

Apesar do potencial das nanopartículas de prata, ainda
são necessários avanços nas formulações para o

TRATAMENTO DE ACIDENTES OFÍDICOS

Although silver nanoparticles show great potential,
advances in formulations are still required for the

TREATMENT OF SNAKEBITES

Por/By: Guilherme Profeta
Fotos/Photos: Fernando Rezende

Acidentes envolvendo animais peçonhentos — como as aranhas, os escorpiões e as serpentes — configuram a segunda causa mais recorrente de envenenamento em seres humanos no Brasil (ficando atrás somente da intoxicação por medicamentos). Contudo, nem todo animal venenoso pode ser considerado **PEÇONHENTO**, o que significa que algumas ocorrências de envenenamento podem ser causadas, também, por animais não peçonhentos. É o caso da serpente *Philodryas olfersii*, conhecida popularmente como cipó-listrada, que possui glândulas de veneno, mas cuja denteição tem um formato que dificulta sua inoculação, fazendo assim com que ela seja considerada não peçonhenta.

PARA SABER MAIS: A DIFERENÇA ENTRE ANIMAIS PEÇONHENTOS E VENENOSOS

Nem todo animal venenoso é peçonhento, mas todo animal peçonhento é venenoso. Parece complicado, mas não é: um peixe baiacu, por exemplo, é venenoso, porque seu corpo produz substâncias tóxicas a outros seres vivos, porém ele não pode ser considerado peçonhento, porque não consta em sua anatomia nenhum instrumento voltado a inocular ativamente esse veneno em outros organismos. Diferentemente do baiacu, animais como as aranhas, os escorpiões e as serpentes possuem essas estruturas (que podem ser agulhões, ferrões ou dentes, por exemplo), sendo considerados, portanto, peçonhentos.

TO KNOW BETTER: THE DIFFERENCE BETWEEN VENOMOUS AND POISONOUS ANIMALS

Not every poisonous animal is venomous, but every venomous animal is poisonous. It may seem complicated, but it is not: a pufferfish, for example, is poisonous because its body produces substances that are toxic to other living beings; however, it cannot be considered venomous because it does not have any anatomical structure designed to actively deliver this toxin to other organisms. Unlike the pufferfish, animals such as spiders, scorpions, and snakes possess these structures (which can be stingers, fangs, or similar apparatuses) and are therefore considered venomous.

Acidentes envolvendo seres humanos e a *P. olfersii*, especialmente em ambientes rurais, podem ser facilitados pelo comportamento tipicamente

Accidents involving venomous animals — such as spiders, scorpions, and snakes — constitute the second most common cause of poisoning in humans in Brazil (behind only drug intoxication). However, not every poisonous animal can be considered **VENOMOUS**, which means that some cases of poisoning may also be caused by non-venomous animals. This is the case of the snake *Philodryas olfersii*, commonly known in Brazilian Portuguese as “cipó-listrada,” which does have venom glands, but whose teeth are shaped in a way that makes venom delivery quite difficult, and are therefore considered a non-venomous species.

Accidents involving humans and *P. olfersii*, especially in rural environments, may be facilitated by the typically diurnal behavior of this species,



Jaqueline de Cássia P. Assunção e sua orientadora, a professora doutora Yoko O. Franco

Jaqueline de Cássia P. Assunção, and her advisor, professor Yoko O. Franco

diurno dessa espécie, e também por sua capacidade de camuflagem em meio à vegetação, ainda que ela não seja particularmente agressiva. Como ela não tem dentes próprios para a inoculação do veneno, os efeitos de sua mordida costumam ser mais locais do que sistêmicos, compreendendo sintomas como dor, inchaço, manchas vermelhas ou escuras e dilatação dos gânglios linfáticos.

Via de regra, quando ocorre um acidente ofídico (ou seja, um acidente envolvendo serpentes), os soros antiofídicos costumam ser a primeira alternativa de tratamento. Esses soros são constituídos de anticorpos contra determinados venenos e o ideal é que eles estejam armazenados em locais estratégicos, próximos de onde os acidentes têm mais probabilidade de ocorrer.

as well as by its ability to camouflage within the vegetation, even though it is not particularly aggressive. Since it lacks specialized teeth for venom inoculation, the effects of its bite are usually more local than systemic, comprising symptoms such as pain, swelling, reddish or dark spots, and enlargement of the lymph nodes.

As a rule, when a snakebite accident takes place, antivenoms are usually the first line of treatment. These serums consist of antibodies that work against specific venoms, and ideally, they should be stored in strategic locations, close to where accidents are most likely to occur. However, this is not always the case: access to antivenom may be limited in communities that are located far

Porém, nem sempre é isso que acontece: o acesso ao soro pode ser reduzido em comunidades muito afastadas dos centros urbanos, especialmente em países em desenvolvimento, e, mesmo quando o soro está disponível, sua atuação costuma ser limitada aos efeitos sistêmicos do veneno, de modo que as vítimas ainda podem continuar sofrendo os efeitos locais mesmo após sua aplicação. Vale lembrar que, no caso específico da *P. olfersii*, esses efeitos locais são os principais e, portanto, os mais preocupantes.

Por isso, é importante, além de desenvolver soros antiofídicos para cada grupo de serpentes, desenvolver também alternativas de tratamentos, que possam ser disponibilizadas mais amplamente à população e que combatam os efeitos não sistêmicos dos venenos (podendo até mesmo ser administrados em conjunto aos soros). Foi esse o objetivo da dissertação de Jaqueline de Cássia Proença Assunção, sob a orientação da professora doutora Yoko Oshima Franco, que foi defendida em 2021 no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (Uniso) e considerou a possibilidade de utilizar **NANOPARTÍCULAS** de prata como princípio ativo de medicamentos locais contra o veneno da *P. olfersii*.

PARA SABER MAIS: O QUE SÃO NANOPARTÍCULAS?

Nanopartículas são todas aquelas partículas menores que 1 micrômetro (µm), ou, em outras palavras, menores que 1 milionésimo de metro. No caso do estudo de Assunção, a dimensão média das nanopartículas de prata que foram utilizadas encontra-se numa faixa inferior a 130 nanômetros (nm) — sendo que cada nanômetro equivale a 1 bilionésimo de metro.

TO KNOW BETTER: WHAT ARE NANOPARTICLES?

Nanoparticles are all particles smaller than 1 micrometer (µm), or, in other words, smaller than one millionth of a meter. In Assunção's study, the average size of the silver nanoparticles used was below 130 nanometers (nm)—with each nanometer corresponding to one billionth of a meter.

away from urban centers, especially in developing countries, and even when it is available, its effectiveness is usually restricted to the systemic effects of the venom, meaning that victims may continue to suffer from local effects even after its administration. It is worth noting that, in the specific case of *P. olfersii*, these local effects are the main ones and, therefore, the most concerning.

For this reason, in addition to developing antivenoms for each group of snakes, it is also important to develop alternative treatments that can be made more widely available to the population and that counteract the non-systemic effects of venoms (and may even be administered together with the proper antivenoms). This was the goal of Jaqueline de Cássia Proença Assunção, advised by professor Yoko Oshima Franco, whose Master's thesis was defended in 2021 at Uniso's graduate program in Pharmaceutical Sciences. The study considered the possibility of using silver **NANOPARTICLES** as the active principle of medications with local effects against the venom of *P. olfersii*.

Essas nanopartículas, sintetizadas a partir da cúrcuma — uma planta da mesma família do gengibre — no laboratório de Biomateriais e Nanotecnologia da Uniso (LaBNUS), em parceria com o Laboratório de Pesquisa em Neurofarmacologia e Multidisciplinar (LaPENM), também da Uniso, tiveram sua eficácia testada contra os efeitos neurotóxicos (nas terminações nervosas) e miotóxicos (nas fibras musculares) do veneno da *P. olfersii*.

Em relação a essa primeira etapa do experimento, a pesquisadora obteve resultados positivos. Em laboratório, ela testou os efeitos do veneno em pintinhos, mais especificamente no músculo *biventer cervicis* — uma parte da anatomia desse animal comumente utilizada em pesquisas farmacológicas que investigam contraturas musculares — e verificou que, quando presentes, as nanopartículas se mostraram eficazes contra os efeitos tóxicos do veneno da *P. olfersii*, o que as torna promissoras para, um dia, talvez, serem aplicadas em novos tratamentos.

“Entretanto”, alerta a pesquisadora, “muitas das interações das nanopartículas de prata com o corpo humano ainda são pouco compreendidas, o que faz com que as características mais desejáveis para esse tipo de aplicação ainda não estejam totalmente estabelecidas até o presente momento.” Isso significa que a investigação científica sobre esse assunto segue em aberto, dependendo de experimentos como aquele que ela conduziu na segunda etapa de sua pesquisa: a avaliação da toxicidade das próprias nanopartículas.

Para isso, ela conduziu um teste conhecido como Teste de Ames, que é amplamente aceito e utilizado pela comunidade científica para detectar se determinada substância química é mutagênica — ou seja, se é capaz de induzir mutações genéticas nos organismos a ela expostos. O teste é feito *in vitro*, o que significa que ele é conduzido em laboratório, fora do corpo de um ser vivo. Então, para simular os processos metabólicos que acontecem num organismo vivo, os pesquisadores costumam utilizar extrato de fígado de ratos, para replicar um metabolismo em funcionamento. Isso é importante, porque os efeitos mutagênicos de algumas substâncias só são ativados junto a determinados processos metabólicos.

These nanoparticles were synthesized from turmeric—a plant from the same family as ginger—at Uniso's Laboratory of Biomaterials and Nanotechnology (LaBNUS, in the Portuguese acronym), in partnership with Uniso's Laboratory of Neuropharmacology and Multidisciplinary Research (LaPENM), and had their efficacy tested against the neurotoxic effects (on nerve endings) and myotoxic effects (on muscle fibers) of the *P. olfersii* venom.

Regarding this first stage of the experiment, the researcher obtained positive results. In the laboratory, she tested the effects of the venom on baby chickens, more specifically on their *biventer cervicis* muscle—a part of the animal's anatomy commonly used in pharmacological research investigating muscle contractions—and observed that, when present, the nanoparticles were effective against the toxic effects of the *P. olfersii* venom, making them promising for potential future applications in novel treatments.

“However,” warns the researcher, “many of the interactions of silver nanoparticles with the human body are still poorly understood, which means that the most desirable characteristics for this type of application have not yet been fully established to date.” This indicates that scientific investigation on the subject remains in progress, relying on experiments such as the one she conducted in the second stage of her research: the evaluation of the toxicity of the nanoparticles themselves.

For this purpose, she conducted a test known as the Ames test, which is widely accepted and employed by the scientific community to detect whether a given chemical substance is mutagenic—that is, capable of inducing genetic mutations in the organisms eventually exposed to it. The test is performed *in vitro*, meaning it is carried out in the laboratory, outside the body of a living organism. To simulate the metabolic processes that occur in a living organism, researchers typically use rat liver extract to replicate a functioning metabolism. This is important because the mutagenic effects of certain substances are only activated in conjunction with specific metabolic processes.

When it comes to these silver nanoparticles, considering the concentration used by Assunção



Nanopartículas de prata foram sintetizadas pela pesquisadora a partir da cúrcuma, uma planta da mesma família do gengibre, em laboratório da Uniso

The researcher synthesized silver nanoparticles using turmeric, a plant from the same family as ginger, in a laboratory at Uniso

No caso das nanopartículas de prata, considerando-se a concentração que Assunção utilizou em seu estudo, não houve mutagenicidade na ausência de ativação metabólica, mas, mesmo assim, constatou-se que as nanopartículas podem causar lesões às células (o que se chama de citotoxicidade). Contudo, quando o mesmo teste foi aplicado na presença do extrato de fígado, de modo a emular os processos metabólicos, a mutagenicidade foi constatada (em concentrações de 0,006 e 0,0081 mg/placa). Consequentemente, qualquer aplicação dessas nanopartículas de prata em organismos vivos requereria extrema cautela.

A toxicidade das nanopartículas metálicas — as de prata, mais especificamente — pode ser afetada, por exemplo, por características como o tamanho das partículas e a sua concentração nas formulações. “Além disso”, completa o professor doutor Marco Vinicius Chaud, coordenador do LaBNUS, “o próprio processo de acumulação das

in her study, no mutagenicity was observed in the absence of metabolic activation. Nevertheless, it was found that the nanoparticles can cause damage to cells (a phenomenon known as cytotoxicity). Furthermore, when the same test was conducted in the presence of the liver extract, in order to emulate metabolic processes, mutagenicity was observed (at concentrations of 0.006 and 0.0081 mg/plate). Consequently, any application of these silver nanoparticles in living organisms would require extreme caution.

The toxicity of metallic nanoparticles—silver nanoparticles in particular—can be influenced, for example, by characteristics such as particle size and their concentration in formulations. “Moreover,” adds professor Marco Vinicius Chaud, the coordinator of LaBNUS, “the very process of nanoparticle accumulation in the organisms of certain living beings (a phenomenon known as bioaccumulation, which represents the

nanopartículas nos organismos de determinados seres vivos (fenômeno que é conhecido como bioacumulação e que configura o principal problema quando se pensa na toxicidade das nanopartículas de prata) tem relação tanto com a maneira com que as partículas foram sintetizadas (a sua origem) quanto com a forma com que os átomos que as compõem estão arranjados.” Daí a importância de ter estudos específicos, que considerem todas essas características, uma vez que os resultados não podem ser simplesmente generalizados para todos os casos e **APLICAÇÕES** que hão de vir.

main concern when considering the toxicity of silver nanoparticles) is related both to the method by which the particles were synthesized (their origin) and to the arrangement of the atoms that compose them.” This underscores the importance of conducting specific studies that take all these characteristics into account, since the results cannot be simply generalized to all cases and future **APPLICATIONS**.

PARA SABER MAIS: AS APLICAÇÕES DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

“De modo geral, o campo de aplicação das nanopartículas de prata é muito vasto; elas podem neutralizar o envenenamento causado por outras serpentes (além da própria *P. olfersii*), e também ser utilizadas como agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirais, pesticidas etc., o que as torna populares na fabricação de vários produtos de consumo, como plásticos, sabonetes, curativos e têxteis. Ainda que a ingestão dessas nanopartículas seja restrita devido à possibilidade de argiria (uma doença causada pela exposição prolongada à prata, que faz com que a pele dos indivíduos acometidos apresente coloração azulada), diversos estudos relacionados à sua toxicidade vêm sendo realizados, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, por via tópica e oral, sem alterações significativas no metabolismo humano. Faz-se necessário, dessa forma, o contínuo avanço das pesquisas em relação à dosagem e ao tempo de exposição, de modo a ampliar o nível de evidência quanto aos efeitos toxicológicos das nanopartículas de prata.” Quem explica é o professor doutor Fernando Batain, também pesquisador do LaBNUS.

TO KNOW BETTER: APPLICATIONS OF SILVER NANOPARTICLES

“In general, the range of applications of silver nanoparticles is very broad; they can neutralize venom poisoning caused by other snakes (in addition to *P. olfersii*), and can also be used as antibacterial, antifungal, antiviral, and pesticide agents, which makes them popular in the manufacture of various consumer goods, such as plastics, soaps, dressings, and textiles. Although the ingestion of these nanoparticles is limited due to the possibility of argyria (a condition caused by prolonged exposure to silver, which results in a bluish discoloration of the skin), numerous studies on their toxicity have been conducted, both *in vitro* and *in vivo*, via topical and oral routes, without significant alterations in human metabolism. Therefore, continued research regarding dosage and exposure time is necessary in order to expand evidences on the toxicological effects of silver nanoparticles,” explains professor Fernando Batain, also a researcher at LaBNUS.

Considerando-se, assim, que os estudos sobre os efeitos das nanopartículas de prata na saúde humana ainda são bastante limitados, os achados de Assunção são importantes, contribuindo para que a comunidade científica possa, aos poucos, delimitar quais são os parâmetros aceitáveis para o uso desse recurso em formulações farmacêuticas, seja para a remediação de acidentes ofídicos ou para outros fins.

Considering that studies on the effects of silver nanoparticles on human health are still quite limited, Assunção's findings are important, contributing to the gradual delineation, by the scientific community, of the acceptable parameters for the use of this material in pharmaceutical formulations, whether for the treatment of snakebites or for other purposes.

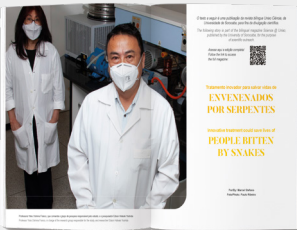
CONTINUE LENDO SOBRE TRATAMENTOS ALTERNATIVOS PARA ACIDENTES OFÍDICOS

CONTINUE READING ABOUT ALTERNATIVE TREATMENTS FOR SNAKEBITE ACCIDENTS



Em busca de alternativas para o tratamento de picadas de serpente (jun./2019)

Finding alternatives for the treatment of snakebites (Jun./2019)



Tratamento inovador para salvar vidas de envenenados por serpentes (dez./2020)

Innovative treatment could save lives of people bitten by snakes (Dec./2020)



Com base na dissertação “Nanopartículas de prata (AgNPs) - Mutagenicidade e influência sobre os efeitos tóxicos do veneno da serpente *Philodryas olfersii* (Colubridae)”, do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba (Uniso), com orientação da professora doutora Yoko Oshima Franco e aprovada em 29 de janeiro de 2021.

Acesse o texto completo da pesquisa (em português):

Use the link to access the full text of the original research (in Portuguese)



Foto/Photo: Fernando Rezende