

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – UNISO

*TRABALHO COMPLETO CONTENDO ARTIGOS CIENTÍFICOS. AGUARDANDO A PUBLICAÇÃO DOS RESULTADOS

Título: NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs) – EFEITOS SOBRE LESÕES DE NERVO PERIFÉRICO E MÚSCULO DE ROEDORES E AVALIAÇÃO DE MUTAGENICIDADE (TESTE DE AMES)

Autora: Débora Antunes Neto Moreno

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Yoko Oshima Franco

RESUMO

Introdução: As Nanopartículas de prata (AgNPs) possuem características antimicrobianas e esta razão tem inúmeras aplicações medicinais, incluindo lesões teciduais. **Objetivos:** Portanto o objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia de AgNPs 50 nm em modelos experimentais de lesão e a toxicidade. **Metodologia:** Foram utilizados 2 (dois) modelos **a) ex vivo**, em preparações nervo frênico-diafragma de camundongos, usando como ferramenta farmacológica o veneno de *Bothrops jararacussu* (Bjssu, 60 µg/mL), reconhecidamente neurotóxico e miotóxico, através de técnica miográfica. Os músculos resultantes dos ensaios *ex vivo* foram analisados através de microscopia de luz e comparados com controle de solução nutritiva de Tyrode. **b) in vivo**, em modelo de queimadura de segundo grau induzido por um dispositivo metálico através de contato térmico, em ratos. A recuperação da lesão causada por queimadura foi comparada macroscópica e diariamente por 28 dias frente ao tratamento com AgNPs e comparado com salina (não tratado). Nos 7^o, 14^o, 21^o e 28^o dias, dois animais de cada grupo foram sacrificados e a área da queimadura foi analisada macroscopicamente (análise de imagem – fotografia) e por microscopia de luz. Foi analisado a toxicidade e mutagenicidade: O teste de Ames foi conduzido com e sem ativação metabólica, em misturas de veneno com AgNPs e comparadas com controles de veneno e AgNPs, isoladamente, após ensaios preliminares de toxicidade. **Resultados:** Na JNM apenas $37,2 \pm 6,0\%$ das fibras musculares mostraram-se fisiologicamente ativas perante a exposição ao veneno, ao final de 120 minutos, enquanto a neutralização deste efeito do veneno, pelas AgNPs, garantiu o funcionamento de $74,7 \pm 4,3\%$ das fibras musculares. Nas queimaduras, as AgNPs não apresentaram diferença significativa na cicatrização da queimadura, nem no peso dos fígados dos animais, entretanto foi observada a presença de hemorragias na cavidade abdominal dos animais E7 e diferenças na coloração e consistência dos mesmos, mostraram diferenças em níveis de GSH, podendo indicar hepatotoxicidade. As AgNPs na ausência de ativação metabólica não apresentaram mutagenicidade a nenhuma cepa. Entretanto, quando

ativados metabolicamente elas mostraram-se mutagênicas nas cepas TA98 e TA100. O veneno de Bjsu, na ausência do sistema de metabolização mostrou-se mutagênico à cepa TA100. Quando acrescentou-se o sistema de metabolização mostrou-se mutagênico em todas as cepas. Na mistura, na ausência de ativação metabólica, não foram mutagênicos a nenhuma cepa. Entretanto, quando ativados metabolicamente elas mostraram-se mutagênicas nas cepas TA97a e TA98. **Conclusão:** Os resultados obtidos mostraram que as AgNPs foram eficazes contra o bloqueio neuromuscular, mas não contra o efeito miotóxico, induzidos pelo veneno de Bjsu; não apresentou vantagens no processo de cicatrização da lesão causada por queimadura de segundo grau comparativamente ao soro fisiológico, ao final de 28 dias. Para o teste de Ames, os resultados em conjunto mostram que as AgNPs atenuam *in vitro* o efeito mutagênico do veneno.

Palavras-chave: Nanopartículas de Prata, *Bothrops jararacussu*, Queimadura de Segundo Grau, Teste de Ames.

ABSTRACT

Introduction: Silver nanoparticles (AgNPs) have antimicrobial properties and this reason has numerous medical applications, including tissue lesions. **Objectives:** Therefore, the objective of this study was to evaluate the efficacy of 50 nm AgNPs in experimental lesion models and toxicity. **Methods:** Two (a) *ex vivo* models were used in phrenic-diaphragmatic nerve preparations of mice, using as a pharmacological tool the venom of *Bothrops jararacussu* (Bjsu, 60 µg/mL), recognized as neurotoxic and myotoxic using a myographic technique. The muscles resulting from the *ex vivo* assays were analyzed by light microscopy and compared with Tyrode's nutrient solution control. b) *in vivo*, in a second-degree burn model induced by a metallic device through thermal contact, in rats. Burn injury recovery was compared macroscopically and daily for 28 days against AgNPs treatment and compared to saline (untreated). On the 7th, 14th, 21st and 28th days, two animals from each group were sacrificed and the burn area was analyzed macroscopically (image - photo analysis) and by light microscopy. Toxicity and mutagenicity were analyzed: The Ames test was conducted with and without metabolic activation in venom mixtures with AgNPs and compared with venom controls and AgNPs, alone, after preliminary toxicity tests. **Results:** At the JNM, only $37.2 \pm 6.0\%$ of the muscle fibers were physiologically active against exposure to the venom at the end of 120 minutes, while the neutralization of this poison effect by the AgNPs guaranteed the functioning of $74, 7 \pm 4.3\%$ of muscle fibers. In the burns, the AgNPs showed no significant difference in burn healing or in the animals' livers weight. However, the presence of hemorrhages in the abdominal cavity of E7 animals and differences in color and consistency of the animals showed differences in GSH levels, and may indicate hepatotoxicity. AgNPs in the absence of metabolic activation did not show mutagenicity to any strain. However, when activated metabolically they were mutagenic in strains TA98 and TA100. The Bjsu venom, in the absence of the metabolism system, was mutagenic to the TA100 strain. When added the metabolism

system was mutagenic in all strains. In the mixture, in the absence of metabolic activation, they were not mutagenic to any strain. However, when metabolically activated they were mutagenic in strains TA97a and TA98.

Conclusion: The results obtained showed that the AgNPs were effective against the neuromuscular block, but not against the myotoxic effect, induced by the *Bjssu* venom; did not present advantages in the healing process of the lesion caused by second degree burn compared to the saline solution at the end of 28 days. For the Ames test, the results together show that AgNPs attenuates in vitro the mutagenic effect of venom.

Key words: Silver Nanoparticles, Ames Test, *Bothrops jararacussu*, Second-Degree Scald Burn.