

Alimentos vegetais podem auxiliar na prevenção e tratamento de doenças virais?

Ewerton Vinícius Macarini Bruzaferro^{1*}, Karina Alves de Toledo¹, Bruno Rafael Pereira Lopes¹,

Fatima Pereira de Souza²

¹Univ Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Letras, Departamento de Ciências Biológicas, Av. Dom Antônio, 2100, 19806-900, Assis, SP

²Univ Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Departamento de Física, Rua Cristovão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, 15054-000, São José do Rio Preto, SP

*ebruzaferro@gmail.com

Palavras-chave: cultivo celular, flavonoide, inibidores, quercetina, vírus sincicial respiratório

Em todo o mundo, estima-se que ocorram anualmente cerca de 15 milhões de novos casos de infecção do trato respiratório inferior (traqueia, pulmões, brônquios e bronquíolos) em crianças, causados por diferentes tipos de vírus respiratórios. Destas crianças, aproximadamente 5 milhões acabam falecendo todos os anos devido à falta de cuidados ou tratamentos eficientes. Dentre todos os vírus causadores de doenças respiratórias presentes no ambiente, o vírus sincicial respiratório humano (hRSV) é aquele que mais contribui para o desenvolvimento de doenças como **bronquiolite**, pneumonia e infecções pulmonares obstrutivas crônicas em crianças e idosos, resultando em altas taxas de **morbidade** e mortalidade. Nos dias de hoje, a detecção da infecção pelo hRSV está cada vez mais simples graças aos avanços da ciência, porém, ainda não existem vacinas ou medicamentos eficazes que combatam diretamente o vírus.

Ao analisar o ciclo de vida de um vírus, é possível imaginar diversas maneiras de interferir diretamente em uma das etapas do seu desenvolvimento através de drogas sintéticas ou naturais. As principais fases que compreendem a infecção vírus-célula são adesão e fusão, transcrição e replicação, montagem e liberação e/ou brotamento (Figura 1).

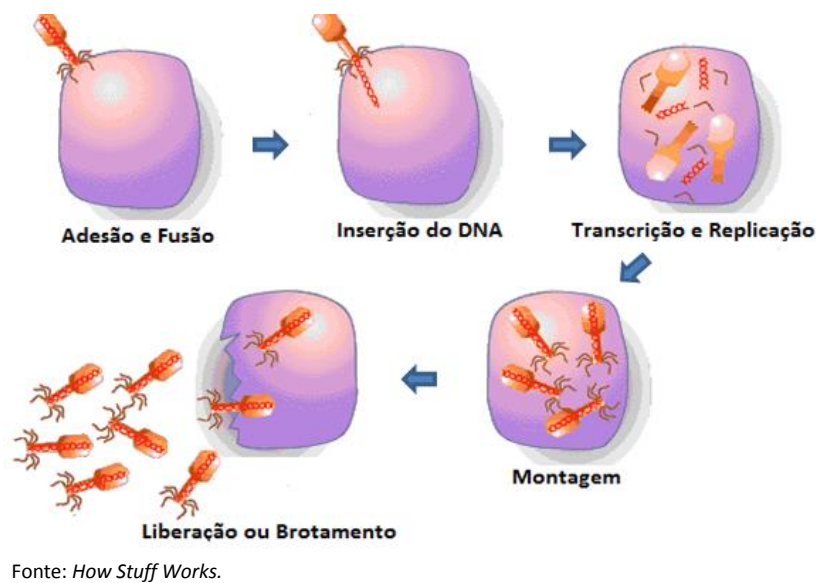


Figura 1 - Exemplo esquemático de uma infecção viral. Na adesão o vírus se liga à membrana plasmática da célula e posteriormente se funde a ela na fase de fusão. Assim, seu material genético é inserido dentro da célula, onde ele é lido na fase de transcrição e multiplicado na fase de replicação. Na fase de montagem, todas as partes formadas do vírus durante a replicação são unidas e ele é expelido da célula hospedeira na fase de liberação ou brotamento. Quando o vírus toma para si uma parte da membrana plasmática durante o brotamento, ele é chamado de vírus encapsulado ou envelopado.

Apesar de nenhuma droga eficiente ter sido encontrada para combater diretamente o hRSV, sabe-se atualmente, que muitos dos compostos químicos naturais e sintéticos atuam inibindo a fase de fusão, impedindo a sua entrada na célula hospedeira. A quercetina, classificada no grupo dos **flavonoides** é um destes compostos naturais que parece possuir ação antiviral contra o hRSV e outras espécies virais, como também ação anti-bactericida. Ela é encontrada em alimentos como maçã, cebola, vinho tinto, entre outros.

Um estudo realizado na Unesp, FCL-Assis em parceria com outras universidades, visou determinar se a quercetina possui de fato um potencial farmacológico como droga anti-hRSV.

Inicialmente, foi necessário determinar o quão tóxico para as células a quercetina é, utilizando como base a CC50 (quantidade mínima necessária do composto para matar 50% das células). Foram aplicadas diferentes concentrações de quercetina em células previamente incubadas em uma placa para cultura de células (Figura 2). Todas as concentrações entre 200 μM e 1,56 μM



foram testadas três vezes.

Fonte: *BioLab*

Figura 2 - Placa para cultura de células utilizada para incubar as células HEp-2.

O valor correspondente à CC50 foi o de 10 μM , ou seja, valores superiores indicam que a quercetina é causadora da morte de mais de 50% das células, o que impossibilita determinar posteriormente se a morte celular é devido ao vírus ou ao composto testado. Conhecendo este valor, foi possível dar sequencia aos experimentos para verificar se a molécula da quercetina age se ligando ao vírus, evitando que ele se funda à célula ou se atua na célula impedindo que ocorra a replicação viral.

O efeito anti-hRSV da quercetina foi testado em três situações específicas: pré-tratamento, virucida e pós-tratamento. O pré-tratamento consistiu na administração de diferentes concentrações da quercetina às células saudáveis durante 2h antes da inoculação do vírus. O tratamento virucida consistiu em deixar a droga em diferentes concentrações em contato com o vírus durante 2h antes de colocá-los em contato com as células saudáveis. O pós-tratamento consistiu em inocular previamente o vírus nas células e após 2h, colocá-las em contato com diferentes concentrações da droga. Todos os experimentos foram acompanhados durante 3 dias, tempo necessário para verificar a CE50 (concentração máxima de proteção conferida pela droga capaz de manter 50% das células vivas durante a infecção viral), mantidos a uma temperatura de 37°C em uma estufa. Todos os experimentos foram realizados seis vezes e a quantidade de partículas virais utilizadas para cada grupo de células incubadas foi de 0,1 M.O.I.

A quercetina não se mostrou eficaz nos testes de pré-tratamento e virucida, contudo, ela foi eficiente no pós-tratamento (Figura 3). Dos dados obtidos na Figura 3, foi possível determinar a CE50 para apenas uma concentração de quercetina, nas demais, ela não foi eficiente no combate à infecção viral. Assim, para a concentração de 1,25 μM de quercetina foi possível observar a proteção de pelo menos 50% das células durante o pós-tratamento (Figura 3), constatando uma possível ação antiviral nesta condição.

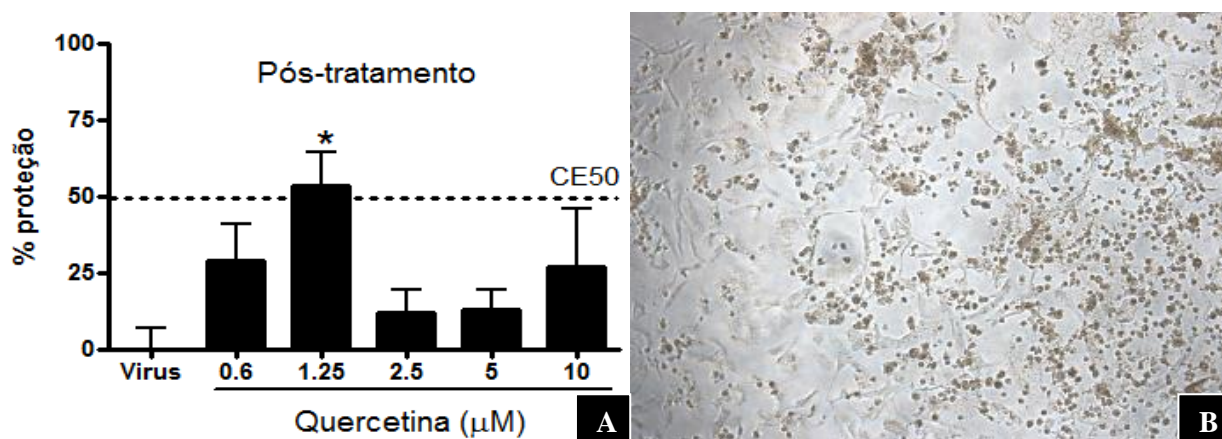


Figura 3 - A. Gráfico representando os resultados obtidos no pós-tratamento, evidenciando a concentração de 1,25 μM que conferiu a proteção mínima de 50% para as células. B. Imagem representando as células vivas após a inserção do vírus e o tratamento feito pela quercetina em um aumento de 100x.

Com os valores da CC50 e da CE50, foi possível calcular o Índice de Seletividade (IS), que aponta quão promissora a droga é em certa concentração ao combater o vírus, sem danificar as células. O Índice de Seletividade se dá pela razão entre a CC50 e a CE50; considera-se um bom resultado quando os valores obtidos são maiores do que 4. Como o valor para a CC50 foi de 10 μM e o valor para a CE50 foi de 1,25 μM para o pós-tratamento, a razão entre elas resulta no valor 8. Assim, a quercetina pode ser considerada uma droga promissora no combate ao hRSV no pós-tratamento.

Como não houve resultados expressivos durante o pré-tratamento e o teste virucida, pode-se concluir que não há interação direta entre a molécula de quercetina e o vírus, como também não há mecanismos que impeçam o vírus de infectar a célula após o contato direto com a quercetina. Com a obtenção dos resultados satisfatórios apenas durante o pós-tratamento, pode-se levantar a hipótese de que a ação da quercetina não se dá nas primeiras fases do ciclo viral (adesão e fusão), podendo atuar em etapas mais tardias como na formação das partículas virais (transcrição e replicação), como também na fase de brotamento. Dessa forma, podemos inferir que a ingestão diária de alimentos com quercetina pode auxiliar no combate a doenças respiratórias virais, especialmente o hRSV, durante a infecção viral. Estudos posteriores são necessários para determinar o mecanismo de ação da quercetina no pós-tratamento, como também, demonstrar a sua eficiência em organismos vivos.

Glossário

Bronquiolite – Inflamação nos bronquiolos comumente observada em crianças, havendo inchaço e acúmulo de muco.

Flavonoides – Designação dada a um grupo de moléculas produzidas durante o metabolismo de diversas espécies de vegetais.

M.O.I. – Medida utilizada para representar a razão entre a quantidade de partículas virais de interesse em relação ao número de células alvo. Ex. se o experimento utilizar 5 partículas virais para cada 10 células, o M.O.I. será de 0,5.

Morbidade – Refere-se à quantidade de indivíduos que adquiriram determinada doença em um dado intervalo de tempo. Denota-se morbidade aos agravos causados pela doença e ao seu comportamento durante o curso da infecção.

Referências bibliográficas

Bawage, S.S., Tiwari, P.M., Pillai, S., Dennis, V., Singh, S.R. 2013. Recent advances in diagnosis, prevention, and treatment of human respiratory syncytial virus. **Advances in Virology**, 2013: 595768.

Bruzafarro, E.V.M., Toledo, K.A., Lopes, B.R.P., Souza, F.P. 2015. **Quercetina: um flavonoide eficiente no pós-tratamento de células infectadas pelo vírus sincicial respiratório (hRSV)**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP.

Kaul, T.N., Middleton, E., Ogra, P.L. 1985. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. **Journal of Medical Virology**, 15: 71-79.