

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

ÁDILA TAMIRES LIMA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DAS FÉCULAS DE *Curcuma longa* L.
(AÇAFRÃO DA TERRA) EM TESTES LABORATORIAIS DE TRIAGEM PARA
ARTRITE REUMATOIDE**

Juazeiro do Norte – CE
2020

ÁDILA TAMIRES LIMA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DAS FÉCULAS DE *Curcuma longa* L.
(AÇAFRÃO DA TERRA) EM TESTES LABORATORIAIS DE TRIAGEM PARA
ARTRITE REUMATOIDE**

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: Me. Cícero Roberto Nascimento
Saraiva

ÁDILA TAMIRES LIMA PEREIRA

**AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DAS FÉCULAS DE *Curcuma longa* L.
(AÇAFRÃO DA TERRA) EM TESTES LABORATORIAIS DE TRIAGEM PARA
ARTRITE REUMATOIDE**

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: Me. Cícero Roberto Nascimento
Saraiva

Data de aprovação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Me. Cícero Roberto Nascimento Saraiva
Orientador

Prof. Esp. Francisco Yhan Pinto Bezerra
Examinador 1

Prof.^a Esp. Lívia Maria Garcia Leandro
Examinador 2

AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA *in vitro* DAS FÉCULAS DE *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO DA TERRA) EM TESTES LABORATORIAIS DE TRIAGEM PARA ARTRITE REUMATOIDE

Ádila Tamires Lima Pereira¹; Cícero Roberto Nascimento Saraiva².

RESUMO

A presente pesquisa teve como objetivo analisar a interferência *in vitro* das féculas de *Curcuma longa* L. (açafrão da terra) em testes laboratoriais de triagem para artrite reumatoide, para isso realizou-se uma pesquisa experimental quantitativa. As féculas foram obtidas comercialmente, no Mercado Central de Juazeiro do Norte – CE, as amostras biológicas foram fornecidas pelo Laboratório Escola do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Para a realização da pesquisa, foram necessárias 12 amostras de soro, 10 reagentes para os testes de Proteína C Reativa (PCR) e 2 reagentes para o teste de Fator Reumatoide (FR), para critérios de exclusão, foram consideradas as amostras de caráter lipêmicas, hemolisadas ou com volume inferior a 300µl, e amostras de pacientes que fazem o uso de medicamentos. As análises foram executadas em um Laboratório particular e os dados obtidos foram tabulados e analisados através do programa *Microsoft Office Excel 2010*, o estudo foi submetido à plataforma Brasil. As amostras foram analisadas antes da interferência botânica nas proporções 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8, após a análise foram adicionadas quantidades do material botânico nas concentrações 5, 10, 40 mg/dL, nas amostras de soro seguiram as técnicas de imunoaglutinação: PCR e FR, nas amostras submetidas ao teste, observou-se que às féculas de *Curcuma longa* L. interferiram no resultado de PCR e FR. A partir desses resultados conclui-se que em relação a PCR a obtenção dos resultados foram de forma efetiva, logo em relação ao FR não foi de forma efetiva devido a quantidade de amostras analisadas, sendo necessário um aumento das amostras reagentes para fator reumatoide. Só assim contemplaria a medicina baseada em evidências, tão almejada pelos profissionais da saúde.

Palavras-chaves: Artrite Reumatóide. *Curcuma longa* L. PCR. FR.

EVALUATION OF THE *in vitro* INTERFERENCE OF *Curcuma longa* L. FACULAS (EARTH SAFFRON) IN LABORATORY TESTS FOR RHEUMATOID ARTHRITIS

ABSTRACT

This research aimed to analyze the *in vitro* interference of *Curcuma longa* L. (saffron) starch in laboratory tests for screening for rheumatoid arthritis, for this purpose a quantitative experimental research was carried out. The starches were obtained commercially, in the Central Market of Juazeiro do Norte - CE, the biological samples were supplied by the Laboratory Laboratory of the Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. For the research, 12 serum samples, 10 reagents for the Reactive Protein C (PCR) tests and 2 reagents for the Rheumatoid Factor (RF) test were necessary, for exclusion criteria, lipemic samples were considered. , hemolysed or with a volume of less than 300µl, and samples from patients who use drugs. The analyzes were performed in a private laboratory and the data obtained were tabulated and analyzed using the *Microsoft Office Excel 2010* program, the study was submitted to the Brazil platform. The samples were analyzed before botanical interference in the proportions 1: 1, 1: 2, 1: 4 and 1: 8, after the analysis, amounts of botanical material in

¹ Discente do Curso de Biomedicina, adilatamireslimaa@gmail.com do Centro Universitário Leão Sampaio

² Docente do Curso de Biomedicina, ciceroroberto@leaosampaio.edu.br do Centro Universitário Leão Sampaio

concentrations 5, 10, 40 mg / dL were added to the serum samples followed the immunoagglutination techniques: PCR and FR, in the samples submitted to the test, it was observed that *Curcuma longa* L. starch interfered in the result of PCR and FR. From these results it can be concluded that in relation to PCR, the results were obtained in an effective way, therefore, in relation to the RF, it was not effective due to the number of samples analyzed, requiring an increase in the reagent samples for rheumatoid factor. Only then would I contemplate evidence-based medicine, so desired by health professionals.

Key-words: Rheumatoid arthritis. *Curcuma longa* L. PCR. FR.

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, há a necessidade de estimular e permitir as práticas populares de uso das plantas medicinais, fitoterápicos e remédios caseiros. Dados levantados pela Organização Mundial da Saúde apontam que cerca de 80% da população utiliza algum tipo de planta em busca de alívio para sua sintomatologia, esse elevado índice deve-se ao fácil acesso, baixo custo e por grande parte das pessoas considerá-las inofensivas (WHO, 2002).

Dentre as plantas medicinais, destaca-se *Curcuma longa* L. (açafrão da terra), que é uma espécie que tem origem no sudeste asiático, sendo considerada uma preciosa especiaria. A cúrcuma, além de sua principal utilização como condimento alimentício, apresenta substâncias com propriedades antioxidantes, antimicrobianas e corantes (curcumina) (CARNEIRO, 2007). O açafrão da terra apresenta uma cor amarelada, essa coloração é devida principalmente à presença de curcuminóides polifenólicos que constituem cerca de 3% a 5% da maior parte da preparação de cúrcuma (BASNET; SKALKO-BASNET, 2011; HE et al., 2015).

Popularmente, *Curcuma longa* L. é utilizada para múltiplas enfermidades, sendo os rizomas a principal parte da planta empregada nas preparações. Seus registros biológicos, relatam que o consumo do turmérico tem ação anti-inflamatória, antimicrobiana e cicatrizante. Em relação a sua ação anti-inflamatória, observa-se que seu princípio ativo age diretamente na cascata da inflamação inibindo as moléculas presentes no processo (MAIA; BOVI; DUARTE, 1995).

Dentre doenças que causam inflamação, tem-se a artrite reumatoide, uma doença de cunho autoimune e crônica, afetando 1% da população mundial. Entretanto, sua etiologia é complexa e torna-se desconhecida em alguns casos, registros relatam a influência de fatores genéticos e ambientais associados em sua patogênese. Caracteriza-se pela inflamação do tecido sinovial de múltiplas articulações, ocasionando destruição tecidual, dor e redução na qualidade de vida (ALAMANOS; VOULGARI; DROSOS, 2006).

O diagnóstico precoce da artrite reumatoide ainda é bastante difícil diante da heterogeneidade da clínica do paciente, levando assim a um retardo na implantação terapêutica. Estudos tem se voltado a identificação de fatores preditores de doença mais grave, como Fator Reumatóide (FR) e Proteína C Reativa (PCR), que constituem importantes marcadores imunológicos de diagnóstico e prognóstico da artrite reumatoide, porém estes testes podem sofrer interferência de diversos fatores, como o uso de plantas medicinais, por exemplo (MARQUES et al., 1993).

A necessidade de realizar o perfil químico e a avaliar a interferência in vitro das féculas de *Curcuma longa* L. (Açafrão da terra) em testes laboratoriais de triagem para artrite reumatóide, torna-se relevante pois, é de grande valia a utilização de produtos naturais para essa patologia, podendo sua utilização causar resultados falso positivo ou falso negativo em alguns testes, além de incentivar pesquisas sobre interferentes laboratoriais em ensaios de imunoaglutinação.

O presente estudo teve como objetivo realizar a avaliação da interferência in vitro das féculas de *Curcuma longa* L. (Açafrão da terra) em testes laboratoriais de triagem para Artrite Reumatóide.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de uma pesquisa experimental com caráter quantitativo executada em um laboratório particular, durante o mês de maio de 2020. As féculas de *Curcuma longa* L. (açafrão da terra) foram obtidas comercialmente, no Mercado Central de Juazeiro do Norte - CE. As amostras biológicas foram fornecidas pelo Laboratório Escola do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Para a realização da pesquisa foram necessárias 12 amostras de soro, 10 reagentes para os testes de Proteína C Reativa (PCR) e 2 reagentes para o teste de Fator Reumatoide (FR)., o material biológico foi coletado em tubo com gel separador e armazenado em geladeira (entre 2º e 8ºC) até o momento da realização dos testes.

Foram utilizados apenas os soros cedidos pelo Laboratório Escola de Análises Clínicas do Centro Universitário Doutor Leão Sampaio. Para critérios de exclusão, foram consideradas as amostras de caráter lipêmicas, hemolisadas ou com volume inferior a 300µl. Além disso, também não foram utilizadas amostras de pacientes que fazem uso de medicamentos.

As amostras de soro foram analisadas antes da interferência botânica nas proporções de 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. Após essa análise foram adicionados nas amostras quantidades crescentes do material botânico, nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL. As determinações do analito foram realizadas no primeiro instante após a adição do material botânico na amostra de soro e seguiram as instruções das técnicas de imunoaglutinação, sendo elas: FR e PCR. Durante esse período de tempo as amostras foram armazenadas em temperatura ambiente e desprotegidas da luz. Para as amostras não reagentes e reagentes foram realizadas três diluições nas proporções de 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. (MARTINELLO; SILVA, 2003). Os dados obtidos foram tabulados através do programa *Microsoft Office Excel 2010*.

O estudo foi submetido à Plataforma Brasil para apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa, em conformidade com as normas estabelecidas pela resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (BRASIL, 2012). As informações dos pacientes foram mantidas em sigilo para preservação da integridade dos mesmos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a obtenção das amostras, preparação das diluições do material botânico e realização dos procedimentos, os resultados foram organizados em tabelas contendo: o número da amostra, resultado de Proteína C Reativa (PCR) e Fator Reumatoide (FR) antes da diluição, e após adição das concentrações do material botânico.

A Tabela 1, representada abaixo, apresenta a determinação de Proteína C Reativa (PCR) antes e após a diluição com o material botânico nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL das dez amostras analisadas:

TABELA 1: Determinação de Proteína C Reativa (PCR) antes e após a diluição com o material botânico nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL.

AMOSTRA	ANTES DA DILUIÇÃO	5 mg/dL	10 mg/dL	40 mg/dL
---------	-------------------	---------	----------	----------

1	Reagente 1:1	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
2	Reagente 1:1	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
3	Reagente 1:1	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
4	Reagente 1:2	Reagente 1:1	Não Reagente	Não Reagente
5	Reagente 1:2	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
6	Reagente 1:2	Reagente 1:1	Não Reagente	Não Reagente
7	Reagente 1:4	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
8	Reagente 1:4	Reagente 1:2	Reagente 1:1	Reagente 1:1
9	Reagente 1:4	Reagente 1:4	Reagente 1:2	Reagente 1:2
10	Reagente 1:32	Reagente 1:32	Reagente 1:16	Reagente 1:16

Nas amostras submetidas ao teste, observou-se que as féculas de *Curcuma longa* L. interferiram no resultado de PCR nas concentrações analisadas. Sendo que quanto maior a concentração, maior a interferência, que atua diminuindo a titulação do teste de imunoaglutinação.

A Proteína C Reativa foi a primeira de uma série de proteínas reconhecidas como reagentes de fase aguda, que se caracterizam por ter suas concentrações plasmáticas alteradas em resposta a estímulos inflamatórios de qualquer natureza, como infecções, necroses, doenças malignas, queimaduras, cirurgias, traumas, doenças inflamatórias, exercícios vigorosos e estresse. No acompanhamento de algumas doenças reumatológicas, como exemplo artrite reumatoide, é usada na avaliação do tratamento, uma vez que seus valores acompanham a atividade da doença (KUSHNER, 2011).

Em estudos desenvolvidos por Belcaro et al. (2010), após avaliar 30 voluntários que apresentavam dor muscular de início tardio devido à atividade muscular excêntrica, dividiu o grupo em dois, um grupo foi acompanhado fazendo a ingestão de curcumina em cápsulas, substância encontrada no pó amarelo-alaranjado extraído da raiz da curcuma ou açafrão-da-índia (*Curcuma longa*), e o outro seria acompanhado com pazeblo. Observou que ao utilizar curcumina em cápsulas duas vezes ao dia era capaz de reduzir os níveis de PCR, enquanto os que utilizavam pazeblo não apresentaram resultados significativos, corroborando com o presente trabalho.

Outros produtos naturais também podem desempenhar tal característica, como observado por Feksa et al. (2017), que em suas pesquisas sobre interferentes em testes de PCR, constataram que o extrato de Pomelo (*Citrus máxima*), utilizado para pacientes que apresentam esteatose hepática, foi capaz de reduzir os níveis de PCR, indicando uma provável ação anti-inflamatória do extrato.

Além da interferência nos ensaios de PCR, foi avaliado também a ação das féculas em testes de Fator Reumatóide (FR). A tabela 2 apresenta a determinação de FR antes e após a diluição com o material botânico nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL das duas amostras analisadas:

TABELA 2: Determinação de Fator Reumatoide (FR) antes e após a diluição com o material botânico nas concentrações de 5, 10 e 40 mg/dL.

AMOSTRA	ANTES DA DILUIÇÃO	5 mg/dL	10 mg/dL	40 mg/dL
1	Reagente 1:8	Reagente 1:4	Reagente 1:4	Reagente 1:2
2	Reagente 1:64	Reagente 1:16	Reagente 1:16	Reagente 1:16

E

m relação ao Fator reumatoide, notou-se que as féculas de *Curcuma longa* L. interferiram no resultado, diminuindo a titulação desse teste. Não houve alteração nos resultados das concentrações de 5 e 10 mg/dL nas amostras analisadas, e houve modificação na concentração de 40 mg/dL em apenas uma das amostras. A concentração do produto natural não interferiu de forma efetiva no teste, porém esse resultado observado pode ser ocasionado pelo número de amostras usado na pesquisa em questão.

O teste de fator reumatoide (FR) é o teste imunológico mais útil para rastreio e triagem de artrite reumatoide. Nessa doença, os IgG que são produzidos pelos linfócitos nas articulações sinoviais iram reagir com outros anticorpos IgG ou IgM, produzindo assim complexos imunes, ativação do complemento e destruição tecidual. Fator Reumatoide é um anticorpo comum, mas apresenta uma particularidade: capacidade de se fixar em outros anticorpos (YOUNG; KODURI, 2007).

Na literatura, não há estudos que correlacione à espécie *Curcuma longa* L. ou seus compostos à ensaios de Fator Reumatoide. Entretanto, em pesquisas realizadas por Tao et al. (2001), utilizando o extrato de acetato de etila de *Tripterygium wilfordii*, erva conhecida pelos chineses para o tratamento de pacientes com uma variedade de inflamação, doenças reumáticas e autoimunes, incluindo a artrite reumatoide. Nesse estudo *in vivo*, foi realizado

em 13 pacientes que apresentavam artrite reumatoide. Seis dos 13 participantes do estudo receberam extrato de acetato de etila em doses >360mg/dia e apresentaram melhora nas manifestações clínicas da doença e diminuição da titulação do fator reumatoide. Apesar do estudo ser realizado in vivo e com outra espécie vegetal, ele corrobora com o presente estudo.

Mbiantcha et al. (2018), realizaram um estudo com o extrato metanólico das cascas do caule de *Boswellia dalzielii*, analisando o potencial anti-inflamatório e anti-artrite dessa espécie em ratos. Esta planta é comumente usada na medicina indígena em toda a África contra diarreia, malária, vômito, inflamação e artrite. Com os resultados obtidos, observaram que o extrato diminuiu significativamente os níveis de Proteína C Reativa e Fator Reumatoide no sangue animal em comparação com o grupo controle, resultado semelhante ao observado na presente pesquisa.

4 CONCLUSÃO

Portanto, pode-se observar que as féculas de *Curcuma longa* L. interfere no resultado de PCR, sendo que quanto maior a concentração, maior foi a interferência do material botânico, diminuindo assim a titulação do teste de imunoaglutinação. Porém, em relação ao FR, houve interferência mas não foi de forma efetiva no teste devido o número de amostras usadas na pesquisa. Contudo, são necessários estudos mais aprofundados, visando a confirmação dessa interferência *in vivo*, ressaltando assim, a influência da utilização de produtos naturais em resultados de exames laboratoriais.

REFERÊNCIAS

ALAMANOS, Y.; VOULGARI, P. V.; DROSOS, A. A. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. **Semin Arthritis Rheum**, v. 36, n. 1, 2006.

BASNET, P.; SKALKO-BASNET, N. Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. **Molecules Basel**, v. 16, n. 1, 2011.

BELCARO G. et al. Efficacy and safety of Meriva (R), a curcumin phosphatidylcholine complex, during extended administration in osteoarthritis patients. **Alternative Medicine Review: A Journal of Clinical Therapeutic** v.15, n.337-344, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução nº 466/12. Sobre Pesquisa Envolvendo Seres Humanos**. Brasília, 2012.

CARNEIRO, M.L.B. Alterações morfológicas e estruturais induzidas por um componente do açafrão, *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae), em células de melanoma humano em cultura. **Revista de Biologia Neotropical**. v. 4, n. 1, 2007.

FEKSA, D. L. et al. **Extrato de Pomelo melhora níveis de Adiponectina e PCR em Ratos Wistar com Esteatose Hepática**. Anais do 8º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão. Universidade Federal do Pampa. V. 8, 4ª Edição, 2017.

HE, Y. et al. Curcumin, inflammation, and chronic diseases: how are they linked? **Molecules, Basel**. v. 20, n. 5, 2015.

KUSHNER I. C-Reactive Protein And The Acute- Phase Response. **Hospital Practice**. v. 30, n. 13-28, 2011.

MAIA, N.B, BOVI, O.A., DUARTE, F.R., et al. Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de *Curcuma longa* L. (*Curcuma*). **Bragantia**. v. 54, n. 1, 1995.

MARQUES, J. F. N. et al. Estudo multicêntrico da prevalência da artrite reumatóide do adulto em amostras da população brasileira. **Revista Brasileira de Reumatologia**. v. 33, n. 5, 1993.

MARTINELLO, F.; SILVA, E. L. Interferência do ácido ascórbico nas determinações de parâmetros bioquímicos séricos: estudos in vivo e in vitro. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. v. 39, n. 4, 2003.

MBIANTCHA, M. et al. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of methanol extract of the stem bark of *Boswellia dalzielii* Hutch (Burseraceae) in rats. **Inflammopharmacology**. v. 26, n. 1, 2018.

TAO X. L. et al. The Chinese anti-inflammatory and immunosuppressive herbal remedy *Tripterygium wilfordii* Hook F. **Rheumatic Disease Clinics of North America**. v.1, n. 29-50, 2001.

WHO, World Health Organization. **Estratégia da OMS Sobre Medicina Tradicional. 2002-2005**. Genebra: OMS; 2002.

YOUNG, A.; KODURI, G. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. **Best Pract Res. Clin Rheumatol**. v. 21, n. 27- 907, 2007.