

Đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau của nọc ong trên chuột được gây mô hình viêm khớp

- **Cần Văn Mão**
- **Nguyễn Thị Hoa**
Bộ môn Sinh lý học, Học viện Quân Y
- **Lê Hữu Thọ**
- **Nguyễn Trung Nhân**
- **Nguyễn Xuân Hải**
- **Đỗ Văn Nhật Trường**
- **Nguyễn Thị Thanh Mai**
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 17 tháng 11 năm 2015, nhận đăng ngày 06 tháng 05 năm 2016)

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau của nọc ong đã được rất nhiều nhà khoa học trên thế giới thực hiện. Trên động vật thực nghiệm, nọc ong đã cho thấy khả năng chống viêm. Sử dụng nọc ong thủy châm vào các huyết đạo được cho là có kết quả mạnh hơn các phương pháp khác. Nghiên cứu của chúng tôi tiến hành trên 60 chuột chia thành 5 nhóm: nhóm chứng, nhóm gây viêm khớp (bằng dung dịch adjuvant complete) điều trị nước muối, nhóm gây viêm điều trị bằng nọc ong (3 liều khác nhau: 0,5 mg/kg; 1 mg/kg và 1,5 mg/kg tiêm vào huyết túc tam lý) và nhóm gây viêm điều trị bằng Mobic

Từ khóa: nọc ong, nhiệt độ, giảm đau, bạch cầu, hồng cầu

(liều 1 mg/kg). Kết quả nhận thấy: dung dịch adjuvant complete (liều 50 μ L tiêm bàn chân chuột duy nhất một lần) gây nên tình trạng viêm khớp, tăng nhiệt độ, gây đau tại bàn chân chuột, tăng bạch cầu và giảm nhẹ hồng cầu trong máu ngoại vi. Nọc ong (liều 1 mg/kg và 1,5 mg/kg) có tác dụng giảm đau, giảm nhiệt độ tại chỗ trên bàn chân chuột, giảm nhẹ số lượng bạch cầu và hồng cầu trong máu ngoại vi trong thời gian 21 ngày sau khi gây viêm. Tác dụng của nọc ong liều 1,5 mg/kg tương tự như Mobic liều 1 mg/kg trên chuột.

MỞ ĐẦU

Theo đông y, nọc ong (Bee Venom), được sử dụng trong điều trị một số chứng bệnh khá hiệu quả, như u bã đậu (mà không cần phẫu thuật), cai nghiện ma túy, viêm khớp... Đã có nhiều nghiên cứu cho thấy tác dụng chữa bệnh của nọc ong như sử dụng làm các dạng cao xoa giảm đau, chống viêm, cho ong đốt trực tiếp vào các huyết tương ứng trên cơ thể... Hiệu quả chữa bệnh của nọc ong đã được thể hiện trên người và động vật

và một số nghiên cứu đã cho thấy cơ chế chống viêm của nọc ong là do một số hợp chất như: enzyme A2 (phospholipase, hyaluronidase...), các phân tử protein, peptid (Melittin, secapin...), và một số hợp chất có phân tử nhỏ (Histamin, dopamin, norepinephrin...) [1].

Nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm, giảm đau của nọc ong đã được rất nhiều nhà khoa học trên thế giới thực hiện. Trên động vật thực nghiệm, nọc ong cho thấy khả năng chống viêm

nói chung và đặc biệt là tình trạng viêm khớp trên chuột bị ức chế khi điều trị bằng nọc ong [1, 3]. Có rất nhiều cách thức sử dụng nọc ong trong điều trị trên thực nghiệm như: tiêm dưới da, tiêm bắp... Tuy nhiên sử dụng nọc ong thủy châm vào các huyết đạo được cho là có kết quả mạnh hơn các phương pháp khác [4, 5]. Có rất nhiều mô hình gây viêm khớp trên động vật thực nghiệm như: gây viêm khớp bằng tá chất (adjuvant), carrageenan hoặc lipopolysaccharide (LPS), trong đó mô hình gây viêm khớp khi sử dụng dung dịch tá chất Freund hoàn toàn (Complete Freund's adjuvant) đã được nhiều tác giả áp dụng đây có thể được coi là mô hình gây viêm khớp điển hình [6, 7]. Đặc biệt là trong đánh giá tác dụng chống viêm giảm đau của nọc ong mô hình này được sử dụng rất rộng rãi [7].

Nọc ong và các thành phần của nó cũng đã được báo cáo là hiệu quả trong điều trị các tình trạng viêm khớp ở người [1, 6]. Việc ứng dụng cách chữa bệnh bằng nọc ong này từng được tiến hành ở một số quốc gia trên thế giới, trong đó có cả Việt Nam. Hiện tại trong nước chưa thấy có nhiều công trình nghiên cứu về tác dụng chống viêm giảm đau của nọc ong trên thực nghiệm và lâm sàng. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục đích đánh giá tác dụng chống viêm của nọc ong nuôi ở Việt Nam thủy châm huyết túc tam lý (Zusanli) trên động vật thực nghiệm được gây viêm khớp bằng tá chất.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Chuột cống trắng trưởng thành (cân nặng 150–200 g) được mua từ ban chăn nuôi Học viện Quân Y chia thành 6 nhóm, mỗi nhóm 10 con.

Nhóm 1 (nhóm chứng): không gây viêm khớp, điều trị bằng dung dịch NaCl 0,9 %.

Nhóm 2: gây viêm khớp, điều trị bằng dung dịch NaCl 0,9 %.

Nhóm 3: gây viêm khớp, điều trị bằng nọc ong liều 0,5 mg/kg.

Nhóm 4: gây viêm khớp, điều trị bằng nọc ong liều 1 mg/kg.

Nhóm 5: gây viêm khớp, điều trị bằng nọc ong 1,5 mg/kg.

Nhóm 6: gây viêm khớp, điều trị bằng Mobic (Boehringer Ingelheim Ελλάς A.E, Hy Lạp, Meloxicam 7,5 mg) liều 1 mg/kg.

Nọc ong được chiết xuất từ ong mật *Apis mellifera*, nuôi tại trang trại của ông Lê Minh Điền, Ấp Đồng Nhon, xã Lương Quới, huyện Giồng Trôm, tỉnh Bến Tre bằng thiết bị thu thập nọc dựa trên cơ chế sốc điện.

Phương pháp gây viêm khớp và sử dụng thuốc, nọc ong điều trị

Dung dịch tá chất Freund hoàn toàn (có chứa vi khuẩn *Mycobacterium butyricum*, Sigma Aldrich) tiêm liều duy nhất dưới da (50 μ L) vào bàn chân sau bên phải (chuột được gây mê bằng thiopentane) để gây viêm khớp cổ chân của chuột. Nhóm chứng được tiêm nước muối sinh lý liều tương đương vào cùng vị trí.

Nọc ong ở các liều lượng khác nhau (0,5 mg/kg; 1 mg/kg; 1,5 mg/kg) được hòa tan trong nước muối và tiêm dưới da vào đúng huyết túc tam lý, ở phía dưới gò chày ngoài gần khớp gối (nằm giữa xương chày và xương mác, phía ngoài cách lồi củ trước xương chày 5 mm, trong cơ chày trước) trong 3 tuần liên tục bằng bơm tiêm 0,3 mL đầu kim nhỏ (0,2 x 10 mm) để không gây kích thích viêm khi tiêm nhiều lần.

Nước muối sinh lý được sử dụng tương ứng với thể tích nọc ong và tiêm dưới da vào đúng huyết (Túc tam lý) trong 3 tuần liên tục

Phương pháp đánh giá mức độ viêm và đau khớp

Đánh giá cảm giác đau bằng nhiệt

Nguyên lý: sử dụng kích thích nhiệt tác động vào chân gây đau làm chuột sẽ co chân lại, nếu chuột bị đau chân do viêm trước đó gây nên tình trạng tăng cảm và chuột sẽ co chân lại sớm hơn.

Xác định thời gian từ khi kích thích đến khi chuột phản ứng với kích thích nhiệt sẽ cho thấy được mức độ đau của chuột.

Qui trình: Chuột được cho vào buồng bằng nhựa có đáy bằng kính (hot-plate) và được làm quen trong vòng 5 phút. Sau đó nguồn nhiệt sẽ được đặt phía dưới của sàn, ngay dưới hai chân sau. Cường độ của kích thích được tính toán sao cho bình thường chuột sẽ co chân lại trong khoảng 50 giây. Thời gian tính từ khi kích thích nhiệt đến khi chuột co chân lại được ghi cho cả hai chân sau của chuột. Lặp lại thí nghiệm sau 5 phút nghỉ giữa chừng với mỗi chân. Thí nghiệm này được đánh giá ở thời điểm sau 6 ngày tiêm thuốc gây viêm khớp, cứ 3 ngày lại ghi lại một lần.

Đánh giá nhiệt độ tại khớp cổ chân của chuột

Nguyên lý: khi bị viêm nhiệt độ tại vùng khớp viêm sẽ tăng lên, đánh giá nhiệt độ của khớp sẽ cho thấy được mức độ viêm.

Cách xác định: Chuột được giữ thoải mái trên tay, trong phòng được duy trì nhiệt độ môi trường khoảng 26 °C, nhiệt độ tại khớp cổ chân được đo bằng sử dụng nhiệt kế hồng ngoại (thời gian đo trong vòng 3 giây). Thông số này được đo hằng ngày từ ngay trước khi tiêm thuốc gây viêm khớp và trong suốt quá trình điều trị.

Đánh giá mức độ viêm bằng các xét nghiệm huyết học.

Sau 3 tuần điều trị bằng nọc ong, chuột được lấy máu ngoại vi để xét nghiệm các chỉ số về huyết học: Hồng cầu, Bạch cầu, tỷ lệ phần trăm các loại bạch cầu.

Thống kê và xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu được xử lý và thống kê bằng sử dụng phần mềm Microsoft Excel 2007 và phần mềm SPSS version 20. Kết quả nghiên cứu về tiềm thời đáp ứng với kích thích nhiệt, nhiệt độ tại khớp cổ chân và các thông số huyết học của các nhóm gây viêm khớp điều trị bằng nọc ong và Mobic được so sánh với nhóm chứng và nhóm chứng dương gây viêm không điều trị cùng một ngày bằng sử dụng phân tích phương sai một chiều (one way ANOVA)

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đánh giá cảm giác đau bằng nhiệt

Bảng 1 cho thấy, thời gian đáp ứng với kích thích nhiệt của chuột ở nhóm chứng không có sự biến đổi theo thời gian từ ngày thứ 6 đến 21 sau khi tiêm. Trong khi thông số này ở chuột thuộc các nhóm còn lại lại có xu hướng tăng lên theo thời gian. Chuột gây viêm khớp bằng adjuvant (liều 50 μ L) và điều trị bằng nước muối có thời gian phản ứng với kích thích nhiệt nhanh hơn so với nhóm chứng và các nhóm còn lại. Điều này có lẽ do chuột thuộc nhóm chứng không bị viêm khớp nên cảm nhận với kích thích nhiệt không có sự biến đổi theo thời gian, trong khi chuột ở các nhóm còn lại bị gây viêm khớp. Ở giai đoạn đầu do đau nên tăng nhận cảm với kích nhiệt sau đó đau giảm dần theo thời gian nên cảm nhận với kích thích nhiệt cũng giảm đi. Nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với một số tác giả khi gây viêm khớp trên chuột cống bằng adjuvant thấy tăng cảm nhận với các kích thích xúc giác [5, 7].

Bảng 1. Tiềm thời đáp ứng với kích thích nhiệt của chuột (giấy)

Lô	Ngày 6	Ngày 9	Ngày 12	Ngày 15	Ngày 18	Ngày 21
1	42,09 ± 8,54	41,86 ± 11,63	39,97 ± 10,30	43,27 ± 7,81	44,09 ± 7,27	45,38 ± 7,05
2	16,88 ± 5,78 ^{a2}	19,42 ± 4,47 ^{a2}	20,78 ± 6,35 ^{a2}	23,05 ± 8,09 ^{a2}	25,91 ± 3,99 ^{a2}	27,00 ± 9,37 ^{a2}
3	19,57 ± 6,18 ^{a2}	23,77 ± 4,88 ^{a2}	24,60 ± 5,99 ^{a1}	28,80 ± 5,50 ^{a1}	29,36 ± 5,77 ^{a1}	32,95 ± 6,89 ^{a1}
4	24,96 ± 4,43 ^{a2}	28,35 ± 6,48 ^{a1}	30,03 ± 6,88	32,75 ± 7,84	32,27 ± 13,03	31,09 ± 6,59 ^{a1}
5	29,26 ± 6,54 ^{a1,b2}	33,12 ± 4,89 ^{a1,b2}	34,46 ± 6,30 ^{b2}	33,66 ± 8,81 ^{b2}	34,00 ± 7,85	37,55 ± 10,62 ^{b1}
6	28,26 ± 6,78 ^{a1,b2}	35,15 ± 7,23 ^{b2}	36,06 ± 10,62 ^{b2}	34,59 ± 6,83 ^{b2}	34,18 ± 8,62	36,27 ± 8,81

(^{a1} : $p < 0,05$, ^{a2} : $p < 0,01$: so sánh với lô 1 (nhóm chứng) cùng ngày)

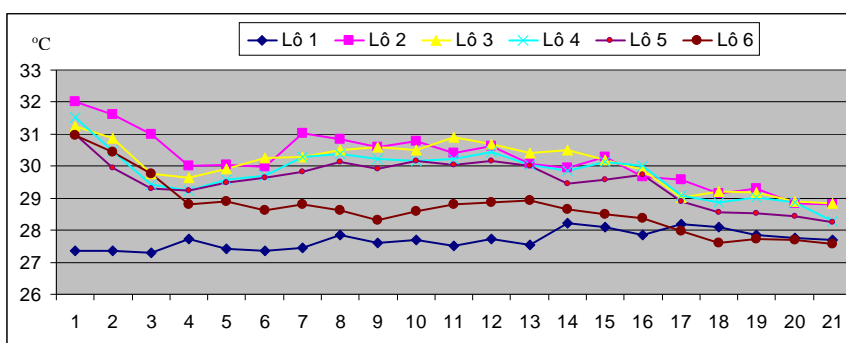
(^{b1} : $p < 0,05$, ^{b2} : $p < 0,01$: so sánh với lô 2 (nhóm chứng dương không điều trị) cùng ngày)

Điều trị bằng nọc ong (liều 1 mg/kg và 1,5 mg/kg) và Mobic (liều 1 mg/kg) có tác dụng kéo dài thời gian phản ứng với kích thích nhiệt của chuột được gây viêm khớp bằng adjuvant. Kết quả này cho thấy nọc ong liều 1 mg/kg và 1,5 mg/kg có tác dụng giảm đau, giảm nhận cảm với kích thích nhiệt. Mobic là thuốc đã được sử dụng rộng rãi trong lâm sàng và có tác dụng chống viêm giảm đau rất mạnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng nhận thấy Mobic làm giảm thời gian phản ứng với kích thích nhiệt của chuột, tức là có tác dụng giảm đau rõ ràng. Tác dụng giảm đau của Mobic cũng gần tương tự như khi sử dụng nọc ong liều 1,5 mg/kg. Kết quả này cũng tương tự như một số tác giả thấy nọc ong có tác dụng giảm viêm, giảm đau tại chỗ viêm [4, 5]

Đánh giá nhiệt độ tại khớp cổ chân của chuột

Hình 1 cho thấy, chuột thuộc nhóm chứng có nhiệt độ tại khớp cổ chân hầu như không có sự

biến đổi theo thời gian nghiên cứu (dao động từ 27,3 °C đến 28,2 °C). Chuột ở các nhóm còn lại (bị gây viêm khớp) thì nhiệt độ tại khớp cổ chân tăng cao ở các ngày đầu sau đó giảm dần theo thời gian và ít biến đổi từ ngày 17 đến 21 sau tiêm, nhưng vẫn cao hơn so với nhóm chứng. Điều này chứng tỏ quá trình tiêm nước muối hằng ngày không gây viêm tại chỗ khớp cổ chân chuột, ngược lại dung dịch adjuvant complete gây viêm, làm tăng nhiệt độ tại chỗ ngay sau tiêm. Quá trình viêm ở giai đoạn đầu mạnh nên nhiệt độ tăng cao, sau đó viêm giảm dần nên nhiệt độ tại chỗ xung quanh vùng viêm cũng giảm dần (ngay cả ở nhóm điều trị bằng nước muối). Kết quả này tương tự như nhiều nghiên cứu khác khi sử dụng adjuvant trên chuột nhận thấy dung dịch adjuvant gây viêm, làm tăng nhiệt độ tại chỗ xung quanh vùng viêm [3, 4].



Hình 1. Nhiệt độ (°C) tại khớp cổ chân chuột trong 3 tuần nghiên cứu

Trong phản ứng viêm thường làm cho nhiệt độ tại chỗ xung quanh vùng viêm tăng lên, khi viêm giảm thì nhiệt độ cũng giảm. Trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng nọc ong và Mobic tiêm hằng ngày tại huyết túc tam lý nhận thấy nhiệt độ tại khớp cổ chân giảm hơn so với khi dùng điều trị bằng nước muối. Tác dụng này thấy rõ ở các ngày đầu (từ ngày 1 đến ngày 4) sau tiêm, ở giai đoạn sau Mobic có tác dụng giảm rõ rệt hơn so với nọc ong và ở các ngày 17 đến 21 nhiệt độ của chuột ở nhóm điều trị bằng Mobic trở về như bình thường so với nhóm chứng. Kết quả này cho thấy tác dụng chống viêm giảm nhiệt độ tại chỗ xung quanh vùng viêm của nọc ong (liều 1,5 mg) gần tương đương với tác dụng của Mobic (liều 1 mg/kg).

Thông số huyết học

Bảng 2 cho thấy, bạch cầu ở chuột được gây viêm khớp tăng so với chuột thuộc nhóm chứng, điều này chứng tỏ quá trình viêm khớp đã có tác động đến cơ thể gây kích thích tủy xương tăng sinh tế bào bạch cầu. Sự tăng bạch cầu chủ yếu ở các loại tế bào bạch cầu lympho, bạch cầu monocyte và bạch cầu đa nhân ưa acid (%lym và

% mid tăng) mà bạch cầu đa nhân trung tính thì không tăng. Kết quả này là do xét nghiệm được thực hiện ở giai đoạn sau 3 tuần điều trị nên lúc này giai đoạn viêm cấp tính đã qua chỉ còn lại quá trình viêm mãn tính. Sử dụng thuốc Mobic và nọc ong điều trị có xu hướng làm giảm số lượng bạch cầu tuy nhiên vẫn không trở về được bình thường như nhóm chứng. Điều này cũng phù hợp với trên thực tế sau 3 tuần điều trị viêm khớp của chuột vẫn chưa hết, còn thấy các biểu hiện sưng, nóng, đỏ trên chân chuột. Kết quả này cũng tương tự với một số tác giả nghiên cứu thấy nọc ong có tác dụng làm giảm số lượng bạch cầu trên chuột được tiêm dung dịch adjuvant complete [7, 8]

Số lượng hồng cầu của chuột ở các nhóm gây viêm khớp có xu hướng giảm hơn so với nhóm chứng. Tuy nhiên hầu như không có sự khác biệt về số lượng hồng cầu của chuột thuộc các nhóm này. Kết quả này có lẽ do chuột bị đau do gây viêm khớp nên khả năng vận động, ăn uống kém hơn so với nhóm chuột bình thường dẫn đến số lượng hồng cầu giảm hơn so với nhóm chứng.

Bảng 2. Thông số huyết học của chuột sau 3 tuần điều trị

Lô	Bạch cầu ($\times 10^9$ BC/L)	Hồng cầu ($\times 10^{12}$ HC/L)	LYM (%)	MID (%)	GRAN (%)
1	8,19 \pm 1,91	7,239 \pm 1,30	65,61 \pm 9,16	16,08 \pm 2,55	18,31 \pm 8,69
2	11,15 \pm 3,38 ^{a1}	6,343 \pm 0,34	66,68 \pm 9,40	17,67 \pm 3,68	15,65 \pm 7,30
3	10,16 \pm 1,97 ^{a1}	6,449 \pm 0,39	67,61 \pm 7,47	16,9 \pm 3,77	15,49 \pm 6,49
4	10,48 \pm 5,92 ^{a1}	6,619 \pm 0,51	64,5 \pm 8,13	17,73 \pm 4,35	17,77 \pm 6,11
5	9,69 \pm 6,55	6,695 \pm 0,54	68,53 \pm 9,54	15,88 \pm 3,26	15,59 \pm 6,97
6	9,98 \pm 1,11	6,593 \pm 0,43	68,22 \pm 6,28	15,19 \pm 2,51	16,59 \pm 4,79

(^{a1} : $p < 0,05$, ^{a2} : $p < 0,01$: so sánh với lô 1 (nhóm chứng) cùng ngày)

KẾT LUẬN

Dung dịch adjuvant complete (liều 50 μ L tiêm bàn chân chuột duy nhất một lần) gây nên tình trạng viêm khớp, tăng nhiệt độ, giảm thời gian tiềm đáp ứng với kích thích nhiệt (gây đau)

tại bàn chân chuột. Nọc ong (liều 1 mg/kg và 1,5 mg/kg) tiêm vào huyết túc tam lý hằng ngày có tác dụng giảm đau, giảm nhiệt độ tại chỗ trên bàn chân chuột trong thời gian 21 ngày sau khi gây

viêm. Tác dụng của nọc ong liều 1,5 mg/kg tương tự như Mobic liều 1 mg/kg trên chuột. Ngoài ra, chuột được tiêm dung dịch adjuvant complete có số lượng bạch cầu tăng và số lượng hồng cầu giảm nhẹ trong máu ngoại vi sau 21 ngày tiêm. Điều trị bằng nọc ong và Mobic làm giảm nhẹ số

lượng bạch cầu nhưng hầu như không có tác dụng với chỉ số hồng cầu sau 21 ngày điều trị

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở KHCN TP. HCM đã tài trợ cho nghiên cứu này

Anti-inflammatory effects of the bee venom in experimental arthritis rats

- **Can Van Mao**
- **Nguyen Thi Hoa**
Vietnam Military Medical University
- **Le Huu Tho**
- **Nguyen Trung Nhan**
- **Nguyen Xuan Hai**
- **Do Van Nhat Truong**
- **Nguyen Thi Thanh Mai**
University of Science, VNU-HCM

ABSTRACT

Study on anti-inflammatory, pain reduction effects of bee venom have been executed by many scientists in the world. On the experimental animals, bee venom has shown anti-inflammatory capabilities and using bee venom in point accupunture got more efficiency than other methods. Our study conducted on 60 rats divided into 5 groups: control group, arthritis group (with complete adjuvant solution) plus saline treatment, arthritis group plus bee venom treatment (doses: 0.5 mg/kg, 1 mg/kg and 1.5 mg/kg) and arthritis group plus Mobic treatment (1 mg/kg), bee venom and Mobic were

administered in zusalin acupuncture point in rat's hind limb. Results showed: complete adjuvant solution (the only dose of 50 μ L injected at rat's hind limb) induced the joint inflammation, temperature increase, pain in rat's hind limb, leukocytosis and erythrocyte reduction in peripheral blood. Bee venom (1 mg/kg and 1.5 mg/kg) induced the analgesic effect, temperature reduction in on rat's hind limb and slight leukocytosis in peripheral blood in 21 days after adjuvant injection. The anti-inflammatory effect of bee venom (1.5 mg/kg) is similar to Mobic (1 mg/kg) on rats.

Key words: bee venom, temperature, pain, leukocytes, erythrocytes

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. H.J. Park, S.H. Lee, D.J. Son, K.W. Oh, K.H Kim., H.S. Song, G.J. Kim, G.T. Oh, D.Y. Yoon, J.T. Hong, Antiarthritic effect of bee venom, *Arthritis Rheum*, 50, 3504-3515 (2004).
- [2]. J.L. Eiseman, J. von Bredow, A.P. Alvares, Effect of honeybee (*Apis mellifera*) venom on the course of adjuvant-induced arthritis and depression of drug metabolism in the rat, *Biochem Pharmacol*, 31, 1139-1146 (1982).

- [3]. S.S. Kang, S.C. Pak, S.H. Choi, The effect of whole bee venom on arthritis, *Am J Chin Med*, 30, 73-80 (2002).
- [4]. Y.B. Kwon, J.H. Lee, H.J. Han, W.C. Mar, A.J. Beitz, H.J. Lee, Bee venom injection into an acupuncture point reduces arthritis associated edema and nociceptive responses, *Pain*, 90, 271-280 (2001).
- [5]. D.M. Seo, D.S. Park, S.G. Kang, The analgesic effect of bee venom acupuncture and its mechanism in the rat model with adjuvant-induced arthritis, *J Kor Acu Mox Soc*, 20 85-97 (2003).
- [6]. T. Roy, S. Ghosh, Animal models of rheumatoid arthritis correlation and usefulness with human rheumatoid arthritis, *Indo Amer J Pharm Res*, 3 6131-6142 (2013).
- [7]. A. Bendele, Animal models of rheumatoid arthritis, *J Musculoskel Neuron Interact*, 1, 377-385 (2001).
- [8]. J.Y. Lee, S.S. Kang, J.H. Kim, C.S. Bae, S.H. Choi, Inhibitory effect of whole bee venom in adjuvant-induced arthritis, *In vivo*, 19, 801-806 (2005).