

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DAS LESÕES CAUSADAS POR HSV-1 TRATADAS COM EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *Tanacetum parthenium* EM CAMUNDONGOS

Carolina Salinas de Moraes (PIBIC/CNPq/Uem), Érica Benassi Zanqueta, Tania Ueda Nakamura (Orientador), e-mail: tunakamura@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/ Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde, Farmácia.

Palavras-chave: *Tanacetum parthenium*, Herpes simplex tipo 1, eficácia terapêutica tópica.

Resumo:

O vírus Herpes simples tipo 1 (HSV-1) é um vírus amplamente distribuído na população mundial, causador de lesão orofacial branda, que pode agravar conforme o estado imunológico do hospedeiro. O tratamento padrão é realizado com a administração de análogos de nucleosídeos, que são específicos para células infectadas com o material genético viral, entretanto tem havido seleção de cepas resistentes ao tratamento. O *Tanacetum parthenium* é uma planta herbácea utilizada na medicina popular para várias aplicações, dentre elas dores abdominais, febre e enxaqueca. Muitos estudos de atividade biológica têm sido relatados ao *T. parthenium*, incluindo a atividade anti-HSV-1 *in vitro* do extrato hidroetanólico, frações e composto isolado a partir das partes aéreas desta planta. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar análises histopatológicas na pele de roedores infectados com HSV-1 tratados com extrato hidroetanólico de *T. parthenium* por via tópica para avaliar a sua eficácia terapêutica. Os resultados obtidos foram: os animais infectados e não tratados ou infectados e tratados com o veículo apresentaram diversos aspectos morfológicos ligados à infecção herpética, enquanto que os animais tratados com as duas concentrações do extrato e Aciclovir mostraram-se equivalentes e apresentaram menos sinais da infecção. Sendo assim, a terapia com o extrato hidroetanólico de *T. parthenium*, se mostrou eficaz *in vivo* quando aplicado por via tópica.

Introdução

O Herpes simples tipo 1 (HSV-1) é um vírus envelopado com DNA de fita dupla, amplamente distribuído na população mundial, sendo o causador de lesão orofacial em geral benigna, mas que pode agravar de acordo com o estado imunológico do hospedeiro (SANTOS *et al.*, 2015).

Na patogênese do HSV-1 o vírus é transmitido de um indivíduo portador com lesões vesiculares para outro sadio, pelo contato com fluidos corporais contendo vírus e a replicação primária ocorre na epiderme ou mucosa oral, dessa forma a pele foi o órgão escolhido para as análises histopatológicas. Horbul e colaboradores (2011) demonstraram que em cultura de células epiteliais cervicais, partes do tecido exposto ao HSV-1 ou HSV-2, apresentaram áreas de desorganização epitelial evidente, com focos de células infectadas, incluindo células gigantes aberrantes e células gigantes multinucleadas e ainda marginação da cromatina. Jazeron e colaboradores (2012), também demonstraram que o aspecto histopatológico de amostras de biópsia de esofagite de origem herpética, apresentou típicas células epiteliais multinucleadas, com núcleos com aspecto de vidro fosco e marginação da cromatina.

A terapia anti-herpética padrão é realizada por meio da administração de análogos de nucleosídeos, que possui uma atividade seletiva, pois atua somente em células infectadas pelo herpesvírus. Porém, mutações podem produzir cepas resistentes ao aciclovir, agravando as lesões e inviabilizando o tratamento (SANTOS *et al.*, 2015). Sendo assim há a necessidade de buscar novos agentes antivirais seguros e eficazes e os produtos de origem natural são importantes fontes de novos medicamentos.

O *Tanacetum parthenium* é uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae, sendo que as partes aéreas são utilizadas na medicina popular para o tratamento de enxaqueca, artrite reumatoide, febre, distúrbios menstruais, dores de estômago, infertilidade e picadas de insetos. Dentre as atividades descritas na literatura está a atividade anti-HSV-1 do extrato hidroetanólico de *T. parthenium in vitro*, mostrando-se um potencial agente antiviral para uso em humanos (ZANQUETA, 2014). Desta forma, estudos de eficácia terapêutica em modelos animais devem ser realizados para evidenciar a atividade anti-herpética do extrato observada previamente em cultura de células. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo histopatológico das lesões causadas por HSV-1 para investigar a eficácia terapêutica tópica *in vivo* extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium*.

Materiais e métodos

Eficácia terapêutica dos extratos de T. parthenium

A condução experimental do teste de eficácia terapêutica tópica *in vivo*, aprovada pelo comitê de ética animal da UEM (parecer número 122/2014) foi realizada sob a responsabilidade da aluna de doutorado Érica Benassi Zanqueta, como proposto por Cardozo e colaboradores (2013) com algumas modificações. O material coletado e fixado em formalina tamponada 10% foi processado conforme descrito a seguir.

Confecção das lâminas para análise histológica

O preparo dos órgãos e a confecção das lâminas seguiram o protocolo padronizado pelo laboratório de histologia da UEM e passaram pelas seguintes etapas: fixação, desidratação e clareamento, inclusão em parafina, cortes por microtomia e montagem das lâminas e por fim coloração das lâminas por hematoxilina-eosina.

Avaliação histopatológica dos órgãos dos animais

Primeiramente foram observados 5 cortes histológicos por animal, em objetiva de 40x em microscópio óptico (Olympus CX31). Para uma análise mais refinada e aquisição das imagens as lâminas foram observadas em objetiva de 100x. As imagens foram capturadas em câmera (Olympus SC30) acoplada ao microscópio óptico. Foram avaliados todos os aspectos morfológicos inerentes à infecção por HSV-1: desorganização e descontinuidade epitelial; efeito citopático; presença de células gigantes e multinucleadas; marginação da cromatina; presença de núcleos picnóticos. Sendo assim, foi realizada uma análise qualitativa e comparativa entre os tratamentos com o extrato de *T. parthenium*, os não-tratados e os tratados com aciclovir.

Resultados e Discussão

A análise microscópica dos cortes histológicos mostrou que, nos animais infectados e não tratados ou infectados e tratados com o veículo, havia intenso sinal de infecção viral, como efeito citopático nos queratinócitos, presença de células multinucleadas, células com inclusão tipo Cowdry e desorganização epitelial, além de espessamento do epitélio e presença de crostas. Já nos animais tratados com aciclovir e com as duas concentrações do extrato (2,5 e 5%), o epitélio apresentava-se mais homogêneo, com menos sinais de infecção e, as amostras tratadas com o extrato, apresentaram-se semelhantes àquelas tratadas com Aciclovir, comprovando a eficácia do extrato em relação à atividade anti-herpética. Os mesmos achados foram encontrados tanto para fêmeas, quanto para os machos. Tais achados corroboram ao encontrado no experimento *in vivo*, que mostrou a eficácia do tratamento dos animais com o extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium*, com análise visual (score da lesão e imagens), que foram realizados e analisados anteriormente.

Conclusões

O estudo histopatológico das lesões causadas por HSV-1, juntamente com uma avaliação qualitativa e comparativa entre os tratamentos, demonstrou que o tratamento com extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium* apresentou eficácia terapêutica tópica *in vivo* semelhante ao Aciclovir,

confirmando a atividade anti-herpética do extrato anteriormente observada *in vitro*.

Agradecimentos

À doutoranda Érica Benassi Zanqueta pela condução do experimento *in vivo*, auxílio na preparação das lâminas e orientações no decorrer do projeto. O COMCAP pelo uso do micrótomo para os cortes histológicos. À Fundação Araucária, CAPES e CNPq pelo auxílio financeiro.

Referências

CARDOZO, F. T. G. S.; LARSEN, I. V.; CARBALLO, E. V.; JOSE, G.; STERN, R. A.; BRUMMEL, R. C.; CAMELINI, C. M.; ROSSI, M. J.; SIMÕES, C. M. O.; BRANDT, C. R. ***In vivo* anti-herpes simplex virus activity of a sulfated derivate of *Agaricus brasiliensis* mycelial polysaccharide.** Antimicrobial agents and chemotherapy, v. 57, n. 6, 2013.

HORBUL, J. E.; SCHMECHEL, S. C.; MILLER, B. R. L.; RICE, S. A.; SOUTHERN, P, J. **Herpes Simplex Virus-Induced Epithelial Damage and Susceptibility to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in Human Cervical Organ Culture.** PLoS ONE, v. 6, n. 7, p. 1-13, Jul. 2011.

JAZERON, J. F.; BARBE, C.; FROBERT, E.; RENOIS, F.; TALMUD, D.; BRIXI-BENMANSOUR, H.; BRODARD, V.; ANDRÉOLETTI, L.; DIEBOLD, M. D.; LÉVÊQUE, N. **Virological Diagnosis of Herpes Simplex Virus 1 Esophagitis by Quantitative Real-Time PCR Assay.** Journal of Clinical Microbiology, v. 50, n. 3, p. 948-952, Mar 2012.

SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M., T., V.; WIGG, M. D. **Virologia humana.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3 ed., 2015.

ZANQUETA, É. B.. **Atividade antiherpesvirus do extrato hidroetanólico e frações das partes aéreas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. e modo de ação do partenolídeo.** 07 de fevereiro de 2014. Dissertação de Mestrado – Universidade Estadual de Maringá.