

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CICERO JOSÉ CLEYTON DE SOUSA LIMA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DE
INFLORESCÊNCIAS DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL
TOTAL**

Juazeiro do Norte – CE
2019

CICERO JOSÉ CLEYTON DE SOUSA LIMA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DE
INFLORESCÊNCIAS DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL
TOTAL**

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

CICERO JOSÉ CLEYTON DE SOUSA LIMA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DE
INFLORESCÊNCIAS DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL
TOTAL**

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 Esp. Maria Dayane Alves de Aquino
Examinador 1

Prof.^a Ma. Raíra Justino Oliveira Costa
Examinador 2

*Dedico esse trabalho a todos que
contribuíram diretamente ou indiretamente em
minha formação.*

AGRADECIMENTOS

*Agradeço a todos que contribuíram no decorrer
desta jornada, em especialmente:*

A Deus, a quem devo minha vida.

*A minha família que sempre me apoiou nos
estudos e nas escolhas tomadas.*

*A Nair por sempre me incentivar e
compreender nos momentos difíceis.*

*Ao orientador Prof. Esp. Wenderson Pinheiro de Lima
que teve papel fundamental na
elaboração deste trabalho.*

*Aos meus colegas pelo companheirismo e
disponibilidade para me auxiliar em vários momentos
durante a graduação.*

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DO EXTRATO AQUOSO DE INFLORESCÊNCIAS DE *Bidens pilosa* NA DETERMINAÇÃO DO COLESTEROL TOTAL

Cícero José Cleyton de Sousa Lima¹; Wenderson Pinheiro de Lima²

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi analisar a interferência *in vitro* do extrato aquoso de inflorescências de *Bidens pilosa* (EABP) em dosagens de colesterol total. Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo e quantitativo. A espécie vegetal foi coletada, abrangendo caule, folhas, flores e sementes, na cidade de Cedro-CE, sendo a identificação da espécie realizada no Herbário Dárdano de Andrade Lima, Crato-CE. Para a obtenção do extrato foi realizado uma infusão a 100°C por 10 minutos e uma liofilização (Liotop – K105) para obtenção do produto final, mantido em refrigeração até o início dos ensaios. Para início dos testes foi solicitado na clínica escola o soro de 14 indivíduos do sexo masculino com idade superior a 18 anos do centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Após a obtenção dos soros foi feito um *pool* para início dos testes. O colesterol total foi dosado nos tempos de 2h, 6h e 24h após o contato com o EABP nas concentrações de 5 mg/dl, 10 mg/dl e 40 mg/dl e em ambientes distintos: temperatura ambiente com exposição à luz e em temperatura ambiente protegidas da luz. Os testes foram realizados no laboratório da UNILEÃO, campus saúde – Juazeiro do Norte-CE, em triplicata utilizando o método enzimático colorimétrico. Foi empregado o software *Graph Pad Prism 5.0* para a realização dos testes T pareado e ANOVA (*one way*) associado ao teste *post hoc* de comparações foram observado múltiplas de Dunnet para a avaliação de diferenças estatisticamente significativas, tendo resultados significativos no ambiente exposto a luz em concentrações de 40mg/dl na dosagem de 24h. Estudos vistos na literatura demonstram que os compostos fenólicos têm uma grande relevância quando se trata de interferência laboratorial, sendo esse um composto presente na *Bidens pilosa*. O presente trabalho evidenciou que ocorre alteração na dosagem do colesterol total após a exposição do EABP. Sugere-se a realização de futuras pesquisas para elucidar o real motivo da alteração.

Palavras chave: Picão preto. Interferência laboratorial. Análises clínicas. Bioquímica

EVALUATION OF *in vitro* INTERFERENCE OF AQUEOUS EXTRACT OF INFLORESCENCES OF *Bidens pilosa* ON THE DETERMINATION OF TOTAL CHOLESTEROL

ABSTRACT

The aim of the present study was to analyze the *in vitro* interference of EABP on total cholesterol levels. This is a prospective and quantitative longitudinal study. The plant species were collected, including stem, leaves, flowers and seeds, in the city of Cedro-CE. To obtain the extract, it was made an infusion at 100°C for 10 minutes and a lyophilization (Liotop - K105) to obtain the final product, which was kept refrigerated until the beginning of the tests. For the beginning of the tests, the serum was collected from 14 males over 18 years old from

¹Discente, Centro Universitário Dr. Leão Sampaio/UNILEÃO, cleytonsousa1993@gmail.com.

²Docente, Centro Universitário Dr. Leão Sampaio/UNILEÃO, wenderson@leaosampaio.edu.br.

the Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. After obtaining the sera, it was made a pool to start the tests. Total cholesterol was measured at 2h, 6h and 24h after contact with EABP at concentrations of 5 mg / dl, 10 mg / dl and 40 mg / dl and in different environments: Ambient temperature with light exposure and temperature environment protected from light. The tests were carried out at the UNILEÃO laboratory, campus Saúde - Juazeiro do Norte-CE, in triplicate using the colorimetric enzymatic method. Graph Pad Prism 5.0 software was used to perform paired T-tests and one-way ANOVA associated with the *post hoc* comparisons test. Dunnet multiples were used to evaluate statistically significant differences, having significant results in the light-exposed environment. concentrations of 40mg / dl at the 24h dosage. Studies seen in the literature show that phenolic compounds have great relevance when it comes to laboratory interference, which is a compound present in *Bidens pilosa*. The present study showed that there is a change in the total cholesterol dosage after EABP exposure. Future research is suggested to elucidate the real reason for the change.

Keywords: *Bidens pilosa*. Cholesterol. *In vitro*. Laboratory interference.

1 INTRODUÇÃO

As Doenças Crônicas Não Transmissíveis (DCNT) representam um dos principais problemas de saúde pública, chegando a afetar a vida de milhões de pessoas e gerando um impacto muito alto para governos e pacientes (BRASILINO et al., 2019). Fatores de risco como tabagismo, hipertensão arterial, sedentarismo e obesidade podem ocasionar em doenças cardiovasculares, que atuam de forma negativa na camada íntima dos vasos, levando ao início de doenças ateroscleróticas (PRADO JUNIOR et al, 2016).

Nesse contexto a dosagem de colesterol total (CT) é de grande importância, pois através dos parâmetros visualizado no momento da leitura podemos intervir em diversas patologias e principalmente as que atingem artéria coronariana que é responsável por grande numero de mortes em todo mundo (CASTRO JUNIOR et al, 2017).

Estudos prospectivos acerca desse assunto indicaram que a redução de 38,6mg/dL de CT foi associada à uma redução da metade da mortalidade de doença cardiovascular isquêmica em indivíduos entre 40-49 anos, um terço entre 50-69 anos e um sexto entre 70-89 anos(FONTANELLI et al, 2018).

Os estudos acerca do uso de plantas medicinais possuem grande importância, dado que ampla parcela da população mundial faz uso das mesmas. O conhecimento a respeito do uso de plantas medicinais, que é comum no tratamento de diversas enfermidades, é subsidio importante na produção de conhecimento científico a respeito das propriedades químicas e metabólicas de produtos naturais.

O uso constante de substâncias exógenas (medicamentos e plantas medicinais) causa grandes problemas ao paciente podendo provocar alterações metabólicas, gerando

probabilidade de interferência em testes realizados em laboratório (TAVARES et al., 2015). No entanto, na rotina laboratorial, diversos marcadores estão sujeitos à interferência (MARTINELLO et al., 2003).

Grande parte da população faz uso de plantas medicinais para fins terapêutico e uma das mais comuns é a espécie *Bidens pilosa* originária da América de região tropical, sendo sua maior ocorrência na América do Sul. Atualmente, disseminada em quase todo o território brasileiro e a maior parte está concentrada nas áreas agrícolas do centro-sul do país. A espécie *Bidens pilosa* (popularmente conhecida como Picão preto) utilizada para tratar inflamações, como artrite, dor de garganta ou dor muscular, por exemplo, devido às suas excelentes propriedades anti-inflamatórias e diversas outras enfermidades (TEXEIRA et al., 2015).

Os estudos acerca do uso de plantas medicinais possuem grande importância, dado que ampla parcela da população mundial faz uso das mesmas. O conhecimento a respeito do uso de plantas medicinais, que é comum no tratamento de diversas enfermidades, é subsídio importante na produção de conhecimento científico a respeito das propriedades químicas e metabólicas de produtos naturais.

Tendo em vista que plantas medicinais são comumente utilizadas com intuítos diversos, a mesma poderá provocar interferência nas dosagens de CT de pacientes que fazem o seu uso crônico. Sendo assim, o presente estudo visa avaliar a interferência *in vitro* do EABP na dosagens do CT.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 TIPO DE ESTUDO

Trata-se de um estudo longitudinal prospectivo, quantitativo com abordagem de avaliação laboratorial. (CAVALCANTI, 2003).

2.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

O estudo foi realizado durante o mês de agosto de 2019 no laboratório de Bioquímica do campus Saúde do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio, em Juazeiro do Norte-CE.

2.3 OBTENÇÃO E PREPARO DO MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico foi coletado em um terreno no município de Cedro, do 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.

As inflorescências foram utilizadas para a preparação de uma infusão em água, 100°C, por 10 minutos. Posteriormente, esse material foi congelado em freezer (Consul - CRC28EBBNA), á temperatura de 4-8°C. Após a refrigeração, o material foi liofilizado (Liotop – K105) para obtenção do extrato aquoso, que foi mantido em refrigeração até o início dos ensaios.

2.4ASPECTOS ÉTICOS

Para a realização do estudo, foram solicitados Carta de Anuência e Termo de Fiel Depositário dos respectivos responsáveis institucionais dos participantes da pesquisa. Além disso, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética e Pesquisa via Plataforma Brasil, em conformidade com a RDC 466/2012 (BRASIL, 2012).

2.5OBTENÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Foram obtidas 14 amostras de soro do Laboratório Escola de Análises Clínicas do Centro Acadêmico Leão Sampaio-UNILEÃO. As amostras biológicas foram transferidas para o *ependorf* e mantidas congeladas até o início dos testes.

2.5.1Critérios de inclusão

Foram utilizados apenas os soros das amostras de indivíduos do sexo masculino com idade superior a 18 anos que, no momento da coleta, não estavam sob o efeito de nenhum medicamento, alegaram não possuir nenhuma doença crônica e que apresentaram resultado normal na determinação laboratorial de CT.

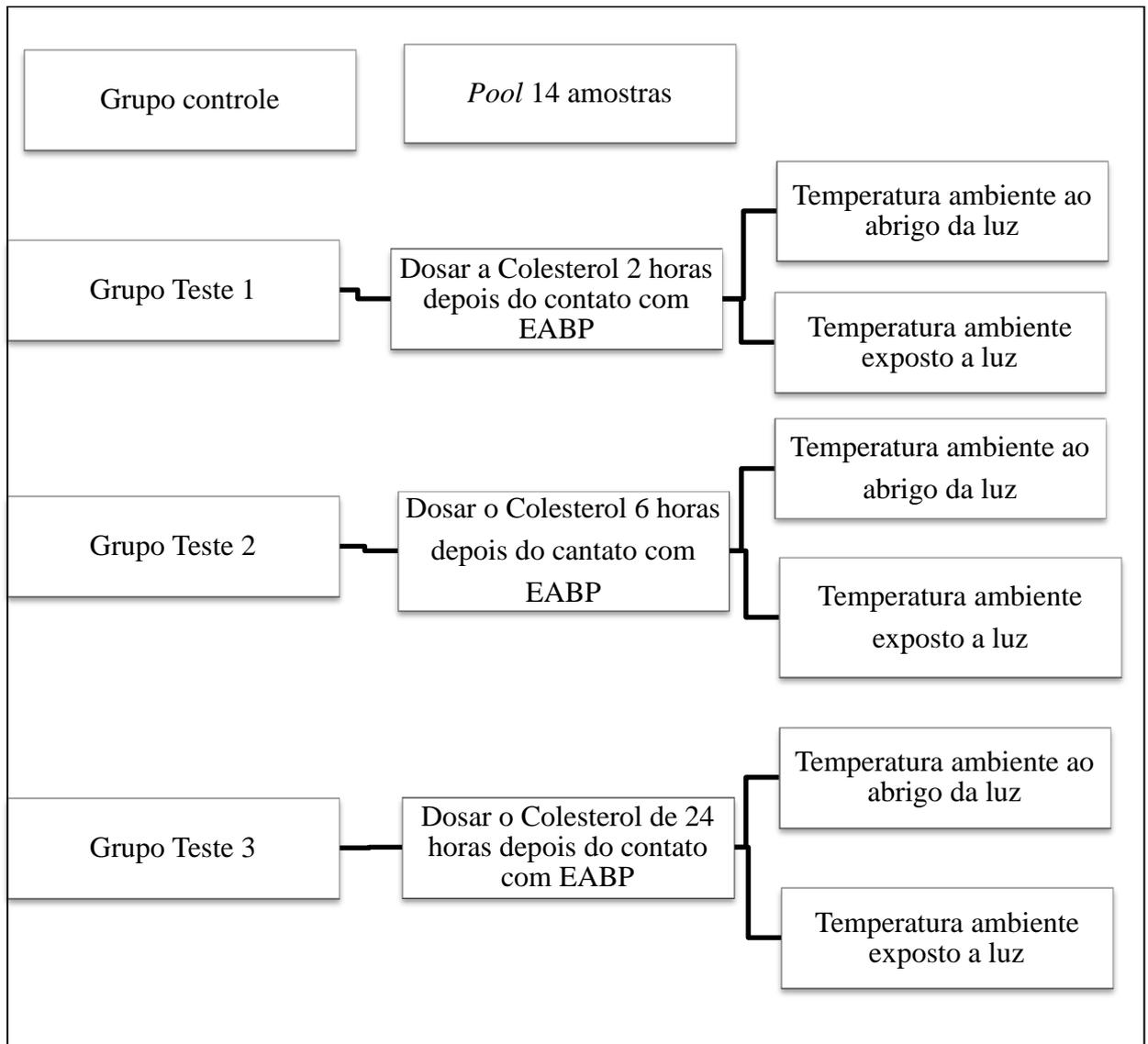
2.5.2Critérios de exclusão

As amostras de caráter lipêmicas, hemolisadas ou com volume inferior a 50µl não foram aceitas.

2.6 ANÁLISES LABORATORIAIS

Cada amostras foi dosada para verificar se as mesmas estavam dentro do critério de inclusão, após foi feito o *pool* das 14 amostras para obtenção do controle. Para início dos testes foi feita a exposição em diferentes ambientes: 1 – temperatura ambiente exposto à luz; 2 – temperatura ambiente protegido da luz. Para início das dosagens foi adicionado o EABP nas concentrações de 5mg/dl, 10mg/dl e 40mg/dl, e as determinações do colesterol total ocorrerão em triplicata nos períodos de 2, 6 e 24 horas após o contato com o extrato. As dosagens forma realizadas no espectrofotômetro utilizando os kits laboratoriais da Labtest como recomenda o fabricante (LABTEST, 2011).

Quadro 1: Distribuição dos grupos do estudo.



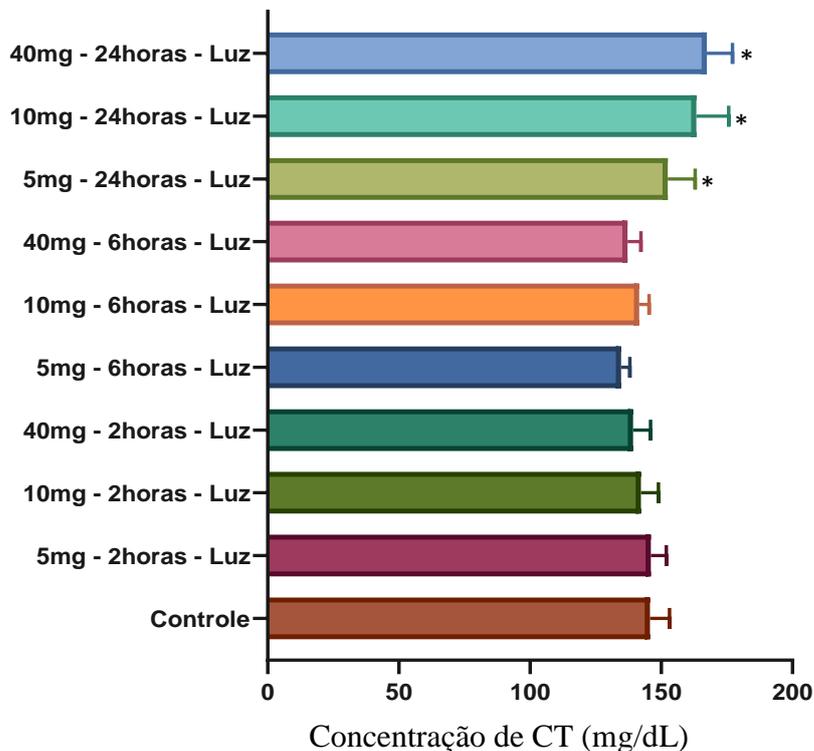
2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foi empregado o software *Graph Pad Prism 5.0* para a realização dos testes T pareado e ANOVA (*one way*) associado ao teste *post hoc* de comparações múltiplas de Dunnet. Foram avaliadas diferenças entre as médias dos grupos avaliados (testes, em diferentes concentrações e em diferentes tempos de exposição e em ambientes na presença e ausência de luz) e os resultados controle. Foram consideradas diferenças estatisticamente significativas aquelas com $p < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

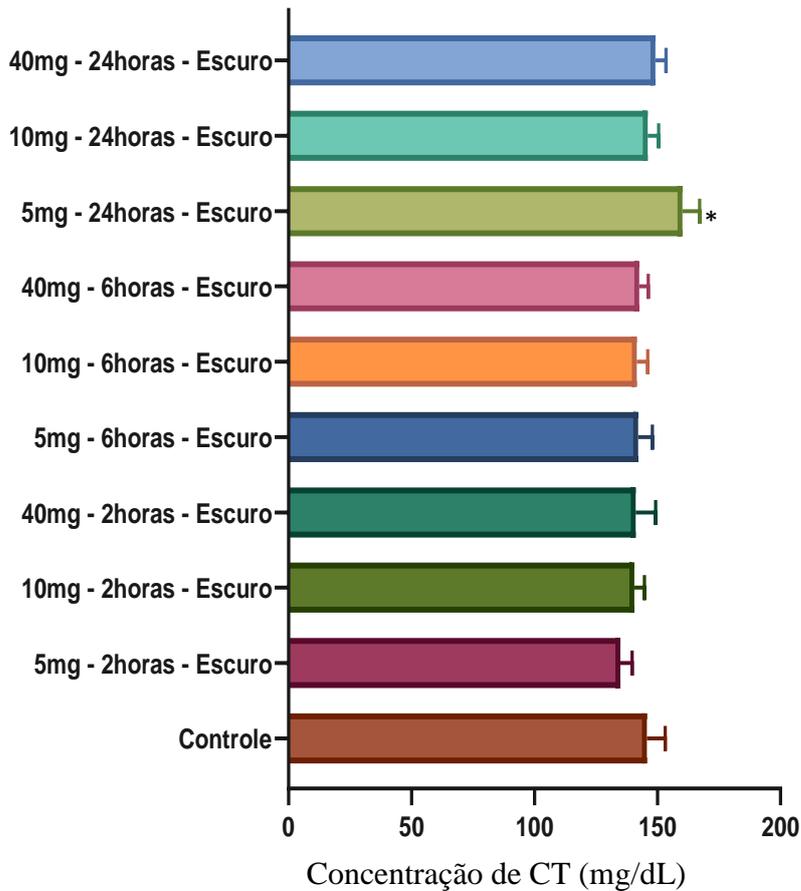
No gráfico 1, a seguir, demonstra-se que nas dosagens de 2 e 6 horas após o contato com o extrato houve redução em relação ao controle, mas não demonstrou valores significativos. Porém, nas dosagens de 24 horas, foi observado que ocorreu aumento significativo demonstrando uma alteração nas dosagens do colesterol total.

Gráfico 1: Dosagens do colesterol de amostras exposto a luz em concentrações distintas no EABP.



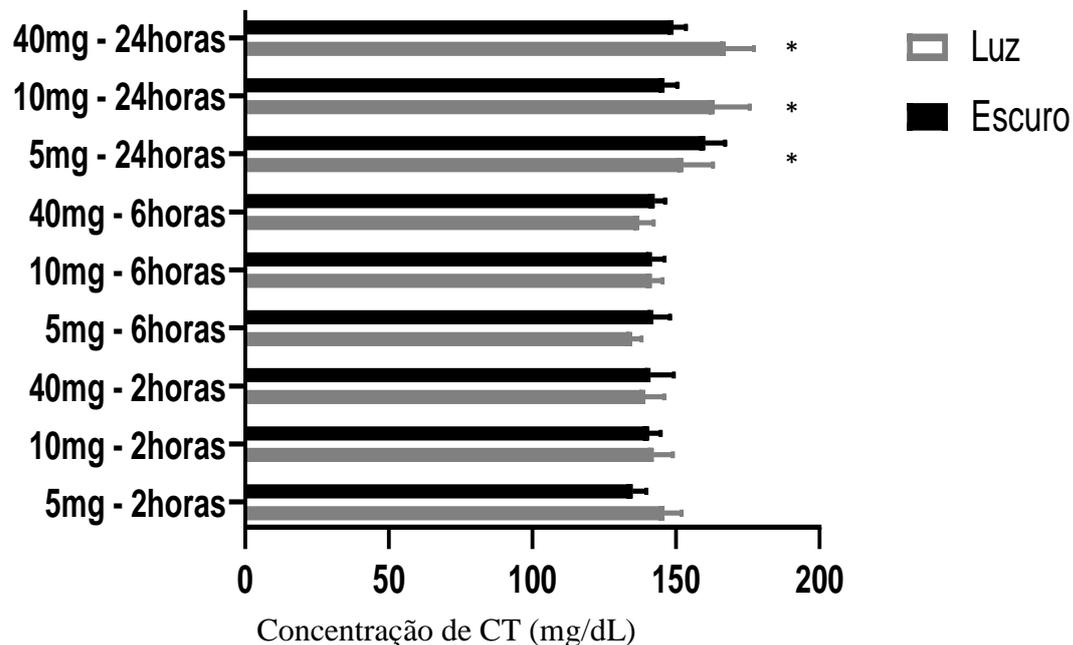
No gráfico 2, pode-se observar que apenas na dosagem de 24 horas com uma concentração de 5mg do extrato houve um resultado significativo, porém sugestivo de erro de pipetagem já que em concentrações superiores de 10mg e 40mg não ocorreu interferência nas dosagens do colesterol total.

Gráfico 2: Dosagens do colesterol de amostras ausente de luz em concentrações distintas no EABP.



Nos resultados do gráfico 3 a exposição a luz gerou predisposição para uma interferência no exame de colesterol exposto ao EABP visto que em relação ao ambiente ausente de luz que não gerou resultados significativos o ambiente exposto a luz, após 24 horas de exposição juntamente com o extrato houve uma elevação contínua nas dosagens de 5-10-40 mg.

Gráfico 3: Dosagens do colesterol de amostras exposto e ausente a luz em concentrações distintas no EABP.



Nonato et al., 2015, utilizaram metodologia semelhante com extratos de abacate (*Persea americana miller*), acerola (*Malpighia emarginata d.c.*) e do flavonoide naringina frente a tratamento de dislipidemias utilizando soro de ratos wistar. Os resultados demonstram que houve uma queda do CT em concentrações de 25 e 50mg/kg. O resultado se deu por compostos de fitoesterios comumente presente nos extratos. O presente trabalho divergiu com o apresentado, porem foram utilizadas metodologias diferentes, o que pode explicar ao resultados obtidos.

Landin et al., 2018, realizaram um estudo utilizando plantas medicinais em relação a dosagens laboratoriais, sendo visto que compostos fenólicos como flavonóides e alcalóides compostos anti-oxidante atuam como uma substancia redutora doando hidrogênio e quelando metais, assim atuando na reação de Trinder. O presente trabalho supôs que a causa das interferências laboratoriais pode ter sido ocasionado por compostos fenólicos, pois a *Bidens Pilosa* é rica em compostos fenólicos e a mesma alterou resultados do colesterol total em relação concentração e tempo (DAMASCENO et al., 2017).

Santana (2017), realizou um estudo sobre interferência laboratorial com plantas medicinais sendo visto que diversas plantas utilizadas para tratamento empírico da diabetes possuem em sua composição flavonoides, componentes esse que pode mascarar o exame bioquímico de colesterol, pois o composto tem uma ação anti-oxidante. A *Bidens pilosa* em

sua composição encontra-se as flavonoides que explica em alguns resultados a oscilação das dosagens bioquímicas.

Silva *et al.*, 2015, Realiz, um estudo experimental onde testou a Quino (Uma Proteína de alto valor Biológico rico em ácidos graxos, ômega 3-6, flavonoides e polifenóis em tratamentos lipemicos em pacientes de 48-70 anos onde foi observado após 200 dias uma redução nas dosagens do colesterol total dos participantes. Vistos na literatura através de estudos fotoquímicos a *Bidens pilosa* também é rica em compostos fenólicos e polifenóis, sendo assim uma possível explicação para alterações nas dosagens *in vitro*.

Lima *et al* (2012) em seu estudo tinha como objetivo verificar a influencia da exposição a luz em compostos fenólicos em aguardentes em tempos e armamentos diverso, onde foi observado uma atividade antioxidante inicial de 16.52% e após seis meses as amostras que estavam sobre luz ambiente apresentaram uma atividade de inibição de 2,26% em dosagem do radial livre (DPPH).

4 CONCLUSÃO

Com o presente trabalho concluiu-se que houve interferência do EABP em concentrações de 5,10 e 40mg/dL nas dosagens de 24horas exposto a luz. Estudos são necessários para pesquisa do principal componente do Extrato Aquoso de *Bidens pilosa* na alteração laboratorial do CT.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada Nº 466, de 12 de dezembro de 2012, que trata sobre os aspectos éticos envolvendo pesquisas com seres humanos e dá outras providências. Ministério da Saúde. 2012

BRASILINO, M, C. E; OLIVEIRA, P. B. L; CAVALCANTE, M. A; OLIVEIRA B, J; HOLANDA, S. K. S; OLIVEIRA, L. L. **Diabetes mellitus: construção de uma tecnologia educativa para promoção de autocuidado do portador.** Mostra Interdisciplinar do curso de Enfermagem, 2019.

CASTRO JUNIOR, ANTONIO. S. **Dosagem de colesterol e fatores de risco para doenças cardiovasculares em mototaxistas do município de Quixadá-CE.** Mostra Científica em Biomedicina, 2017.

CAVALCANTI, ALESSANDRO L. **Introdução à pesquisa aplicada à odontologia: bases para a iniciação científica introduction to research on dentistry: basis for scientific initiation.**Ponta Grossa: UEPG, V.9, 2003.

DAMASCENO R; SILVA, FELIPE R; RANDAU, KARINA P. Caracterização farmacobotânica de *Bidens pilosa* L. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, v. 2, n. 3, p. 349-357, 2017.

FONTANELLI, M. D. M., NOGUEIRA, L. R., GARCEZ, M. R., SALES, C. H., CORRENTE, J. E., CÉSAR, C. L. G & FISBERG, R. M. Validade da autorreferência de colesterol elevado na cidade de São Paulo, Brasil, e fatores associados à sensibilidade dessa informação. *Cadernos de Saúde Pública*, 2018

LABTEST DIAGNÓSTICO S.A **Procedimento Operacional Padrão Para Realização do teste de glicemia utilizando soro como amostra biológica**, Minas Gerais, 2011.

LANDIM, M. A. T; **laboratoriais medicinais e Parâmetros**. FACULDADE DE JUAZEIRO DO NORTE–FJN CURSO DE NUTRIÇÃO

LIMA, L. M. Z. **Influência da luz na composição fenólica, atividade antioxidante e concentração de carbamato de etila em aguardentes/cachaças envelhecidas em diferentes madeiras**. Tese (doutorado). Lavras: UFLA, 2012.

MARTINELLO, FLÁVIA; SILVA, EDSON LUIZ DA. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos *in vivo* e *in vitro*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2003.

NONATO, I. D. A., CASTRO, A. S. B., OLIVEIRA, T. T., & CARVALHO, C. A. Atividade farmacológica de extratos de abacate (*Persea americana miller*), acerola (*Malpighia emarginata* dc) e do flavonoide naringina no tratamento da dislipidemia. *Ciência e Natura*, 2015.

PRADO JUNIOR, PEDRO P. Leucócitos como marcadores de risco para doenças cardiovasculares na adolescência: associação com características de nascimento, situação nutricional e exames bioquímicos. *Revista Paulista de Pediatria*, 2016.

SANTANA, J. D. S. **Principais interferências do uso de plantas medicinais nos parâmetros laboratoriais do controle do diabetes mellitus**, 2017.

SILVA, E. A., FERNANDES, D. R., SANDOVAL, A. C., JÚNIOR, A. T. T. O uso das estatinas no tratamento da dislipidemia e o mecanismo da biossíntese do colesterol. *Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, 2018.

SILVA, VANESSA O. **Efeito da ingestão de grãos processados de quinoa por pacientes coronariopatas dislipêmicos**. 2015.

TAVARES, H. C; PEREIRA, P. A.; SANTOS, A. K. M.; GALVÃO, F. G. R.; SANTOS, D. E. O.; CARVALHO, P. M. M. Consequências da interação fármaco-nutriente: revisão integrativa. *E-ciência*, Edição suplementar, 2015.

TEIXEIRA, CÍCERO M; CARVALHO, G. J.; ARAÚJO, JBS. **Potencial alelopático de plantas de cobertura no controle de picão-preto (*Bidens pilosa* L.)**. 2015.