

ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA DA EFICÁCIA TERAPÊUTICA ORAL *IN VIVO* DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE *TANACETUM PARTHENIUM*

Thays Rosa da Silva (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Érica Benassi Zanqueta (colaboradora), Tania Ueda Nakamura (Orientador), e-mail: tunakamura@uem.br

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/ Farmácia

Palavras-chave: eficácia terapêutica oral, *Tanacetum parthenium*, análise histopatológica

Resumo:

O Herpes simples tipo 1 é um vírus DNA de fita dupla, envelopado, causador de lesão orofacial no hospedeiro. Pode permanecer latente no organismo, sendo reativado quando o indivíduo é submetido ao estresse ou estiver imunocomprometido. O tratamento padrão consiste na administração de análogos de nucleosídeos, como o aciclovir. Entretanto, esta classe de fármacos pode causar toxicidade, quando administrado via oral além de selecionar cepas resistentes, devido o tratamento prolongado. Sendo assim, é necessário a busca de novos agentes antivirais. O *Tanacetum parthenium* é uma planta herbácea com atividade antiviral, utilizada na medicina popular. A atividade anti-herpética do extrato hidroetanólico de *T. parthenium* já foi demonstrada *in vitro*, assim como sua segurança oral *in vivo*. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar a eficácia terapêutica oral *in vivo* do extrato hidroetanólico de *T. parthenium* por meio da análise histopatológica da pele de animais infectados e tratados, comparado àqueles infectados e não tratados. A análise histológica evidenciou que o tratamento com o extrato de *T. parthenium* foi capaz de reduzir a infecção por HSV-1, assim como o aciclovir, além de reduzir o infiltrado inflamatório e dar um aspecto mais cicatrizado às lesões, confirmando que o extrato de *T. parthenium* é de fato eficaz no tratamento das lesões na pele causadas pelo HSV-1 no modelo testado.

Introdução

O Herpes Simples tipo 1, é um vírus pertencente à família *Herpesviridae*, com DNA de fita dupla, envelopado e amplamente disseminado na população mundial. É responsável por causar lesões

orofaciais e, após a infecção primária, permanece latente podendo ser reativado dependendo do estado imunológico do hospedeiro (MENENDEZ, 2017).

O tratamento padrão consiste na administração de análogos de nucleosídeos. Tais fármacos são muito seletivos para células epiteliais infectadas, uma vez que são fosforilados pela uma enzima timidina quinase (TK) viral. Após a primeira fosforilação, a molécula sofre outras 2 fosforilações por enzimas celulares e é utilizada como substrato pela DNA polimerase viral. Sendo assim, a enzima DNA polimerase é inativada ao ligar-se a fita de DNA contendo o fármaco (PIRET; BOIVIN, 2011). Apesar de tal seletividade, estes fármacos podem causar efeitos adversos como neurotoxicidade e nefrotoxicidade quando administrado por via oral (CONSOLARO, 2009).

O *Tanacetum parthenium* é uma planta herbácea pertencente à família Asteraceae, já utilizada pela medicina popular no tratamento de cólicas, febre e lesões na pele. A composição exata do *T. parthenium* ainda não foi determinada, entretanto sabe-se que os principais constituintes são compostos fenólicos, como lactonas sesquiterpênicas, flavonoides, sesquiterpenos, monoterpenos e taninos (PAREEK et al., 2011). Nosso grupo de pesquisa já determinou a citotoxicidade e seu potencial efeito anti-herpético *in vitro* do extrato bruto hidroetanólico (EBH), frações e substâncias isoladas, sendo que o EBH apresentou o melhor índice de seletividade (ZANQUETA, 2014).

A fim de confirmar os resultados obtidos *in vitro*, o presente trabalho tem como objetivo determinar a eficácia terapêutica oral *in vivo* do extrato hidroetanólico de *T. parthenium* por meio de análise histopatológica.

Materiais e métodos

Os testes *in vivo* foram conduzidos pela aluna de doutorado Érica Benassi Zanqueta e o projeto foi aprovado previamente pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá (CEUA – UEM parecer 122/2014). Para a avaliação da eficácia terapêutica oral *in vivo*, 40 camundongos Balb-c, 20 fêmeas e 20 machos, foram epilados e tiveram a pele escarificada, com agulha estéril. Posteriormente, foram infectados com suspensão de HSV-1 cepa KOS na concentração de 10^5 UFP/ml. Na sequência, realizou-se durante 10 dias o tratamento por gavagem, uma vez ao dia, sendo que os animais do grupo controle foram tratados com aciclovir (10 mg/kl) e os animais do grupo teste foram tratados com o extrato de *T. parthenium* (4 e 8 mg/kg). Após o término do tratamento os animais foram eutanasiados e sua pele foi coletada e preparada para análise histopatológica.

Após a coleta, a pele foi fixada com solução de formalina tamponada 10%, desidratada em concentrações crescentes de etanol (70-100%) e clarificada em xilol. O tecido foi embebido em parafina derretida, para evaporação do xilol e impregnação da parafina. O mesmo foi seccionado em micrótomo com espessura de 6µM e os cortes, semi-seriados, foram

corados com hematoxilina-eosina para confecção das lâminas. Para a análise histológica do material coletado foi utilizado o microscópio óptico BX-41 (Olympus, Tokyo, Japan) com câmera de alta resolução Q Color 3 (Olympus American Inc. Canada) com objetiva de 40x, para a observação das alterações microscópicas na epiderme dos animais infectados com HSV-1 e tratados.

Resultados e Discussão

Observou-se na análise histopatológica a presença de células infectadas, gigantes e multinucleadas; inclusões intracelulares; desorganização do epitélio; marginalização da cromatina dentre outros aspectos morfológicos no tecido dos animais infectados e não tratados ou tratados com o veículo.

A análise histopatológica da infecção (Figura 1) mostrou que o tratamento oral com EBH foi capaz de reduzir os efeitos danosos provocados pelo HSV-1 na pele dos animais. Desta forma, observou-se diminuição do espessamento da camada córnea, redução da desorganização epitelial e atenuação da inflamação em animais tratados com EBH quando comparados com animais infectados e não tratados ou tratados com o veículo.

Ainda, o aspecto cicatrizado e a involução da infecção no tratamento com o EBH foi muito semelhante ao aciclovir. Logo, o tratamento com o EBH acelera a cicatrização da lesão e, conseqüentemente, evita infecção secundária com bactérias oportunistas. O tratamento com EBH, via oral, reduziu a formação de crosta associado ao espessamento da camada córnea, assim como o tratamento com o Aciclovir.

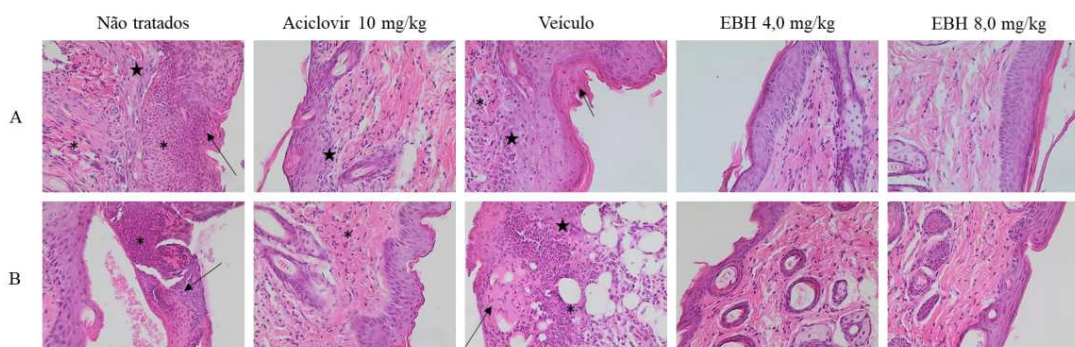


Figura 1 – Aspecto geral da pele dos machos (A) e fêmeas (B) nas diferentes concentrações do tratamento oral com EBH após a infecção com HSV-1. Asteriscos indicam infiltrado inflamatório epitelial; setas indicando espessamento da camada córnea; estrela indicando desorganização epitelial (Aumento 40x).

Conclusões

Com os resultados obtidos é possível concluir que o extrato hidroetanólico de *Tanacetum parthenium* apresenta potencial atividade anti-herpética no modelo e esquema terapêutico utilizado, o qual confirma os testes *in vitro* quanto a sua eficácia.

Agradecimentos

À Fundação Araucária, CAPES, CNPq, FINEP, e COMCAP (Complexo de Centrais de apoio à Pesquisa) da UEM.

Referências

CONSOLARO, A.; CONSOLARO, M. F. Diagnóstico e tratamento do herpes simples recorrente peribucal e intrabucal na prática ortodôntica. **Revista Dental Press Ortodontia Ortopedia Facial**, v. 14, n.3, p.16-21, 2009.

MENENDEZ, C. M.; CARR, D. J. J. Defining nervous system susceptibility during acute and latent herpes simplex virus-1 infection. **Journal of Neuroimmunology**, p. 1-7, 2017.

PAREEK, A.; SUTHAR, M.; RATHORE, G.S.; BANSAL, V.. Feverfew (*Tanacetum parthenium L.*): a systematic review. **Pharmacognosy reviews**, p. 103-110, 2011.

PIRET, J.; BOIVIN, G. Resistance of herpes simplex virus to nucleoside analogues: mechanism, prevalence and management. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 2, 2011.

ZANQUETA, E. B. **Atividade anti herpes virus do extrato hidroetanólico e frações das partes aéreas de *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz-Bip. e modo de ação do partenólídeo.** 2014. 71f. Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Maringá, 2014.