

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

GRAÇA EMANUELA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DA
INFLORESCENCIA DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DA GLICOSE**

Juazeiro do Norte – CE
2019

GRAÇA EMANUELA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DA
INFLORESCENCIA DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DA GLICOSE**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às exigências para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

GRAÇA EMANUELA DO NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DA
INFLURECENCIA DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DA GLICOSE**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do
Curso de Graduação em Biomedicina do Centro
Universitário Leão Sampaio, em cumprimento às
exigências para a obtenção do grau de bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Esp. Wenderson Pinheiro de Lima

Data de aprovação: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof: Esp. Wenderson Pinheiro de Lima
Orientador

Prof^a Ma. Maria Karollyna Do Nascimento Silva Leandro
Examinador 1

Prof^a: Esp. Maria Dayane Alves de Aquino
Examinador 2

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DA INFLURECENCIA DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DA GLICOSE

Graça Emanuela do Nascimento¹, Wenderson Pinheiro de Lima².

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar a interferência *in vitro* do extrato aquoso das folhas de *Bidens pilosa* na dosagem da glicose. O material botânico foi coletado em um terreno no município de Juazeiro do Norte, e posteriormente, as folhas foram imersas em água fervente (100°C) por 10 minutos, de modo a obter uma infusão, em seguida congelado e submetido a secagem mediante o uso do liofilizador. Para as análises laboratoriais, o material foi diluído em água destilada, de modo a obter concentrações de 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL. Foram coletadas 14 amostras de soro de pacientes atendidos na clínica escola do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. A partir das amostras coletadas foi preparado um *pool* de análise, foi dosada a concentração inicial da glicose, representando assim o controle. O Extrato aquoso de *Bidens pilosa* foi adicionado ao soro nas concentrações de 5mg/dl, 10mg/dl e 40mg/dl. A Glicose foi determinada em quintuplicata, após terem se passado 2, 6 e 24 horas da adição do extrato. O *pool* de análise foi separado em dois grupos: temperatura ambiente protegido da luz e ausente da luz. Não houve diferença significativa em relação a concentração utilizada, o que interviu foi o tempo de contato do extrato aquoso com o *pool* de soro. Após duas horas de contato do *pool* de soro com o extrato, em diferentes concentrações, protegido e exposto a luz, houve uma redução significativa do valor da glicose em relação ao controle, de 0,0001, já em 6 horas não houve resultados relevantes e em 24 horas $p < 0,015$. Conclui-se que o Extrato aquoso de *Bidens pilosa* é capaz de interferir negativamente *in vitro* na dosagem da glicose em diferentes intervalos de tempo.

Palavras-chave: *Bidens pilosa*. Glicemia. Interferência *in vitro*. Plantas medicinais.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE *in vitro* INTERFERENCE OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *Bidens pilosa* INFLUENCE ON GLUCOSE DETERMINATION

The aim of this study was to evaluate the *in vitro* interference of aqueous extract of *Bidens pilosa* leaves on glucose measurement. The botanical material was collected on a ground in the municipality of Juazeiro do Norte, and afterwards, the leaves were immersed in boiling water (100°C) for 10 minutes, to obtain an infusion, then frozen and dried using the freeze dryer. For laboratory analysis, the material was diluted in distilled water to give concentrations of 5 mg / dL, 10 mg / dL and 40 mg / dL. Fourteen serum samples were collected from patients treated at the school clinic of the Doctor Leão Sampaio University Center. From the collected samples an analysis pool was prepared, the initial glucose concentration was measured, thus representing the control. The aqueous extract of *Bidens pilosa* was added to the serum at concentrations of 5mg / dl, 10mg / dl and 40mg / dl. Glucose was determined in quintuplicate after 2, 6 and 24 hours after the addition of the extract. The analysis pool was separated into two groups: ambient temperature protected from light and absent from light. There was no significant difference in relation to the concentration used, what intervened was the contact time of the aqueous extract with the serum pool. After two hours of contact of the serum pool with the extract, at different concentrations, protected and exposed to light, there was a significant reduction in the glucose

¹Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio; juka.nascimento@hotmail.com.

²Discente do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio; wenderson@leaosampaio.edu.br.

value compared to the control, of 0.0001, in 6 hours there were no relevant results and within 24 hours $p < 0.015$. It was concluded that *Bidens pilosa* aqueous extract is capable of negatively interfering in vitro glucose measurement at different time intervals.

Keywords: *Bidens pilosa*. Blood glucose. *In vitro*. Interference. Medicinal plants

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais revela um importante meio para prevenir, tratar e curar inúmeras doenças, é um método alternativo e muito utilizado. Muitas vezes é feito o uso com base nos conhecimentos apurados de um contato direto do indivíduo com o meio em que se vive e através de uma herança familiar, situação em que o conhecimento sobre essas espécies é repassado para pessoas mais jovens e essa cultura vai passando de geração para geração, predominando o etnoconhecimento (BARBOSA, 2016; CEOLIN et al., 2011).

Bidens pilosa, popularmente conhecida como picão-preto, é uma planta herbácea, com incidência na América do Sul. No Brasil está em maior concentração nas regiões agrícolas do Sul e Centro-Oeste, suas infestações podem ocorrer em épocas mais quentes. É uma planta daninha, invasora e muito agressiva, pode servir de hospedeiro para doenças e pragas podendo levar a perdas consideráveis de produtividade em culturas agrícolas (RABÊLO, 2016).

Essa planta é popularmente utilizada para tratar mais de 40 desordens, além disso possui atividade como antisséptico bucal, tratamentos conta amigdalites, icterícia, diabetes, entre outras. As principais ações farmacológicas de *Bidens pilosa* estão relacionadas à sua composição química, rica em Flavonoides e Poliacetilenos (GONÇALVES, 2015; LUZ, 2018).

Geralmente o conhecimento de plantas com fins terapêuticos é praticado sem apoio médico, representando um risco potencial para a população. Existe a possibilidade de interação entre esses produtos naturais e os medicamentos, além da interferência dos mesmos em resultados de exames laboratoriais, causando um falso aumento ou diminuição dos resultados, expandindo para um diagnóstico equivocado, colocando em risco a saúde do paciente (MOURA, 2015; KÜLKAMP et al., 2007).

Dentre os exames que podem sofrer interferência pelo uso de plantas medicinais, é importante destacar a determinação da glicemia de jejum, que é o teste mais comum e solicitado no diagnóstico de Diabetes, segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). Ele tem como princípio a oxidação da glicose através da catalisação pela glicose oxidase (LABTEST, 2001) e é considerado normal quando, em jejum, a taxa de glicose se apresentar inferior a 100 mg/dL (MILECH et al., 2016).

Tendo em vista que erros em exames podem levar a resultados alterados e com isso, intervir na terapêutica a ser adotada por pacientes, o uso de chás medicinais pode provocar alterações bioquímicas importantes. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a interferência *in vitro* do Extrato Aquoso das folhas de *Bidens pilosa* (EABP) na glicemia.

2 METODOLOGIA

Tratou-se de um estudo longitudinal prospectivo, quantitativo com abordagem de avaliação laboratorial (PEREIRA, 2001). O estudo foi realizado no laboratório de Bioquímica do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, entre os meses agosto e outubro de 2019.

As folhas da espécie vegetal foram coletadas em um terreno no município de Juazeiro do Norte, da qual foi preparada exsicata que foi depositada no Herbário Dárdano de Andrade Lima (Herbário da Universidade Regional do Cariri - URCA), sob o *voucher* de número 12.786. Posteriormente, as folhas foram imersas em água fervente (100°C) por 10 minutos, de modo a obter uma infusão.

Após isso, o material obtido foi congelado em *freezer* (-2°C a -8°C) (CRC28F - CONSUL) e, posteriormente, submetido a secagem mediante o uso de aparelho liofilizador (K105 - LIOTOP®). O extrato aquoso obtido após a secagem foi mantido em congelador (-2°C a -8°C) até o início dos ensaios. Para as análises laboratoriais, o material foi diluído, então, em água destilada, de modo a obter concentrações de 5 mg/dL, 10 mg/dL e 40 mg/dL.

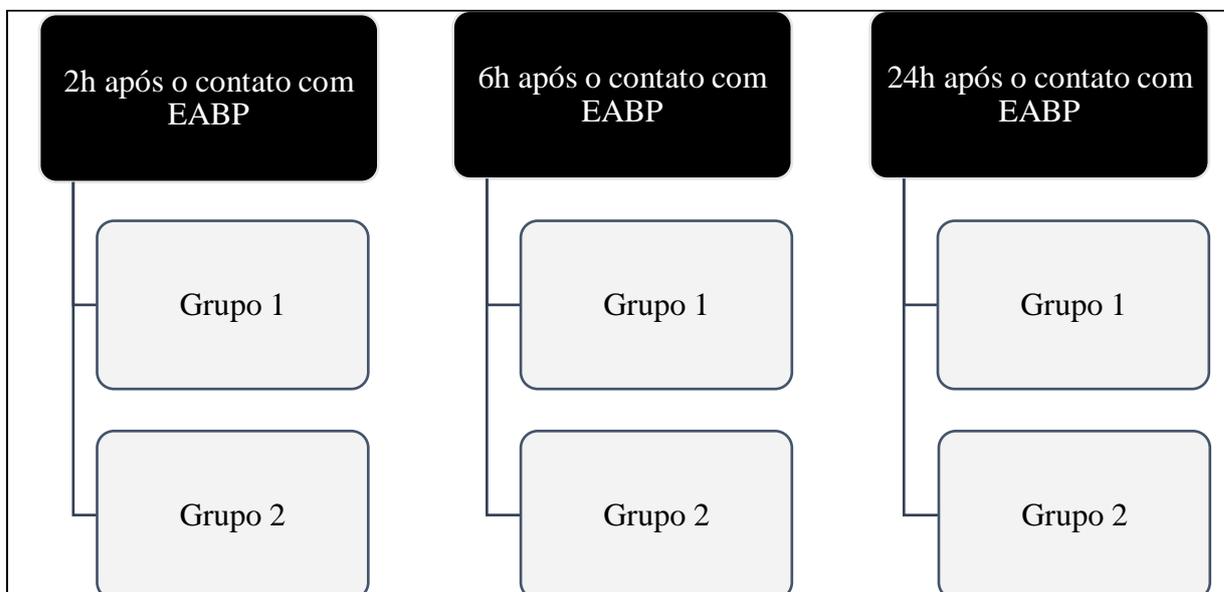
Foram coletadas 14 amostras de soro de pacientes atendidos na clínica escola do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, do sexo masculino, que não estiveram fazendo uso de medicamentos, com idade superior a 18 anos e que não tenham nenhuma doença crônica. Além disso, foram desconsideradas as amostras de caráter lipêmico, hemolisadas ou com volume inferior a 50µl. Para obtenção das amostras, foram solicitados os documentos Termo de Fiel Depositário e Carta de Anuência.

A partir das amostras coletadas foi preparado um *pool* de análise. Em um Becker foi adicionado 500 µl de cada amostra e homogeneizou, foi dosada a concentração inicial da glicose do pool de análise, representando assim o controle.

O EABP foi adicionado ao soro nas concentrações de 5mg/dl, 10mg/dl e 40mg/dl. A concentração de glicose foi determinada em quintuplicata, após terem se passado 2, 6 e 24 horas da adição do extrato. O pool de análise foi separado em dois grupos: (1) armazenamento em temperatura ambiente desprotegidos de luz e (2) armazenamento em temperatura ambiente

protegidos da luz. Para a determinação das concentrações de glicose no *pool* de soro, foram utilizados os kits laboratoriais da Labtest®.

Quadro 1: Distribuição dos grupos de análise na pesquisa.



Fonte: Primária.

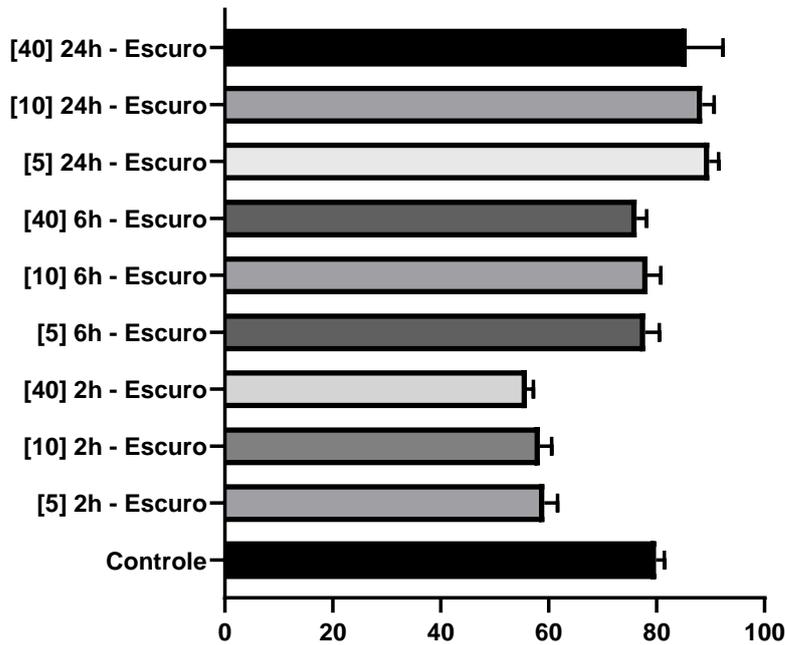
Os resultados foram tabulados de forma numérica, utilizando o programa *Graph Pad Prism 5.0*. Foi utilizado o teste ANOVA associado ao teste de comparações múltiplas de Dunnet para a avaliação de diferenças entre as médias dos grupos avaliados. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas aquelas com $p < 0,05$.

O presente estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa, através da Plataforma Brasil, respeitando os preceitos éticos apresentados na RDC 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato aquoso de *Bidens pilosa* foi adicionado ao *pool* de soro, nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dl. Após duas horas de contato do *pool* de soro com o extrato, em diferentes concentrações, protegido e exposto a luz, houve uma redução significativa do valor da glicose em relação ao controle, de 0,0001.

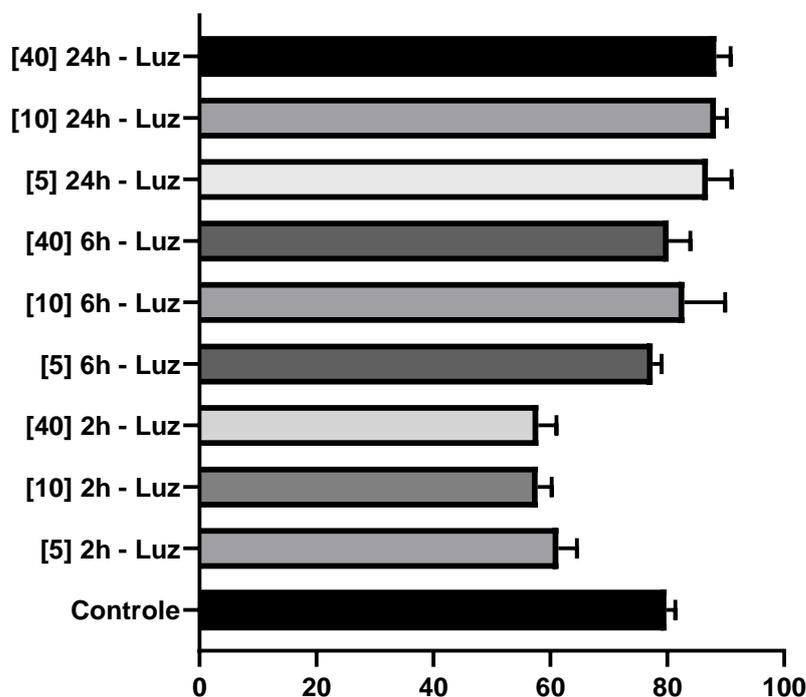
Gráfico 1: Dosagem da glicose após duas, seis e vinte e quatro horas de contato com o Extrato aquoso de *Bidens pilosa*, ausente da luz, nas concentrações de 5 mg/dl, 10 mg/dl e 40 mg/dl.



Fonte: Primária.

É possível perceber que não houve diferença significativa em relação a concentração utilizada, o que interviu foi o tempo de contato do extrato aquoso com o *pool* de soro. Após 2 horas de contato houve uma redução considerável no valor da glicose, quando comparado com o controle. Já 6 horas após o contato do extrato com o *pool* de soro, o valor da glicose ficou aproximado do valor do controle do teste. Depois de 24 horas, o valor da glicose sofreu uma elevação significativa de $p < 0,015$.

Gráfico 2: Dosagem da glicose após duas, seis e vinte e quatro horas de contato com o Extrato aquoso de *Bidens pilosa*, exposto a luz, nas concentrações de 5 mg/dl, 10 mg/dl e 40 mg/dl.



Fonte: Primária.

Pode-se observar que após duas horas de contato do extrato com o *pool* de soro houve uma diminuição significativa do valor da glicose em relação ao controle do teste, com $p < 0,0001$. Seis horas após o contato, o valor da glicose se assemelha com o controle, sendo irrelevante. Já vinte e quatro horas após o contato, ocorreu uma elevação do valor da glicose, com $p < 0,015$.

Na composição fitoquímica de *Bidens pilosa* os principais elementos considerados como ativos responsáveis as várias ações farmacológicas da planta são poliacetilenos, flavonóides, terpenoides e alguns óleos essenciais (XUAN; KHANH, 2016). O poliacetileno é um polímero resultante da desnaturação dos ácidos graxos, encontrada principalmente nas espécies Astearaceae e Apiacea. Localizado principal nas folhas e nos talos (DE REZENDE et al., 2016). Este composto possui, descritas na literatura, atividades biológicas tanto *in vivo* (efeito antitumoral) quanto *in vitro* (antioxidante e antimicrobianas) (KVIECINSKI et al., 2013).

A atividade oxidante dos compostos fenólicos, presentes em plantas medicinais, agem como substância redutoras, doa oxigênio e quela os metais. Dessa forma intervindo nas reações que envolvem óxido redução, onde o peróxido de hidrogênio e a peroxidase são usados na forma

de cromógeno, é o que acontece na reação de Trinder. Reação empregada na Bioquímica na determinação da glicose, colesterol, triglicérides e ácido úrico (LANDIM, 2018). Os compostos fenólicos fazem parte da composição fitoquímica de *Bidens pilosa*.

Santos et al., 2018, aplicou uma metodologia semelhante, utilizou o extrato de *Lippia sidoides* e avaliou sua interferência na glicose dosada no plasma fluoretado. Os resultados apresentados mostram que após uma hora, na concentração de 10 mg/dl houve um aumento dos valores da glicose. Isso se explica pois na composição do extrato utilizado por ele contém iridoídeos glicosilados, que possivelmente interferiram na reação. O que se assemelha é sua composição fitoquímica, constituída por flavonoides e chalconas, que se assemelha com *Bidens pilosa*.

Em um estudo realizado por Silva, 2017, verificou-se a interferência *in vitro* do extrato aquoso de *Bidens pilosa* nas determinações bioquímicas de TGO (Transaminase glutâmico-oxalacética) e TGP (Transaminase glutâmico-pirúvica), no qual houve uma redução relevante em relação ao controle do teste. Quando analisado na concentração de 40 mg/dl obteve-se menor interferência que nas concentrações menores.

Já se conhece da literatura que amostras reagentes para VDRL sofreram alterações em função do tempo de exposição e da concentração do decocto de *Bidens pilosa*. Entretanto, a interferência foi acentuada a partir das determinações de VDRL em 4 e 24 horas. Sendo que houve ainda mais interferências no tempo de 2 horas que no de 4 horas. Tendo em vista que em todas as concentrações testadas, todas as amostras neste tempo sofreram alterações (SILVA, 2018).

Segundo Passos e colaboradores (2009), o consumo prolongado de algumas plantas medicinais (erva-cidreira, boldo, camomila, hortelã, entre outros) pode causar interferências tanto *in vivo* quanto *in vitro* nas dosagens bioquímicas de diversos marcadores, inclusive glicose, ALT, AST, gama GT, colesterol (falso aumento), bilirrubina total e ureia (falsa redução). Alguns dos mecanismos hipotetizados são: reação entre compostos fenólicos e componentes da reação colorimétrica (que provoca falsa diminuição), nefrotoxicidade e hepatotoxicidade (que provoca aumento indesejado).

4 CONCLUSÃO

O extrato aquoso de *Bidens pilosa* é capaz de interferir na dosagem da glicose em diferentes intervalos de tempo. Assim são necessários estudos mais aprofundados, inclusive

com testes *in vivo*, a fim de explicar os possíveis mecanismos interferentes não só de *Bidens pilosa*, mas também de outros produtos naturais, em exames bioquímicos.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, A. A. et al. Cultivo e uso de plantas medicinais pelos moradores de Alto Boa Vista–MT. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, 2016.

BRASIL. Lei nº 466, de 12 de Dezembro de 2012.

CEOLIN T. H. M. R. et al. Medicinal Plants: knowledge transmission in families of ecological farmers in souther Rio Grande do Sul. **Rev Esc Enferm USP**. 45(1):47-54, 2011.

DE REZENDE, F. M. et al. Vias de síntese de metabólitos secundários em plantas. **Laboratório de Ensino de Botânica**, v.1, n. 1, 2016.

GONÇALVES, R. D. M. R. **Avaliação de micronutrientes e sua influência no metabolismo secundário de *Bidens pilosa* e *Salvia officinalis*, plantas usadas no tratamento de diabetes**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2015.

KÜLKAMP, I. C. et al. Aceitação de práticas não-convencionais em saúde por estudantes de medicina da Universidade do Sul de Santa Catarina. **Rev bras educ méd**, v. 31, n. 3, p. 229-35, 2007.

KVIECINSKI, M. R. et al. **Atividade antitumoral de extratos de *Bidens pilosa* Linné ricos em poliacetilenos e de juglona associada ao ascorbato**. Dissertação de Mestrado em Área de Concentração: Fisiopatologia Animal. Universidade do Oeste Paulista. São Paulo, 2013.

LABTEST DIAGNÓSTICA S.A. **Procedimento Operacional Padrão para realização do teste de glicemia utilizando soro como amostra biológica**, Minas Gerais, 2011.

LANDIM, M. A. T. **Investigação da interação entre preparações à base de plantas medicinais e parâmetros laboratoriais**. Artigo científico para Graduação em Nutrição. Faculdade Juazeiro do Norte. Juazeiro do Norte, 2018.

LUZ, A. C. Diversidade genética de populações de *Bidens pilosa* e *Tithonia diversifolia* no Espírito Santo e respostas do metabolismo primário e secundário sob diferentes condições de fertilização e irrigação, 2018.

MILECH, A. et al. Diretrizes da sociedade brasileira de diabetes (2015-2016). **São Paulo: AC Farmacêutica**, 2016.

MOURA, J. A. P. **Interferência de medicamentos em exames laboratoriais**. Monografia [Graduação em Farmácia] - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2014.

PASSOS, A. M. et al. Potenciais Interferências nos Resultados de Exames Laboratoriais Causadas pelo Uso de Plantas Medicinais por Pacientes HIV+ e/ou com AIDS. **Latin American Journal of Pharmacy**.v.28, n.1, p.196-202, 2009.

PEREIRA, M. G **Epidemiologia: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 596, 2001.

RABÊLO, G. O. et al. Potencial alelopático de *Bidens pilosa* L. na germinação e no desenvolvimento de espécies cultivadas. **Revista Científica da Faminas**, v.4, n.1, 2016.

SANTOS, H. G. et al. **Avaliação da interferência *in vitro* do extrato aquoso de *Lippia sidoides* Cham. Na determinação da glicemia plasmática.** Infarma-Ciências Farmacêuticas, v. 30, n. 3, p. 152-157, 2018.

SILVA, A.L.M. **Avaliação da interferência *in vitro* do decocto de *Bidens pilosa* L (asteraceae) no imunoensaio de VDRL.** Artigo científico para graduação em Biomedicina. Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Juazeiro do Norte, 2018.

SILVA, F. N. **Avaliação da interferência *in vitro* do decocto de folhas de *Bidens pilosa* L (Asteraceae) na determinação de parâmetros hepáticos.** Artigo Científico para Graduação em Biomedicina. Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Juazeiro do Norte, 2017.

XUAN, T. D.; KHANH, T. D. Chemistry and pharmacology of *Bidens pilosa*: an overview. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v.46, n.2, p.91-132, 2016.