, v. 123, n. 2, p. 99–106,

2000.

KROUSE, J. H.; DEREBERY, M. J.; CHADWICK, S. J. **Managing the Allergic Patients**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2008.

LICHTENSTEIN, L.; VALENTINE, M.; SOBOTKA, A. Insect allergy: The state of the art. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 64, n. 1, p. 5–12, 1979.

LOCHER, G. A. et al. The social wasp fauna of a riparian forest in southeastern Brazil (hymenoptera, vespidae). **Sociobiology**, v. 61, n. 2, p. 225–233, 2014.

LOWELL, F. C. The Newer Concept of Allergy to Drugs and Bacteria. **Journal of the American Medical Association**, v. 136, n. 10, p. 665–668, 1948.

LU, G.; KOCHOUMIAN, L.; T.P. KING. **Sequence identity and antigenic cross-reactivity of white face hornet venom allergen, also a hyaluronidase, with other proteins** **Journal of Biological Chemistry**, 1995.

MÄRZ, L.; KÜHNE, C.; MICHL, H. The glycoprotein nature of phospholipase A2, hyaluronidase and acid phosphatase from honey-bee venom. **Toxicon**, v. 21, n. 6, p. 893–896, 1983.

MERTENS, M. et al. Cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the results of the basophil activation test in hymenoptera-venom allergy. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 40, n. 9, p. 1333–1345, 2010.

MEYER, K. et al. Relationship between “Spreading Factor” and Hyaluronidase. **Experimental Biology and Medicine**, v. 44, n. 1, p. 294–296, 1940.

MICHELUTTI, K. B. et al. Opportunistic strategies for capture and storage of prey of two species of social wasps of the genus *Polybia lepeletier* (Vespidae: Polistinae: Epiponini). **Sociobiology**, v. 64, n. 1, p. 105–110, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos**. 2. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2001.

MONSALVE, R. I. et al. Component-resolved diagnosis of vespid venom-allergic individuals: Phospholipases and antigen 5s are necessary to identify *Vespula* or *Polistes* sensitization. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 67, n. 4, p. 528–536, 2012.

- MOTA, G. G. **Atividade de Forrageio e Produtividade Colonial da Vespa Enxameante *Apoica pallens* (Fabricius, 1804)**. [s.l.] UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora, 2016.
- MÜLLER, U. R. Recombinant Hymenoptera venom allergens. **Allergy**, v. 57, n. 7, p. 570–576, 1 jul. 2002.
- NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 6. ed. Artmed: Artmed, 2014.
- PALMA, M. S. Insect Venom Peptides. In: **Handbook of Biologically Active Peptides**. [s.l.] Elsevier, 2006. p. 389–396.
- PEREIRA-BOMFIM, M. DA G. C. Community Structure of Social Wasps (Hymenoptera: Vespidae) in Riparian Forest in Batayporã, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Sociobiology**, v. 59, n. 3, p. 755–765, 5 set. 2014.
- PEREZ-RIVEROL, A. et al. Facing Hymenoptera Venom Allergy: From Natural to Recombinant Allergens. **Toxins**, v. 7, n. 7, p. 2551–2570, 9 jul. 2015.
- PEREZ-RIVEROL, A. et al. Molecular cloning, expression and IgE-immunoreactivity of phospholipase A1, a major allergen from *Polybia paulista* (Hymenoptera: Vespidae) venom. **Toxicon**, v. 124, p. 44–52, 2016.
- PEREZ-RIVEROL, A. et al. Wasp venom: Unravelling the toxins arsenal of *Polybia paulista* venom and its potential pharmaceutical applications. **Journal of Proteomics**, v. 161, p. 88–103, 2017.
- PEREZ-RIVEROL, A. et al. Phospholipase A1-based cross-reactivity among venoms of clinically relevant Hymenoptera from Neotropical and temperate regions. **Molecular Immunology**, v. 93, n. November 2017, p. 87–93, 2018.
- PINTO, J. R. A. DOS S. et al. Proteomic Characterization of the Hyaluronidase (E.C. 3.2.1.35) from the Venom of the Social Wasp *Polybia paulista*. **Protein & Peptide Letters**, v. 19, n. 6, p. 625–635, 2012.
- PODYMA, K. A. et al. Difference of hyaluronidase produced by human tumor cell lines with hyaluronidase present in human serum as revealed by zymography. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 241, n. 2, p. 446–452, 1997.
- SANTOS, B. F. et al. Phylogeny and historical biogeography of the paper wasp genus *Polistes*

- (Hymenoptera: Vespidae): Implications for the overwintering hypothesis of social evolution. **Cladistics**, v. 31, n. 5, p. 535–549, 2015.
- SANTOS, L. D. et al. Purification, sequencing and structural characterization of the phospholipase A1 from the venom of the social wasp *Polybia paulista* (Hymenoptera, Vespidae). **Toxicon**, v. 50, n. 7, p. 923–937, 2007.
- SCHMIDT, J. O. Clinical consequences of toxic envenomations by Hymenoptera. **Toxicon**, v. 150, p. 96–104, 2018.
- SCHUMACHER, M. J.; NED, B. Significance of Africanized Bees for Public Health. **Archives of Internal Medicine**, v. 155, n. 19, p. 2038–2043, 1995.
- SHI, Y. et al. Propolis, colophony, and fragrance cross-reactivity and allergic contact dermatitis. **Dermatitis**, v. 27, n. 3, p. 123–126, 2016.
- SOMAVILLA, A.; DE OLIVEIRA, M. L.; RAFAEL, J. A. Social wasps (Vespidae: Polistinae) from two National Parks of the Caatinga Biome, in Brazil. **Sociobiology**, v. 64, n. 3, p. 334, 17 out. 2017.
- SOMAVILLA, A.; OLIVEIRA, M. L. DE; SILVEIRA, O. T. Guia de identificação dos ninhos de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) na Reserva Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 4, p. 405–414, 2012.
- SON, D. J. et al. Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 115, n. 2, p. 246–270, 2007.
- TELLERIA, M. C. Plant resources foraged by *Polybia scutellaris* (Hym. Vespidae) in the argentine pampas. **Grana**, v. 35, n. 5, p. 302–307, 1996.
- THOMAS, W. R. Broad perspectives of allergen specific immunotherapy. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**, v. 13, n. 10, p. 2385–2389, 2017.
- TOGNI, O. C. et al. List The Social Wasp Community (Hymenoptera, Vespidae) in an Area of Atlantic Forest, Ubatuba, Brazil. **Check List**, v. 10, n. 1, p. 10–17, 2014.
- TREWILLIGER, T. C.; EISENBERG, D. The structure of melittin. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 257, n. 11, p. 6016–6022, 1981.
- VALENTA, R. et al. Recombinant allergens for allergen-specific immunotherapy: 10 years

anniversary of immunotherapy with recombinant allergens. **Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 66, n. 6, p. 775–783, 2011.

VAN VAERENBERGH, M. et al. Extending the honey bee venom with the antimicrobial peptide apidaecin and a protein resembling wasp antigen 5. **Insect Molecular Biology**, v. 22, n. 2, p. 199–210, 2013.

VAN VAERENBERGH, M. et al. IgE recognition of chimeric isoforms of the honeybee (*Apis mellifera*) venom allergen Api m 10 evaluated by protein array technology. **Molecular Immunology**, v. 63, n. 2, p. 449–455, 2015.

VINZÓN, S. E. et al. Molecular cloning and expression in *Pichia pastoris* of a hypoallergenic antigen 5. **Protein Expression and Purification**, v. 73, n. 1, p. 23–30, 2010.

YSHII, L. M. et al. Characterization of the mechanisms underlying the inflammatory response to *Polistes lanio lanio* (paper wasp) venom in mouse dorsal skin. **Toxicon**, v. 53, n. 1, p. 42–52, 2009.