



ORIGINAL / ORIGINAL / ORIGINAL

Histological study of the acute effects of colloidal silver in organs of Wistar rats

Estudo histológico do efeito agudo de prata coloidal nos órgãos de ratos Wistar
Estudio histológico del efecto agudo de plata coloidal en los órganos de ratas Wistar

Mayara Rafaela dos Reis¹, Miguel Henrique Pereira de Paiva², Otávio Nolêto Barbosa³,
Esmeralda Maria Lustosa Barros⁴, Rogério Ferreira Luz⁵, Vicente Galber Freitas Viana⁶

ABSTRACT

Objective: to detect possible alterations in Wistar rats' (*Rattus norvegicus*) organs after oral administration of colloidal silver for subsequent histological analysis. **Methodology:** this experimental study with quantitative and qualitative approach consisted of 24 non-isogenic, nulliparous rats, with body mass between 190-260 grams, randomly divided into two groups, control and experiment. The rats received daily doses of 10 mL/kg of colloidal silver. **Results:** in the control group, no organic alterations were detected. The experimental group, however, presented kidney and liver alterations after the 14th and between the 7th and 14th day of exposure, respectively. **Discussion:** the histopathological analysis of the kidneys of these animals showed that all twelve treated with colloidal silver showed nephritis, congestion, cloudy swelling, and thickening of glomerular loops. Hepatic lesions were congestion and cloudy swelling, and increased and vacuolated nucleus. **Conclusion:** the findings indicated potential toxicity of colloidal silver to the kidneys and liver of Wistar rats. **Descriptors:** Colloidal Silver. Kidneys. Liver. Wistar Rats. Toxicity. Histology.

RESUMO

Objetivo: detectar possíveis alterações em órgãos de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) após a administração por via oral de prata coloidal para posterior análise histológica. **Metodologia:** este estudo experimental com abordagem quanti-qualitativa, consistiu em 24 ratas não-isogênicas, nulíparas, com massa corpórea entre de 190 a 260 gramas, divididas aleatoriamente em dois grupos, controle e experimento. Os ratos receberam doses diárias de 5 mL/kg de prata coloidal. **Resultados:** no grupo controle não se detectou quaisquer alterações orgânicas. O grupo experimento, porém, apresentou alterações renais e hepáticas após o 14^o e entre o 7^o e 14^o dia de exposição, respectivamente. **Discussão:** a análise histopatológica dos rins dos animais evidenciou que todos os 12 animais do grupo tratado com prata coloidal apresentaram nefrite, congestão, tumefação turva e espessamento de alças glomerulares. As alterações hepáticas foram congestão e tumefação turva, núcleo aumentado e vacuolizado. **Conclusão:** os achados apontam potencial toxicidade da prata coloidal aos rins e fígados de ratas Wistar. **Descritores:** Prata Coloidal. Rins. Fígado. Ratos Wistar. Toxicidade.

RESUMÉN

Objetivo: detectar posibles cambios de órganos en ratas (*Rattus norvegicus*) después de la administración oral de plata coloidal para el posterior análisis histológica. **Metodología:** estudio experimental, con enfoque cuantitativo y cualitativo consistió en 24 ratas no isogénicas, nulíparas con una masa corporal entre 190 a 260 gramos fueron divididos aleatoriamente en dos grupos, control y experimental. Los ratones recibieron dosis diarias de 5 ml/kg de plata coloidal. **Resultados:** en el grupo de control no se detectó ningún cambio orgánicos. El grupo de experimento, sin embargo, mostró cambios en el hígado y de los riñones después de 14 y entre 7 y 14 días de exposición, respectivamente. **Discusión:** el análisis histopatológico de los riñones de los animales, mostraron que los 12 animales del grupo tratado con plata coloidal tenían nefritis, la congestión, tumefacción turbia y engrosamiento de los bucles glomerulares. Los cambios en el hígado fueron congestión e inflamación borrosa, aumento de núcleo y vacuolas. **Conclusión:** estos hallazgos indican toxicidad potencial de la plata coloidal para los riñones y el hígado de ratas Wistar. **Descritores:** Plata Coloidal. Riñones. Hígado. Ratas Wistar. Toxicidad.

¹ Enfermeira, Faculdade Integral Diferencial (FACID) e Hospital de Urgência de Teresina (HUT), Teresina, Piauí, Brasil, mayara12reis@hotmail.com.

² Acadêmico de enfermagem, Faculdade Integral Diferencial (FACID), Teresina, Piauí, Brasil, miguelhpaiva@hotmail.com.

³ Cirurgião dentista, especialista em ortodontia, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil, otavio_noleto@hotmail.com.

⁴ Enfermeira, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Teresina, Piauí, Brasil, esmeralda@hotmail.com.

⁵ Enfermeiro, especialista em docência, Universidade Estadual do Piauí (UESPI), Teresina, Piauí, Brasil, rogerionerd@hotmail.com

⁶ Químico, doutor em ciências, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFPI), Teresina, Piauí, Brasil, vicentegalber@ifpi.edu.br.

INTRODUÇÃO

O metal prata é utilizado como alternativa terapêutica há mais de 2000 anos, com o descobrimento dos antibióticos, e sua introdução no uso medicinal os coloides metálicos foram descartados. A prata quando comparada com outros metais, apresenta toxicidade maior para os microorganismos e em menor escala às células animais^(1,2). Em estado coloidal, o tamanho das partículas de prata varia de 0,01 a 0,001 micrometro de diâmetro, proporcionando assim uma área de superfície maior. Em meados de 1910, Henry Crooks, pioneiro da Química relata que o uso de metais em estado coloidal, apresentava ação contra microrganismos.

Fung e Bowen (1996) relatam em seu trabalho o uso da prata coloidal no tratamento de mais de 650 doenças que acometem humanos, sendo a maioria destas decorrentes da infecção por microrganismos patogênicos, principalmente bactérias e fungos⁽³⁾. Há evidências científicas do seu uso em diversas condições clínicas, tais como infecções do trato respiratório superior (sinusite, alergias, rinite alérgica, otite e perda auditiva), doenças oculares (conjuntivite e catarata), doenças da pele (queimaduras, dermatite, erupções cutâneas, verrugas, acne e caspa) doenças bucais (gengivite e placa), problemas intestinais (gastroenterite, diarreia, infecções parasitárias e cistos⁽⁴⁾).

Propriedades medicinais e aplicações da prata ocorrem principalmente no controle de infecções bacterianas, apresentando ação bactericida contra o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae* comprovadas. Em 1940, após a descoberta da penicilina, e sua introdução na medicina, o uso da prata como agente bactericida diminuiu. Entretanto, com a descoberta de antibióticos houve seleção de cepas resistentes a antibióticos. Portanto, atualmente a prata voltou a despertar interesse na comunidade científica em razão da necessidade de desenvolvimento de sínteses de novos antimicrobianos⁽⁵⁾. No entanto, o uso indiscriminado da prata coloidal sem o devido conhecimento acerca de suas propriedades farmacológicas e terapêuticas deve ser evitados, objetivando-se a redução de riscos à saúde.

Levando em consideração que existem escassas evidências científicas que relatam os efeitos da prata coloidal, objetivou-se neste trabalho detectar possíveis alterações em órgãos de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) após a administração por via oral de prata coloidal para posterior análise histológica.

METODOLOGIA

Natureza do estudo

Realizou-se uma pesquisa experimental em ratos, com abordagem quanti-qualitativa, no âmbito do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) da Faculdade Integral Diferencial (FACID), tendo como objeto de experimento ratos da linhagem Wistar e cenários o laboratório de citologia

e histologia da Faculdade Integral Diferencial - FACID.

Ratos Wistar

Para realização do experimento, foram manipulados 24 ratas não-isogênicas, nulíparas, com massa corpórea entre de 190 a 260 gramas, divididas aleatoriamente em 2 grupos (controle e experimento). Cada grupo contou com 6 animais da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) provenientes do biotério da FACID. Os animais foram alimentados com ração comercial e água à vontade, mantidos em regime de luz (10 horas claro e 14 horas escuro) e temperatura controlada a 20 a 22 graus Celsius.

Obtenção da prata coloidal

Para obtenção da prata coloidal, utilizou-se o gerador analógico de prata coloidal AISG 1500, que é um equipamento que apresenta uma fonte de alimentação, um adaptador de eletrodos e eletrodos de prata. O equipamento utiliza uma placa metálica de prata submersa em um béquer com 500 ml de água destilada, e em seguida a fonte de alimentação é ligada a energia elétrica para iniciar o processo eletromagnético de produção dos coloides. Segundo o manual a produção dos colóides deve ser cronometrada em 10 min após o início da formação das bolhas, obtendo assim água de aspecto turvo e de coloração branco, atingindo uma concentração de 20ppm ou 0,20mg/L de prata.

Administração da prata coloidal em ratos e eutanásia

A substância foi administrada por via oral (gavagem) uma vez ao dia, o grupo controle negativo recebeu apenas água (Mili-Q), enquanto que ao grupo experimental foi administrada a água de prata coloidal em doses diárias de 5ml/kg de prata coloidal durante 5 dias. Seis animais de cada grupo foram sacrificados no sexto dia após o início do tratamento. No sexto dia de tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia com dose letal de anestésico (tiopental sódico), com a finalidade de retirar o estômago, útero, ovário e fígado, para análise histológica.

Análise Histológica

Os órgãos retirados foram submetidos a um estudo histológico a fim de investigar possíveis alterações de suas estruturas relacionadas ao uso agudo da prata coloidal. As amostras dos órgãos passaram pelas devidas etapas do processamento histológico como fixação, desidratação, inclusão em parafina, formação dos blocos de parafina, microtomia na espessura de 5µm, extensão dos cortes em banho-maria, transferência para a lâmina, secagem em mesa térmica, coloração Hematoxilina-Eosina, montagem das lâminas, para posterior avaliação histopatológica utilizando o microscópio óptico.

Na análise histopatológica foram observados determinados parâmetros que serviram de

comparação entre os grupos estudados, podendo haver assim avaliação da prata coloidal nos órgãos removidos. Foram adotados os seguintes critérios para todos os órgãos: a presença ou ausência de infiltrado inflamatório com sua respectiva classificação, presença ou ausência de fibrose, visualização de necrose e outras alterações detectadas. Na análise estatística os dados serão avaliados de acordo com sua ocorrência e frequência e expostos na forma de tabelas descritivas.

Procedimentos éticos

O protocolo de pesquisa foi submetido análise e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Integral Diferencial (CEP/FACID), sob o protocolo nº 019 /2012. Sendo seguidos os princípios éticos da experimentação animal e respeitadas as normas estabelecidas pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Fonte de financiamento

A fonte de financiamento para realização do estudo resultou da bolsa concedida pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Faculdade Integral Diferencial e recursos próprios dos pesquisadores, além de suprimentos fornecidos pela Universidade Federal do Piauí (UFPI).

RESULTADOS

No estudo microscópico dos tecidos dos animais do grupo controle, não detectou-se qualquer alteração em quaisquer órgãos estudados. O grupo submetido ao tratamento com prata coloidal por administração oral não apresentou alterações no útero, ovário e estômago. Porém, detectaram-se alterações renais e hepáticas como um indicativo de toxicidade.

Na análise histopatológica dos rins dos animais, foi evidenciado que todos os 6 animais do grupo tratado com prata coloidal apresentaram alterações histológicas importantes quando comparados ao grupo controle. As alterações renais detectadas são nefrite, congestão, tumefação turva e espessamento de alças glomerulares (Figura 1). Observou-se ainda um infiltrado inflamatório mononuclear discreto em alguns tecidos.

Em relação à análise histopatológica do fígado dos animais, em todos os 6 ratos do grupo tratamento foi encontrado congestão e tumefação turva, núcleo aumentado e vacuolizado (Figura 2).

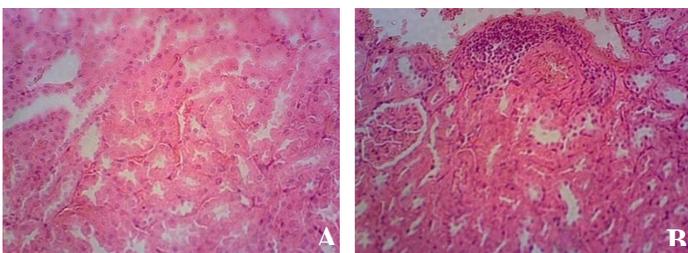


Figura 1. Alterações histológicas do rim de ratos Wistar tratados com prata coloidal. (A) congestão moderada, tumefação turva e degeneração hidrópica; (B) espessamento de alças glomerulares e arteríolas

DISCUSSION

Neste estudo, buscou-se identificar as possíveis alterações agudas em órgãos de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) após a administração em via oral de prata coloidal para posterior análise histológica. Os coloides de prata induziram alterações renais e hepáticas em ratos submetidos ao tratamento com prata coloidal, mas não em outros órgãos observados, útero, ovário e estômago.

As poucas evidências científicas encontradas corroboram com esse achado. Até 25 anos atrás, quando da publicação do Perfil Toxicológico da Prata pela Agência de Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças do Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos, não se encontraram quaisquer evidências de toxicidade da prata coloidal por administração oral sobre o sistema reprodutivo, gastrointestinal, renal ou hepático de animais ou humanos⁽⁶⁾. Recentes estudos, porém, têm demonstrado que as maiores taxas de concentração prata coloidal administradas por via em ratas encontram-se no fígado e rim desses animais, o que remete ao papel que esses dois órgãos desempenham no metabolismo desse coloide no organismo bem como a sua eliminação e o efeito negativo desse trabalho desempenhado pelo sistema hepático e renal ante a presença da prata no organismo, dada as alterações histológicas identificadas em ambos os órgãos. A literatura cita ainda a detecção da presença dessas nanopartículas também nos pulmões e cérebro de animais anteriormente testados⁽⁷⁾.

Em escala de toxicidade a prata é considerada o metal que apresenta a menor toxicidade para as células animais em relação ao mercúrio que é extremamente tóxico aos seres humanos. A ingestão de prata em altas doses apresenta como efeitos adversos problemas neurológicos, renais, efeito gástricos, cefaleia e a Argyria, patologia que causa o azulamento da pele⁽⁸⁾.

Neste experimento, a dosagem de 20 mg/L, apresentou predomínio de nível de intoxicação moderada nos tecidos do rim e fígado. Conforme a arquitetura hepática do grupo controle pode-se observar que em todos os animais como já era de se esperar apresentaram parâmetros morfológicos de normalidade, com o parênquima formando uma massa contínua, com cordões de hepatócitos, células de Kuppfer, ducto biliar, veia porta e artérias hepáticas intactas e bem delineadas. Alterações morfológicas detectadas foram: congestão hepática, tumefação turva e presença de núcleos grande e vacuolizada, segundo a figura 1 que estiveram presentes em todos os tecidos com exceção do rato número 2 que apresentou lesões discretas em seus tecidos.

O fígado é o segundo maior órgão do corpo, sendo responsável pelo processamento e armazenamento dos nutrientes absorvidos no trato digestivo. Este órgão é vulnerável a uma ampla variedade de agressões metabólicas, tóxicas, microbianas, circulatórias e neoplásicas^(8,9).

Não foram encontrados na literatura outros estudos que tenham objetivado avaliar o uso de prata coloidal e seu efeito na morfologia microscópica de rins e fígado de ratos. Entretanto existem estudos



Figura 2. Alterações histológicas do fígado de ratos Wistar tratados com prata coloidal. (A) fígado com congestão discreta; (B) tumefação turva; (C) hepatócitos aumentados em tamanho e vacuolizado (MO. aumento de 20X. HE).

que abordam a exposição de ratos com o metal prata com doses diferentes e com tamanhos de partículas diferentes. No estudo de KIM et al.; (2010) detectou que a exposição oral a nanopartículas de prata com doses de 125 e 500 mg/kg/dia ocasionaram hepatotoxicidade nos animais tratados em relação ao grupo controle, além de observar que o colesterol sérico apresentou níveis altamente significativos. Sabe-se que o grau de absorção de prata é aumentado segundo o diâmetro da partícula, carga superficial, hidrofobia, e da presença ou ausência de ligantes de superfície⁽¹⁰⁾.

A excreção da prata coloidal ocorre primariamente por via fecal, mas também através da urina⁽⁷⁾. Embora possa-se esperar que o sistema gastrointestinal sofra maiores danos após a administração oral da prata coloidal, os achados histológicos indicam que os maiores danos encontram-se nos rins, que desempenham menor atividade de eliminação do composto.

Nos rins dos animais que receberam tratamento, foi observado nefrite, espessamento de alças glomerulares e arteriolas, congestão, tumefação turva e focos de degeneração hidrópica no rim que é uma lesão reversível caracterizada pelo acúmulo de água e eletrólitos no interior da célula, tornando-a tumefeita, aumentada de volume, com uma tonalidade pálida⁽¹¹⁾.

No que diz respeito à avaliação microscópica do estômago, útero e ovário, os 6 órgãos dos animais do grupo tratamento, submetidos a administração da prata coloidal, não apresentaram qualquer alteração que variasse do padrão de normalidade apresentado pelos animais do grupo controle, sendo excluída qualquer possibilidade de alteração patológica.

Neste estudo não foram observadas mudanças drásticas nas células, como apoptose e necrose celular. Em outro estudo envolvendo as nanopartículas de prata observaram-se redução drástica da função mitocondrial e a viabilidade celular⁽¹²⁾.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a prata coloidal na concentração utilizada corrobora os recentes achados científicos de que a prata coloidal sugere efeitos tóxicos em tecidos de ratos Wistar. Dadas as alterações encontradas, sugere-se que a prata coloidal tenha efeito hepatotóxico e nefrotóxico. Esta toxicidade potencial, contudo, deve ser investigada mais profundamente a fim compreender os mecanismos envolvidos.

Além disso, saber possíveis efeitos da prata coloidal em ratos pode prever alguns dos efeitos que os medicamentos que contêm este composto poderia causar a um paciente. Isso é importante para os enfermeiros para saber quando eles são os profissionais envolvidos na administração de medicamentos. Nesse contexto, como enfatiza Labronice¹³, uma pesquisa como essa conduzida por enfermeiras pode contribuir com o fortalecimento da enfermagem como ciência.

REFERÊNCIAS

- 1 Prestes MA, Ribas CAPM, Ribas Filho JM, Moreira LB, Boldt ABW, Brustolin EV, et al. Wound healing using ionic silver dressing and nanocrystalline silver dressing in rats. *Rev. Acta Cirúrgica Brasileira*. 2012;27(11):761-767.
- 2 Berni Neto EA, Ribeiro C, Zucolotto V. Síntese de nanopartículas de prata para aplicação na sanitização de embalagens. *Click Ciência*. 2008;19(1)1-4.
- 3 Fung MC, Bowen DL. Silver Products for medical indications: risk-benefit assessment. *Rev Clinical Toxicology*. 1996;34(1):119-126.
- 4 Claussen, S. Colloidal Silver User's Manual [Internet, citado em 2013 jul 15]. Disponível em: http://www.bestyoucanget.com/Colloidal_Silver_User_Manual.pdf.
- 5 Chopra, I. The increasing use of silver-based products as antimicrobial agents: a useful development or a cause for concern. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;(59)587-590.
- 6 Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S. Public Health Service. Toxicological profile for silver. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services; 1990.
- 7 Loeschner K, Hadrup N, Qvortrup K, Larsen A, Gao X, Vogel U, et al. Distribution of silver in rats following 28 days of repeated oral exposure to silver nanoparticles or silver acetate. *Part Fibre Toxicol*. 2011;8(18):1-14.
- 8 Bogliolo, F, G.B. Patologia, 7° Ed. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.
- 9 Robbins & Cotran; 2005; Bases Patológicas das Doenças, Patologia., 7ª. Ed. Editora Elsevier.

10 EPA, Integrated Risk Information System, Silver (CASRN 7440-22-4). Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0099.htm>> Acesso em 10/07/2014

11 Kim, Y. S.; Song, M. Y.; Park, J. D.; Song, K. S.; Ryu, H. R.; Chung, Y. H.; et al Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles. **Particle and Fibre Toxicology**, v.7, n. 20, p.1-11, 2010.

12 Park, E. J.; Bae, E.; Yi, J.; Repeated-dose toxicity and inflammatory responses in mice by oral administration of silver nanoparticles. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v.30, n.2, p.162-168, 2010.

13 Labronice LM. A construção do conhecimento na enfermagem. *Rev Enferm UFPI*. 2013; 2(spe): 1-2.

Sources of funding: No

Conflict of interest: No

Date of first submission: 2016/10/06

Accepted: 2017/02/10

Publishing: 2017/03/01

Corresponding Address

Mayara Rafaela dos Reis.

Endereço: Rua Veterinário Bugyja Brito, 1354, Horto Florestal, CEP 64.052-410, Teresina.

Tel (89) 99436-6476.

Email: mayara12reis@hotmail.com.

Faculdade Integral Diferencial (FACID), Teresina.