

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO PARA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE IRRITAÇÃO DÉRMICA DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *TANACETUM PARTHENIUM*

Fabiana Ferreira Evangelista (PIBIC/FA), Érica Benassi Zanqueta, Tania Ueda-Nakamura (Orientador), e-mail: tunakamura@uem.br

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

Área: Ciências da Saúde

Subárea do conhecimento: Farmácia

Palavras-chave: Extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium*, Irritação dérmica, Atividade antiviral.

Resumo

O herpesvírus tipo 1 (HSV – 1) é responsável por causar lesões orofaciais na forma de vesículas agrupadas, podendo evoluir para crostas. O tratamento padrão consiste na administração de análogos de nucleosídeos, como o Aciclovir, que é altamente seletivo. Porém, mutações virais podem selecionar cepas resistentes, tornando necessário a busca de novos compostos ativos. O *Tanacetum parthenium* é uma planta usada na medicina popular e o seu extrato hidroetanólico, obtido de partes aéreas da planta, apresentam atividade anti-HSV-1 *in vitro*. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de irritação dérmica *in vivo* na pele de roedores através de análise histológica e morfométrica. As amostras foram micrografadas e as medidas de crista e papilas dérmicas realizadas, seguidas de análise estatística. Os resultados mostraram que o extrato não causou irritação dérmica nas concentrações testadas, sendo segura sua utilização neste modelo.

Introdução

O herpes simplex tipo 1 (HSV -1) é um vírus envelopado, com DNA de fita dupla e está associado à lesão orofacial branda, benigna e latente (SANTOS, *et al.*, 2015). Segundo Brady & Bernstein (2004) estas lesões se manifestam sob forma de vesículas agrupadas sobre base eritematosa com posterior evolução para crostas.

O tratamento padrão destas infecções consiste na administração de análogos de nucleosídeos, como o Aciclovir, que atua de forma seletiva em células infectadas pelo herpesvírus. Entretanto, há o surgimento de cepas

mutantes resistentes ao aciclovir, sendo necessário buscar novos fármacos com atividade anti-herpética (SANTOS, *et al*, 2015).

O *Tanacetum parthenium* é uma planta amplamente utilizada na medicina popular para tratamento de quadros inflamatórios gerais (ALONSO, 1998) e já foi descrito pelo nosso grupo de pesquisa que o extrato hidroetanólico obtido a partir das partes aéreas da planta, apresentam atividade anti-HSV-1 *in vitro* (ZANQUETA, 2014).

Quando a lesão é tratada de forma precoce e efetiva a auto contaminação e a contaminação de outras pessoas é reduzida; embora já estejam disponíveis medicamentos na forma de creme, géis e líquidos contendo diversos agentes anti-HSV muitos casos permanecem sem solução terapêutica, principalmente em pacientes infectados com as cepas resistentes ao aciclovir e seus derivados. Sendo assim, propor um novo tratamento tópico com o extrato hidroetanólico de *T. parthenium* para o HSV-1 é importante. Porém, é necessário avaliar o potencial de irritação que pode ocorrer na pele não lesionada em modelos roedores, permitindo determinar doses seguras, e conduzir posteriormente os testes de eficácia terapêutica.

Materiais e métodos

*Teste de irritação dérmica dos extratos de *T. parthenium**

As amostras de pele foram obtidas pela aluna de doutorado Érica Benassi Zanqueta, do Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEM, cujo protocolo foi aprovado pelo comitê de ética (parecer número 122/2014). O procedimento foi realizado conforme descrito por Chattopadhyay e colaboradores (2009), em que diferentes concentrações do extrato (2,5%, 5,0% e 10%) foram administrados na pele de ratos adultos da linhagem Wistar, previamente depilada, pelo período de 24 horas e removidos com água morna, a fim de avaliar a sua capacidade de causar irritação dérmica. Esta etapa do ensaio foi realizada no biotério experimental do Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos, Bloco B08, da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Após sacrifício dos animais, a pele tratada ou não, foi removida e processada para análise histológica.

Preparação das lâminas histológicas para análise em microscopia óptica

Toda a etapa de histologia foi executada sob supervisão da professora Dr^a Maria Raquel de Marçal Natali no Laboratório de Histologia Animal, bloco H79 da Universidade Estadual de Maringá.

Inicialmente as peles foram fixadas em solução de Bouin. Em seguida, foram feitas as etapas de desidratação e diafanização, passando o material por concentrações crescentes de etanol (70-100%) e pelo Xilol, deixando o material translúcido.

A pele foi incluída em parafina 56-60 °C. O material foi resfriado e, com auxílio de um micrótomo (Leica, RM 2245) foram realizados cortes semi-

seriados com espessura de 6µm; permitindo a confecção de lâminas que foram coradas com hematoxilina-eosina, seguindo o protocolo do Laboratório de Histologia.

Análise histopatológica

Primeiramente foram capturadas 30 imagens por animal, em objetiva de 40x com microscópio óptico BX-41 (Olympus, Tokyo, Japan) com câmera de alta resolução Q Color 3 (Olympus American Inc. Canada). Posteriormente, o epitélio foi mensurado, totalizando 200 medidas por animal: 100 medidas de crista (R₁) e 100 medidas de papila (R₂). Para tal, foi utilizado o software Image Pro Plus Version 4.5 (Media Cybernetics, Inc).

Análise estatística

Foi realizada a análise de variância Two Way ANOVA, seguida de Dunnett.

Resultados e Discussão

A análise morfométrica da epiderme mostrou que não houve diferença estatística das medidas de cristas e papilas entre os grupos tratados e o controle, bem como, diferença entre os tratamentos (Tabela 1). Este resultado corrobora a análise macroscópica realizada durante o experimento in vivo, onde não foram observados sinais de irritação e inflamação na pele dos animais.

Tabela 1 – Resultado das medidas de crista e papila para cada tratamento com o extrato hidroetanólico de *T. parthenium*

Tratamento	Região da epiderme (Média ± DP)	
	R ₁ (µM)	R ₂ (µM)
<i>Machos</i>		
Veículo	34,49 ± 13,29	36,96 ± 8,90
EBH 2,5%	29,35 ± 5,45	27,56 ± 11,45
EBH 5,0%	30,36 ± 5,96	29,01 ± 6,23
EBH 10,0%	32,76 ± 6,31	30,70 ± 5,16
<i>Fêmeas</i>		
Veículo	28,62 ± 11,13	26,44 ± 10,60
EBH 2,5%	25,27 ± 10,30	25,92 ± 9,40
EBH 5,0%	26,57 ± 12,96	25,26 ± 11,32
EBH 10,0%	21,04 ± 8,19	20,10 ± 8,00

R₁: medida da epiderme até o fim da crista

R₂: medida da epiderme até o início da papila.

Sendo assim, como o extrato não apresentou irritação dérmica nos animais testados, foi possível ampliar e prosseguir com os estudos do mesmo, analisando, por exemplo, a eficácia terapêutica tópica *in vivo*.

Conclusões

Com os resultados obtidos é possível concluir que o extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium* não causou irritação dérmica na pele dos animais testados em nenhuma concentração, mostrando-se seguro no modelo utilizado.

Agradecimentos

Este trabalho recebeu apoio financeiro da Fundação Araucária, CAPES, CNPq e FINEP, e COMCAP (Complexo de Centrais de apoio à Pesquisa) da UEM, onde foram feitos os cortes.

Referências

ALONSO, J. R. Tanaceto. **Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas.** Buenos Aires: Isis, 1998, p. 908-911.

BRADY, R. C. BERNSTEIN, D. I. **Treatment of herpes simplex virus infections.** Antiviral Research; v. 61, n. 2, p. 73-81, Fevereiro de 2004.

CHATTOPADHYAY, D.; CHAWLA-SARKAR, M.; CHATERJEE, T.; DEY, R. H.; BAG, P.; CHAKRABORTI, S.; KHAN, M. T. H. **Recent advancements for the evaluation of anti-viral activities of natural products.** New Biotechnology, v. 25, n. 5, p.347-368, Junho de 2009.

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

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